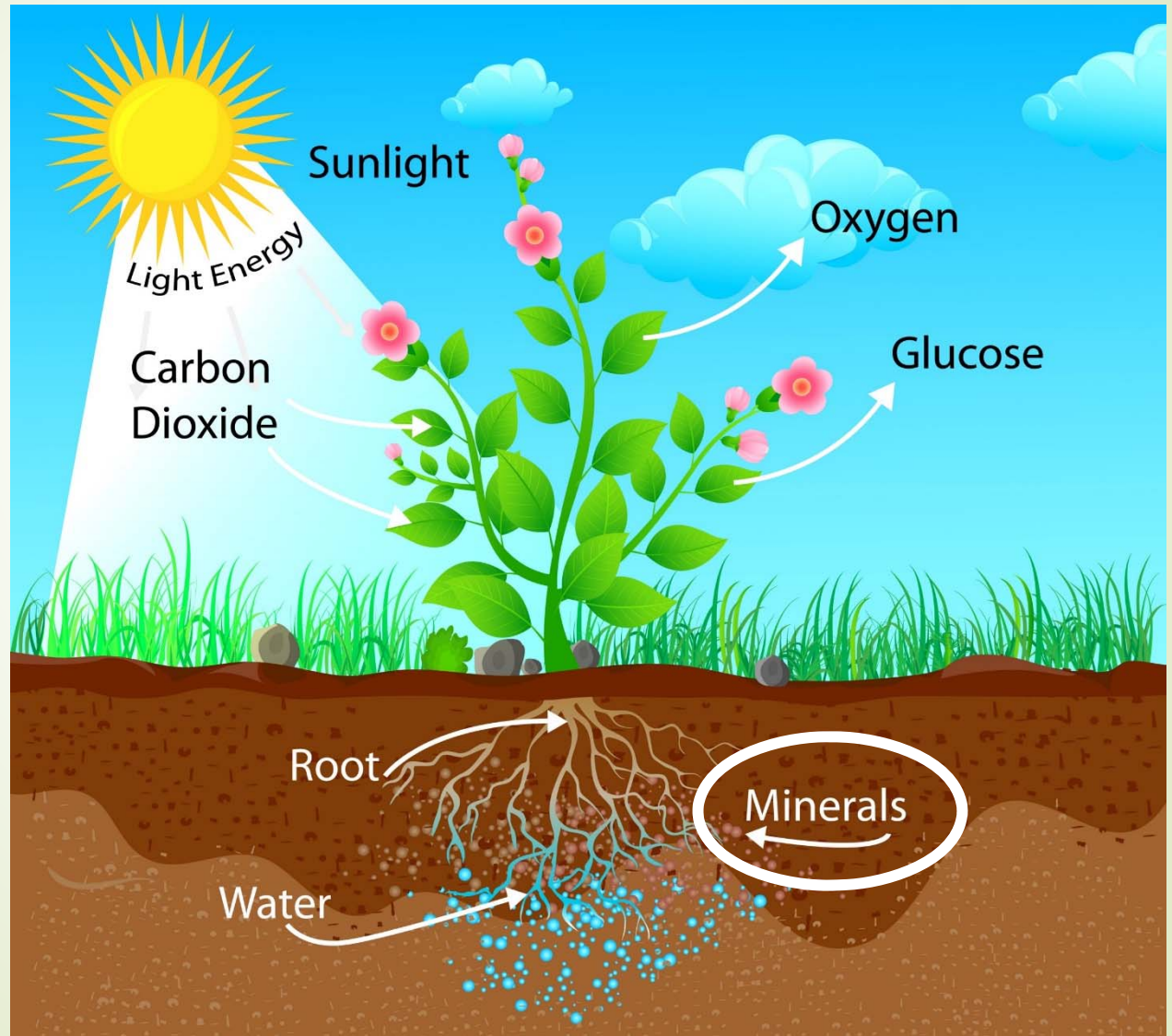


# Cvičení z fyziologie rostlin



## 6. Fotosyntéza

# Co je fotosyntéza?



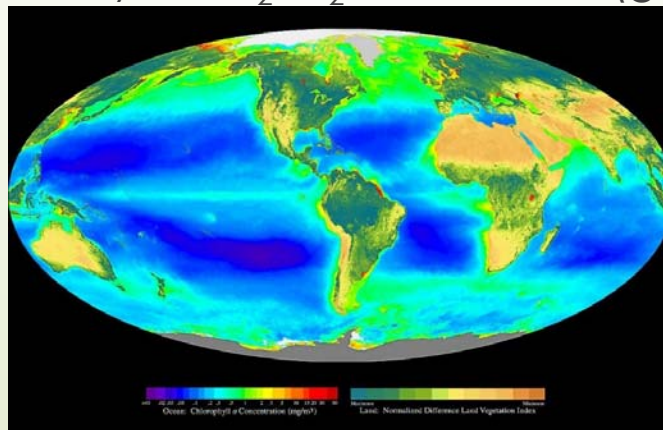
# Význam fotosyntézy

## ➤ Rostlina

- Fixace energie a  $\text{CO}_2$ , zásobní látky, meziprodukty
- Růst, tvorba biomasy
- Zelené části rostlin přes den – hlavní zdroj energie pro metabolismus

## ➤ Prostředí

- Základní zdroj C-látek
- Primární produkce (rostlin, porostů, ekosystémů, biosféry)
- Změny  $\text{CO}_2/\text{O}_2$  v atmosféře (global. klima – historie/součas.)



# Měření rychlosti fotosyntézy



## ➤ Gravimetrické metody

(přírůstek hmotnosti fotosynt. objektu, hromadění asimilátů)

## ➤ Voluntometrické metody

(změny tlaku a objemu – kapilára napojená na komoru s objektem)

## ➤ Gazometrické metody

(IRGA [ $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ] napojen na komoru s objektem)

## ➤ Oxymetrické metody

( $\text{O}_2$  elektroda/optoda, koncentrace  $\text{O}_2$  v kapalném vzorku)

## ➤ Fluorometrické metody – primární procesy f.

(fluorometr, měření indukované fluorescence chlorofylu)

## ➤ Metody dálkového průzkumu – nepřímé metody

(UAV/satelitní snímkování - *odhad* aktuální aktivity a základě vegetačních indexů [obsah Chl, vlhkost,..])



