

# Cvičení z fyziologie rostlin

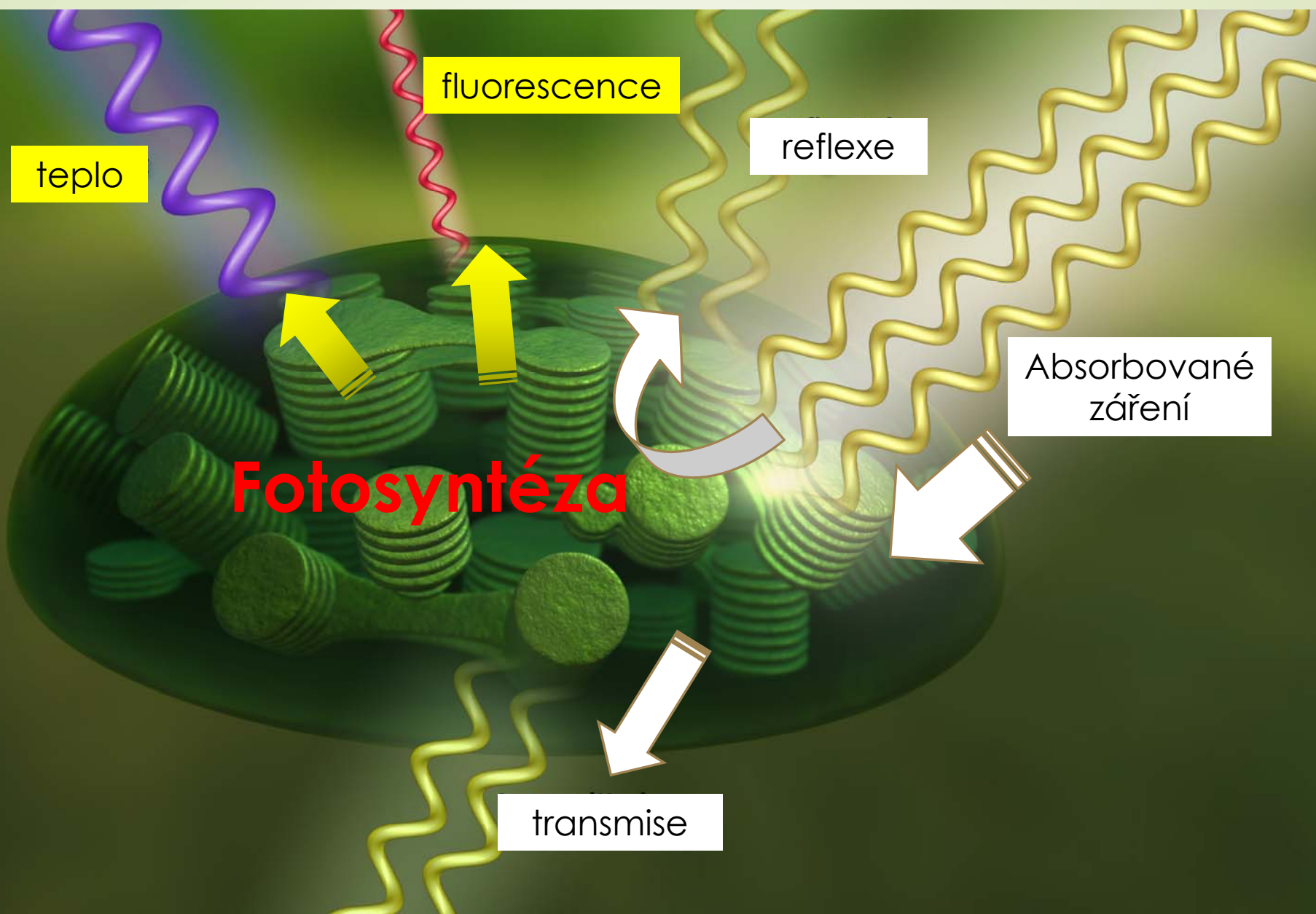


## **7. Fluorescence chlorofylu jako indikátor stresu**

# 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,..])





teplo

fluorescence