# Měření rychlosti fotosyntézy



- **Gravimetrické metody**  
(přírůstek hmotnosti fotosynt. objektu, hromadění asimilátů)
- **Voluntometrické metody**  
(změny tlaku a objemu – kapilára napojená na komoru s objektem)
- **Gazometrické metody**  
(IRGA [ $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ] napojen na komoru s objektem)
- **Oxymetrické metody**  
( $\text{O}_2$  elektroda/optoda, koncentrace  $\text{O}_2$  v kapalném vzorku)
- **Fluorometrické metody – primární procesy f.**  
(fluorometr, měření indukované fluorescence chlorofylu)
- **Metody dálkového průzkumu – nepřímé metody**  
(UAV/satelitní snímkování - *odhad* aktuální aktivity a základě vegetačních indexů [obsah Chl, vlhkost,..])

# Měření rychlosti fotosyntézy



- **Gravimetrické metody**  
(přírůstek hmotnosti fotosynt. objektu, hromadění asimilátů)
- **Voluntometrické metody**  
(změny tlaku a objemu – kapilára napojená na komoru s objektem)
- **Gazometrické metody**  
(IRGA [ $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ] napojen na komoru s objektem)
- **Oxymetrické metody**  
( $\text{O}_2$  elektroda/optoda, koncentrace  $\text{O}_2$  v kapalném vzorku)
- **Fluorometrické metody – primární procesy f.**  
(fluorometr, měření indukované fluorescence chlorofylu)
- **Metody dálkového průzkumu – nepřímé metody**  
(UAV/satelitní snímkování - *odhad* aktuální aktivity a základě vegetačních indexů [obsah Chl, vlhkost,..])

# Měření rychlosti fotosyntézy



- Gravimetrické metody  
(přírůstek hmotnosti fotosynt. objektu, hromadění asimilátů)
- Voluntometrické metody  
(změny tlaku a objemu – kapilára napojená na komoru s objektem)
- Gazometrické metody  
(IRGA [CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O] napojen na komoru s objektem)
- **Oxymetrické metody**  
(O<sub>2</sub> elektroda/optoda, koncentrace O<sub>2</sub> v kapalném vzorku)
- Fluorometrické metody – primární procesy f.  
(fluorometr, měření indukované fluorescence chlorofylu)
- Metody dálkového průzkumu – nepřímé metody  
(UAV/satelitní snímkování - *odhad* aktuální aktivity a základě vegetačních indexů [obsah Chl, vlhkost,..])



# Měření rychlosti fotosyntézy

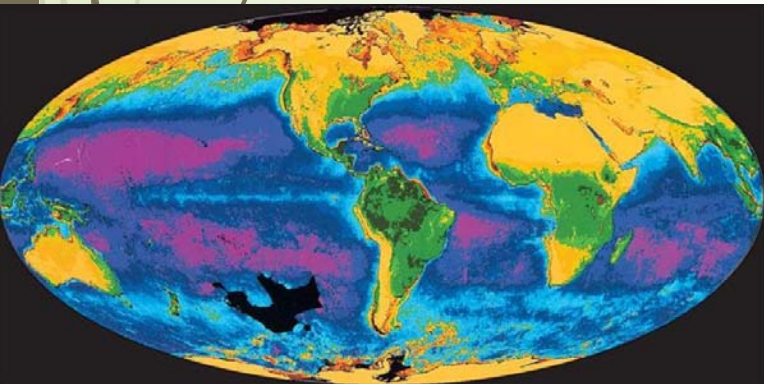
- Gravimetrické metody  
(přírůstek hmotnosti fotosynt. objektu, hromadění asimilátů)
- Voluntometrické metody  
(změny tlaku a objemu – kapilára napojená na komoru s objektem)
- Gazometrické metody  
(IRGA [ $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ] napojen na komoru s objektem)
- Oxymetrické metody  
( $\text{O}_2$  elektroda/optoda, koncentrace  $\text{O}_2$  v kapalném vzorku)
- **Fluorometrické metody** – primární procesy f.  
(fluorometr, měření indukované fluorescence chlorofylu)
- Metody dálkového průzkumu – nepřímé metody  
(UAV/satelitní snímkování - *odhad* aktuální aktivity a základě vegetačních indexů [obsah Chl, vlhkost,..])





# Měření rychlosti fotosyntézy

- Gravimetrické metody  
(přírůstek hmotnosti fotosynt. objektu, hromadění asimilátů)
- Voluntometrické metody  
(změny tlaku a objemu – kapilára napojená na komoru s objektem)
- Gazometrické metody  
(IRGA [ $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ] napojen na komoru s objektem)
- Oxymetrické metody  
( $\text{O}_2$  elektroda/optoda, koncentrace  $\text{O}_2$  v kapalném vzorku)
- Fluorometrické metody – primární procesy f.  
(fluorometr, měření indukované fluorescence chlorofylu)
- **Metody dálkového průzkumu** – nepřímé metody  
(UAV/satelitní snímkování - *odhad* aktuální aktivity a základě vegetačních indexů [obsah Chl, vlhkost,..])



# Měření rychlosti fotosyntézy gazometricky

- Měříme pokles koncentrace  $\text{CO}_2$  v okolí rostliny vyvolaný fotosyntetickou fixací molekul  $\text{CO}_2$ .
- Hlavním analytickým přístrojem je IRGA

Měření celkové fotosyntetické bilance (orgán, rostlina porost)


- Čistá fotosyntéza

$$P_n = P_G - R \quad [\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}] - \text{CO}_2 \text{ vždy uvádíme}$$

R - respirace

$P_G$  - hrubá fotosyntéza

$P_N$  - čistá fotosyntéza



# Měření rychlosti fotosyntézy gazometricky

Faktory ovlivňující rychlost fotosyntézy:

- Teplota
- Záření – intenzita, spektrální složení
- Koncentrace  $\text{CO}_2$ ,  $\text{O}_2$
- Dostupnost vody
- Dostupnost minerálních živin – N, P, ...
- Stupeň ontogeneze (počet a velikost asimilačních orgánů)
- Fyziologický stav rostlin (např. působení stresu)
  - Adaptace (obsah chl vs. záření, fotoochranné mechanismy)

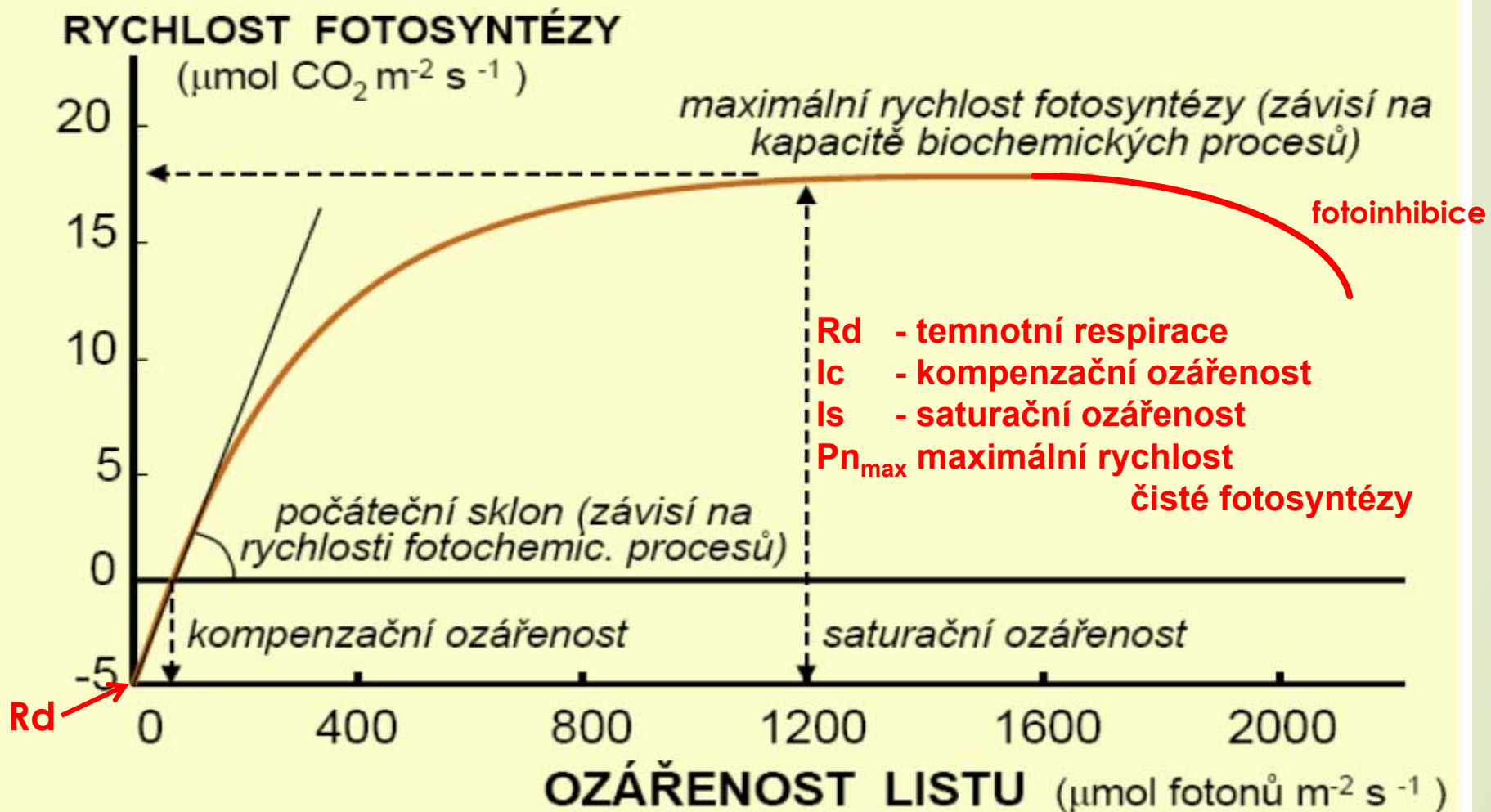
# Světelná křivka fotosyntézy měřena gazometricky

- Měření  $P_n$  za různých intenzit ozáření (0 – 2000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )
- Princip:  
Zjištění aktuálního stavu fotosyntetického aparátu rostlin na základě stanovení závislosti mezi rychlostí čisté fotosyntézy a množstvím dostupného záření
  - >> světelná křivka fotosyntézy  
*Light response curve (LRC, LC), PI curve*
- Parametry ( $R_d$ ,  $I_c$ ,  $I_s$ ,  $P_{n_{\max}}$ )
- Ozáření  
– světelné záření dopadající na fotosynteticky aktivní části rostlin ( $E$ ,  $I$ ,  $PPFD$ ,...)
  - $\text{W m}^{-2}$
  - $\mu\text{mol (foton) m}^{-2} \text{s}^{-1}$

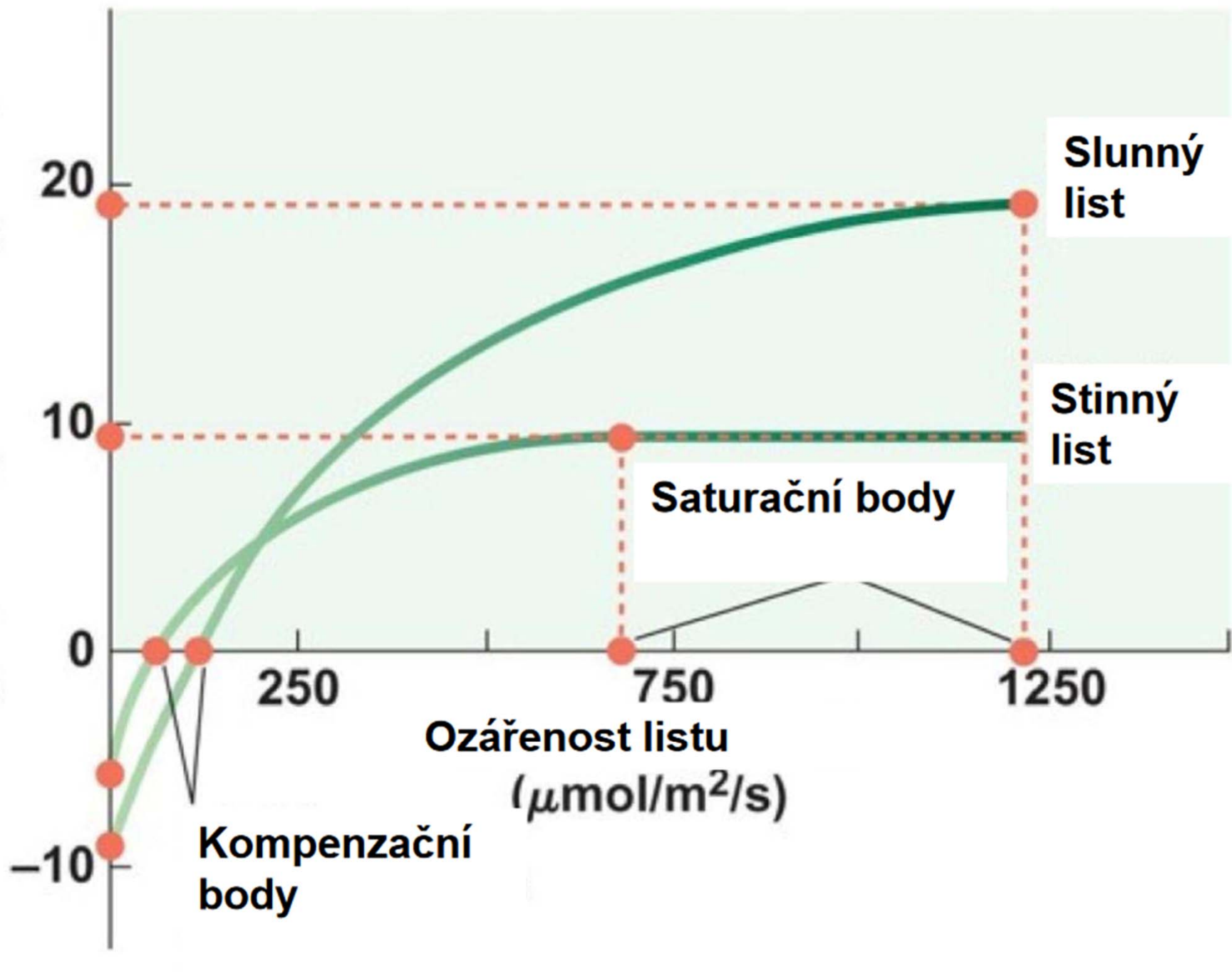


# Světelná křivka fotosyntézy

Závislost rychlosti čisté fotosyntézy (= příjmu  $\text{CO}_2$ ) na ozáření listu – „světelná křivka“ fotosyntézy



Rychlost čistého příjmu CO<sub>2</sub> ( $\mu\text{mol}/\text{CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$ )





# Praktické návody

Úloha:

# Reakce fotosyntézy rostlin na světlo: Měření světelné křivky fotosyntézy

## **Princip:**

Rychlost procesů fotosyntézy může sloužit jako dobrý indikátor celkového fyziologického stavu rostliny a také může ukazovat schopnost rostlin přizpůsobit se různým faktorům prostředí. Důležitou a často používanou metodou, která zjistí aktuální stav fotosyntetického aparátu rostlin je stanovení závislosti mezi rychlostí fotosyntézy a množstvím dostupného záření (= energie pro fotosyntetické procesy) takzvané světelné křivky fotosyntézy.

## **Cíle:**

### ***Experiment 1:***

Zjistit důsledky nedostatku minerálních živin (N, P a Fe) na procesy fotosyntézy u rostliny kukuřice.

### ***Experiment 2:***

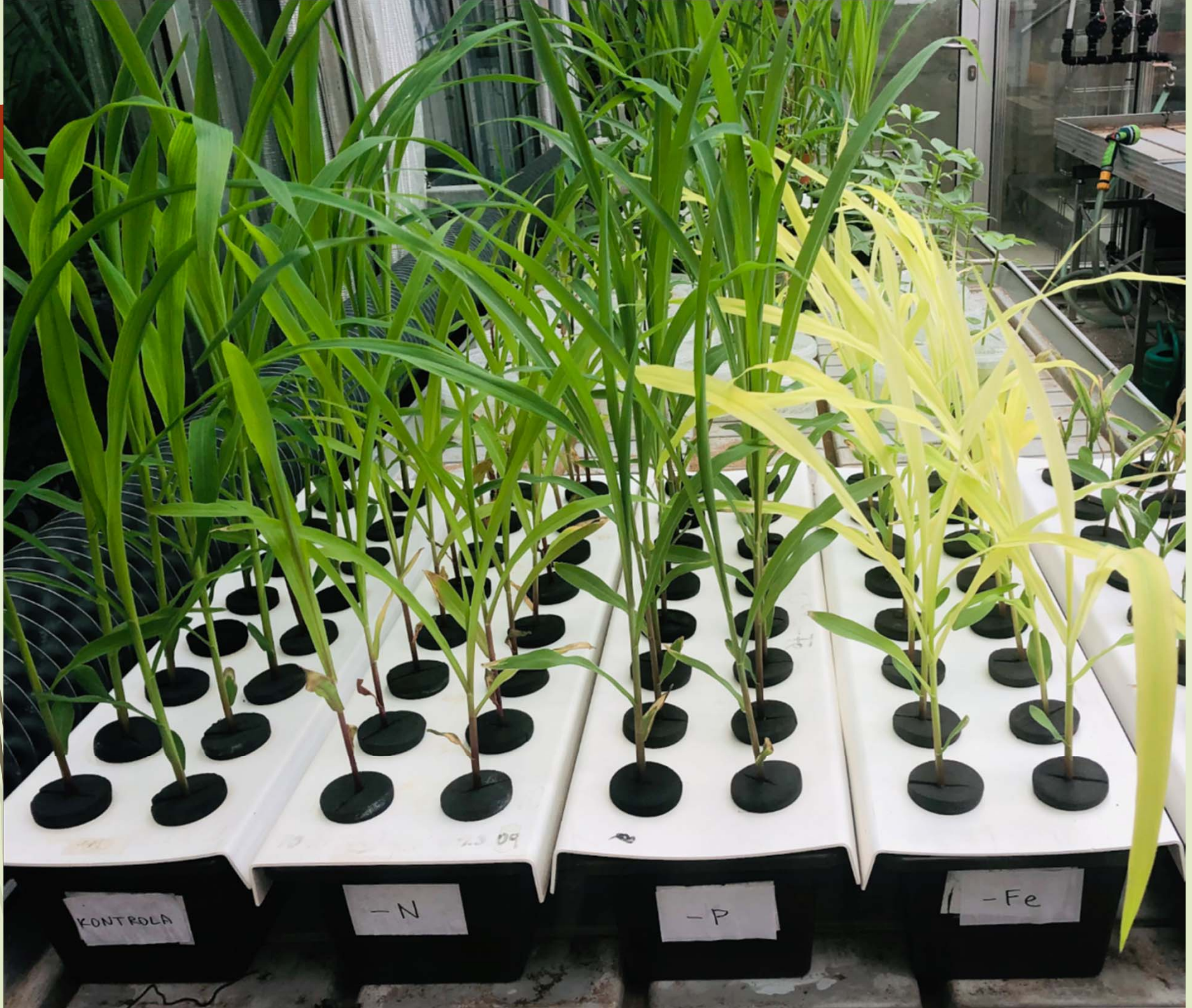
Zjistit odlišnosti fungování fotosyntetického aparátu u rostlin přizpůsobených různé dostupnosti záření v prostředí.

## ***Rostlinný materiál:***

Experiment 1: rostliny kukuřice (*Zea mays*) pěstované při deficienci minerálních živin – N, P, Fe

Experiment 2: rostliny slunečnice (*Helianthus annuus*) pěstované za vysoké (slunná varianta) a nízké (stinná varianta) dostupnosti záření





KONTROLA

-N

-P

-Fe





HL

LL

Úloha:

# Reakce fotosyntézy rostlin na světlo: Měření světelné křivky fotosyntézy

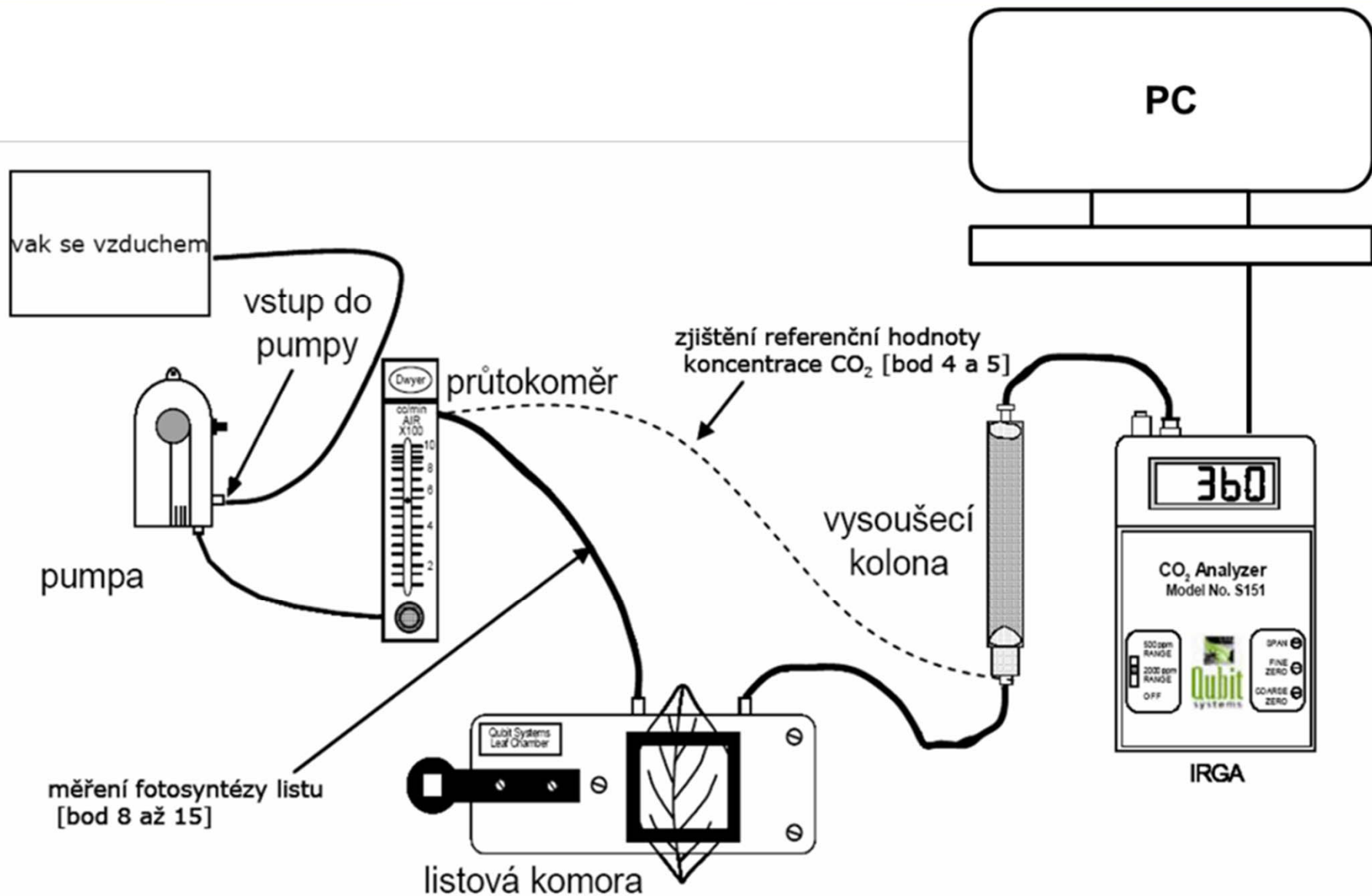
## **Měřicí aparatura:**

Stavebnicový systém na měření výměny plynů mezi rostlinami a prostředím (Qubit Systems, Kanada). Systém zahrnuje:

- IRGA analyzátor
- trubicový průtokoměr (rotametr)
- membránové čerpadlo
- kolona s vysoušedlem pro absorpci vodní páry
- plastový vak naplněný vzduchem (zdroj CO<sub>2</sub> o konstantní koncentraci)
- zdroj záření s plynulou regulací (světlo emitující diody - LED)
- uzavíratelná komora pro vzorky listů
- mřížka pro stanovení velikosti listové plochy

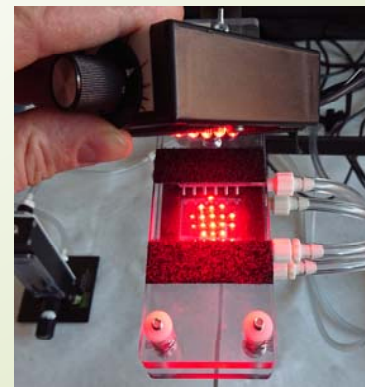
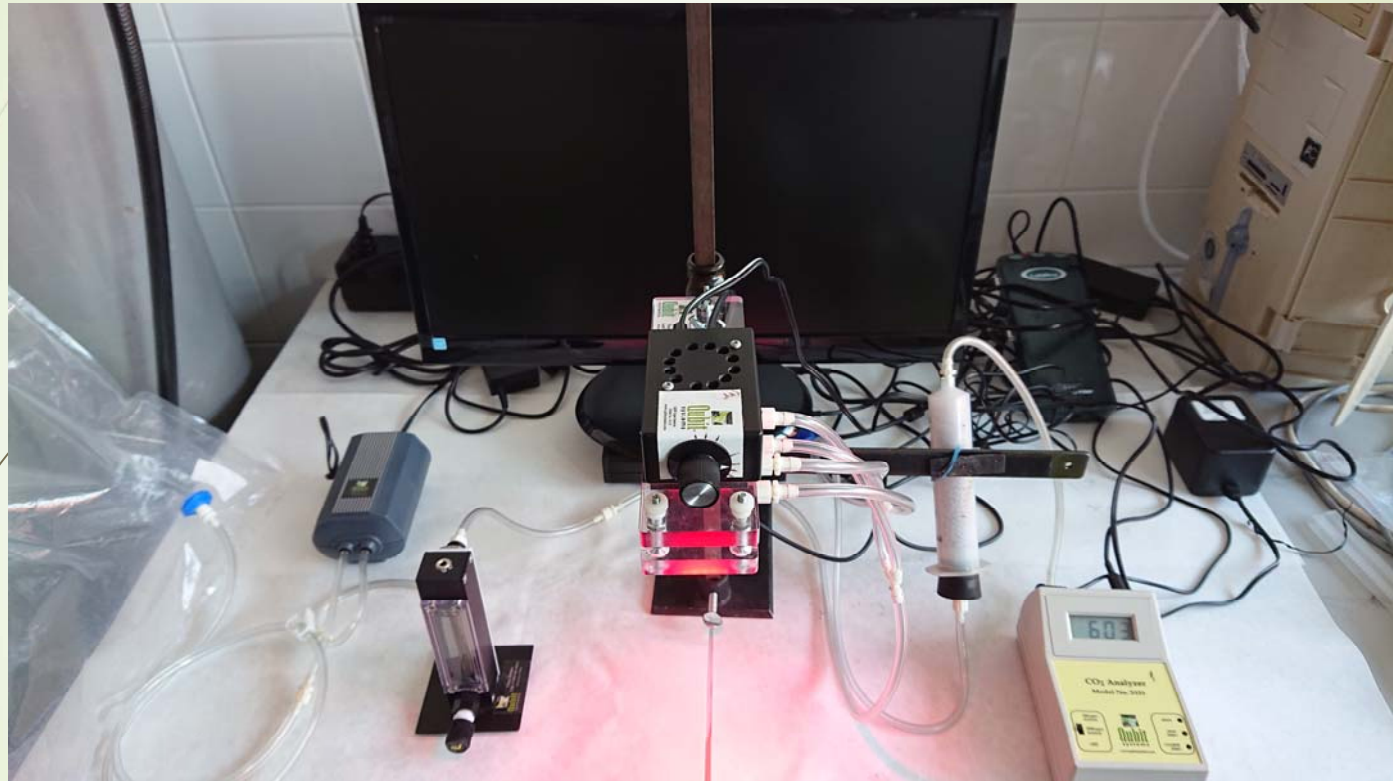


# Měřicí gazometrická aparatura



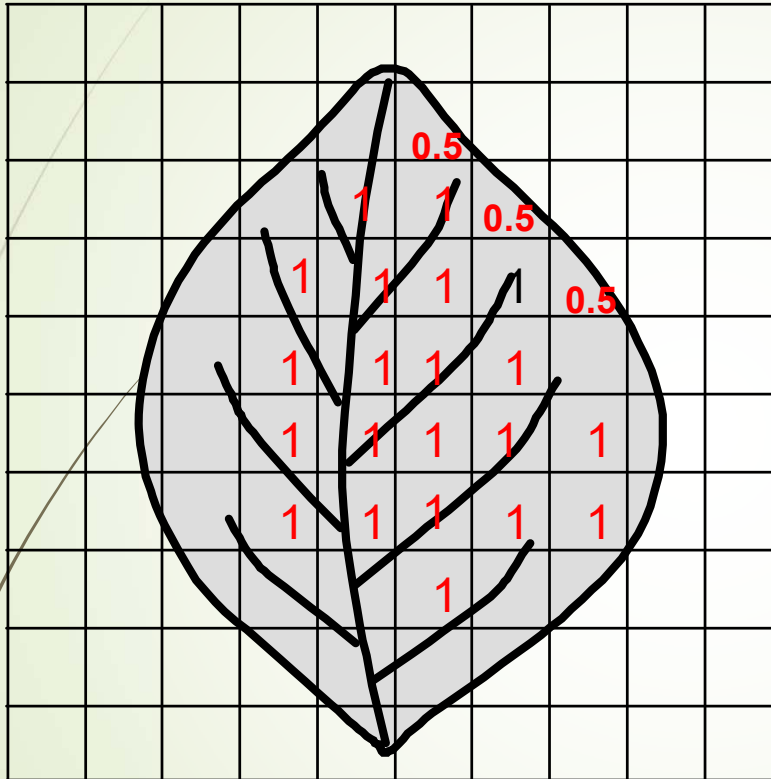


# Měřicí gazometrická aparatura

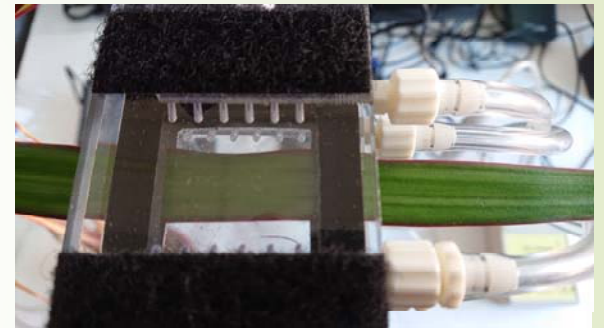
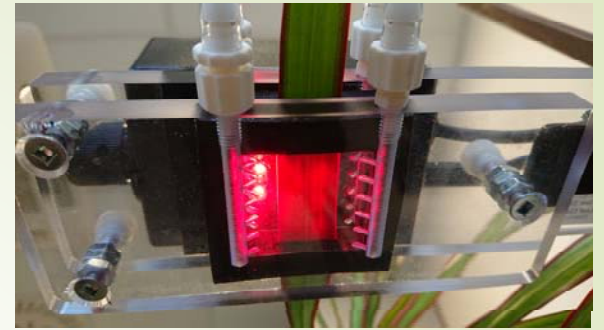


# Měření světelné křivky fotosyntézy

1. Propojte součásti systému podle schématu a zapněte IRGA
2. Změřte referenční koncentraci CO<sub>2</sub>
  - propojte výstup z průtokoměru přímo k vysoušecí koloně
  - seřídte průtokoměr na tok 0.3 l/min
  - počkejte na ustálení signálu z IRGA, odečtěte hodnotu koncentrace CO<sub>2</sub> (ppm)
3. Připojte listovou komoru do systému, umístěte do ní list a těsně uzavřete
4. Na listovou komoru připojte světelný zdroj
5. Zapněte světelný zdroj na maximální hodnotu (1200 a pozorujte změny koncentrace CO<sub>2</sub>)
6. Počkejte na ustálení signálu z IRGA, odečtěte hodnotu koncentrace CO<sub>2</sub> a запиšte do tabulky
7. Upravte intenzitu ozáření na nižší hodnotu dle tabulky (80, 60, 40, 20, 10%) a měření dle bodu 5 a 6 opakujte.
8. Nakonec zdroj vypněte a listovou komoru zastiňte pro měření (dle bodu 5 a 6) za tmy.
9. Pomocí mřížky změřte a запиšte plochu listu v komoře



suma / 4 = [cm<sup>2</sup>]



PPFD [ $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ]	CO <sub>2</sub> (ref) [ $\mu\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1}$ ]	CO <sub>2</sub> (analysed) [ $\mu\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1}$ ]	$\Delta \text{CO}_2$ [ $\mu\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1}$ ]	průtok (f) [ $\text{l min}^{-1}$ ]	listová plocha [ $\text{m}^2$ ]	Pn [ $\mu\text{mol (CO}_2) \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ]

Výpočet:

1. Vypočítejte rozdíl mezi referenční koncentrací CO<sub>2</sub> a koncentrací v analyzovaném vzorku ( $\Delta\text{CO}_2 = \text{reference} - \text{vzorek}$ )
2. Převed'te  $\Delta\text{CO}_2$  z jednotek ppm na  $\mu\text{mol CO}_2 \text{l}^{-1}$  podle vzorce:

$$\frac{\Delta\text{CO}_2}{22,415 * \left(\frac{T + C}{T}\right)}$$

kde C je teplota v °C a T je absolutní teplota (273 K).

Např. při teplotě 20°C a když  $\Delta\text{CO}_2$  je 40 ppm, tak  $\Delta\text{CO}_2$  je 1,66  $\mu\text{mol CO}_2 \text{l}^{-1}$ .

3. Vynásobte hodnotu  $\Delta\text{CO}_2$  průtokem ( $\text{l s}^{-1}$ ). Nakonec vyjádřete rychlost výměny CO<sub>2</sub> na listovou plochu. Rychlost čisté fotosyntézy tedy v závěru získáte v jednotkách  $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .



Úloha:

# Reakce fotosyntézy rostlin na světlo: Měření světelné křivky fotosyntézy

## Prezentace získaných dat

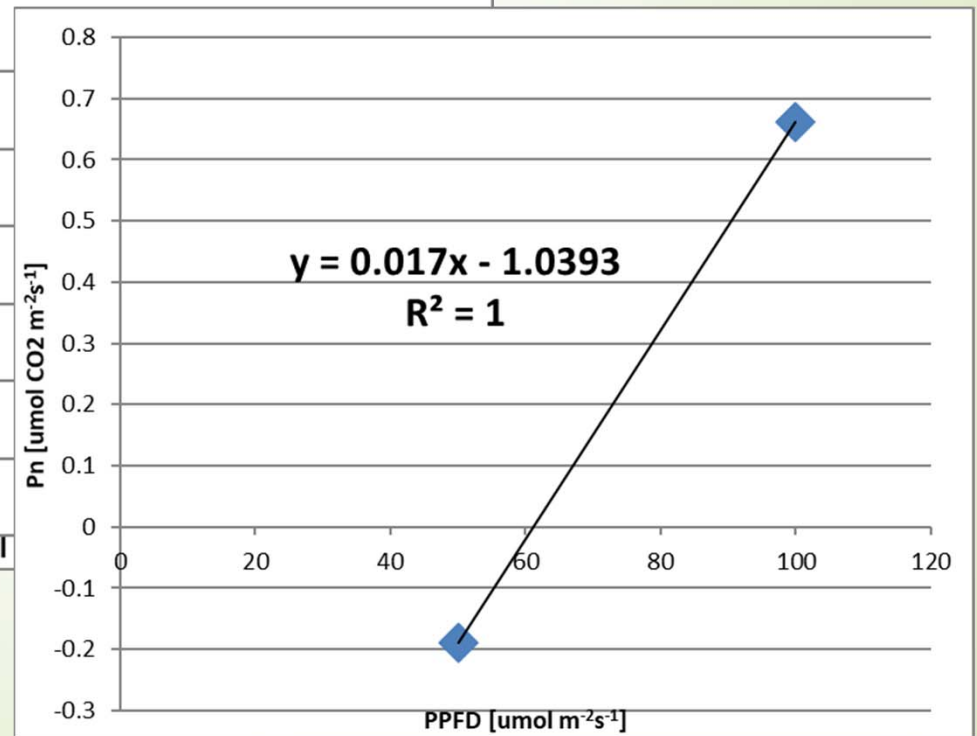
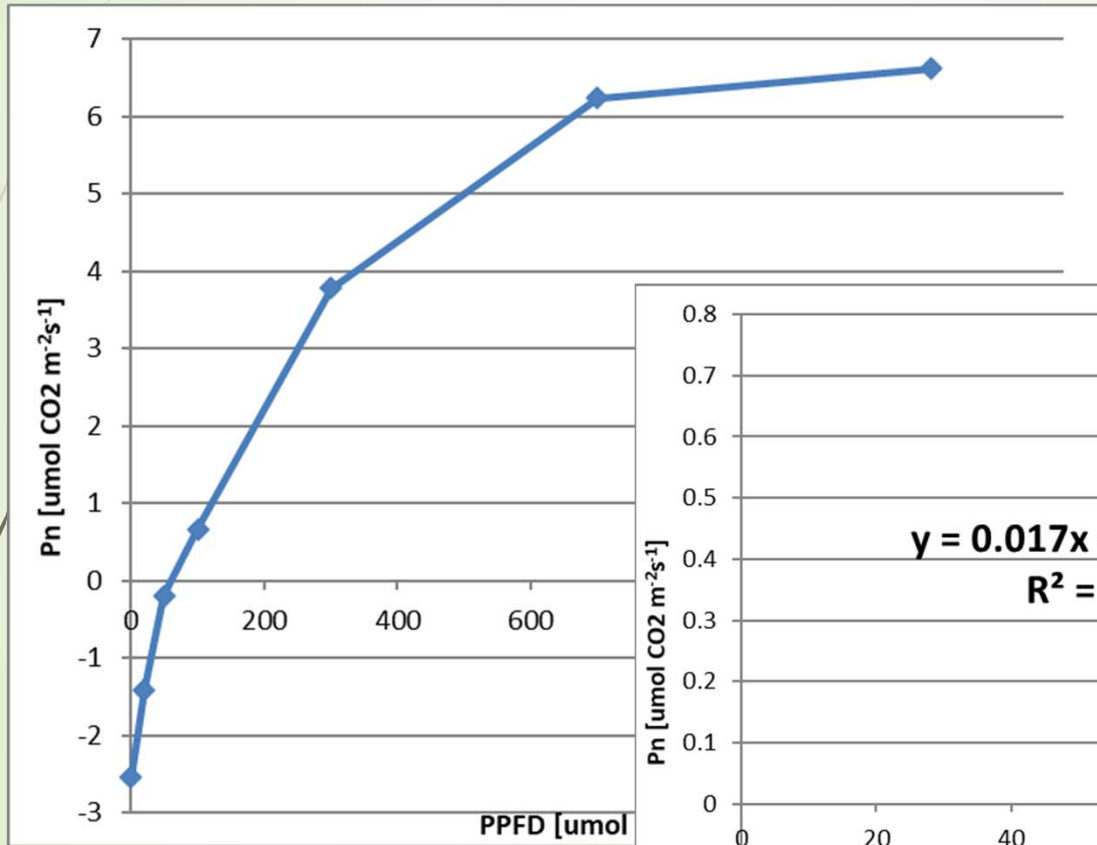
1. Výsledková měřicí tabulka ve formě uvedené výše.
2. Z naměřených a vypočítaných hodnot vytvoříme v počítači grafickou závislost mezi množstvím fotosynteticky aktivního záření (PPFD,  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) na ose X a rychlostí čisté fotosyntézy ( $P_n$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) na ose Y.

Z vámi získaného grafu (světelné křivky fotosyntézy) stanovte (odečtem u naměřených hodnot nebo výpočtem u interpolovaných hodnot):

- hodnotu kompenzační ozáření ( $I_c$ ),
- hodnotu temnotní respirace ( $R_d$ ) a
- hodnotu maximální rychlosti čisté fotosyntézy ( $P_{Nmax}$ ) pro měřené rostliny

Úloha:

# Reakce fotosyntézy rostlin na světlo: Měření světelné křivky fotosyntézy



Úloha:

# Reakce fotosyntézy rostlin na světlo: Měření světelné křivky fotosyntézy

## **Diskuze získaných dat - závěry**

Porovnejte varianty v přehlední sumární tabulce a pokuste se slovně vysvětlit pozorované rozdíly mezi variantami v závěru.

- ▶ Ve kterých parametrech se experimentální varianty mezi sebou nejvíce lišily?
- ▶ Jakým mechanismem mohlo ke změně parametrů křivky dojít (ovlivnění strukturních vlastností, funkční změny)?
- ▶ Jaké praktické důsledky mohou pozorované změny ve fungování fotosyntetického aparátu mít pro rostliny?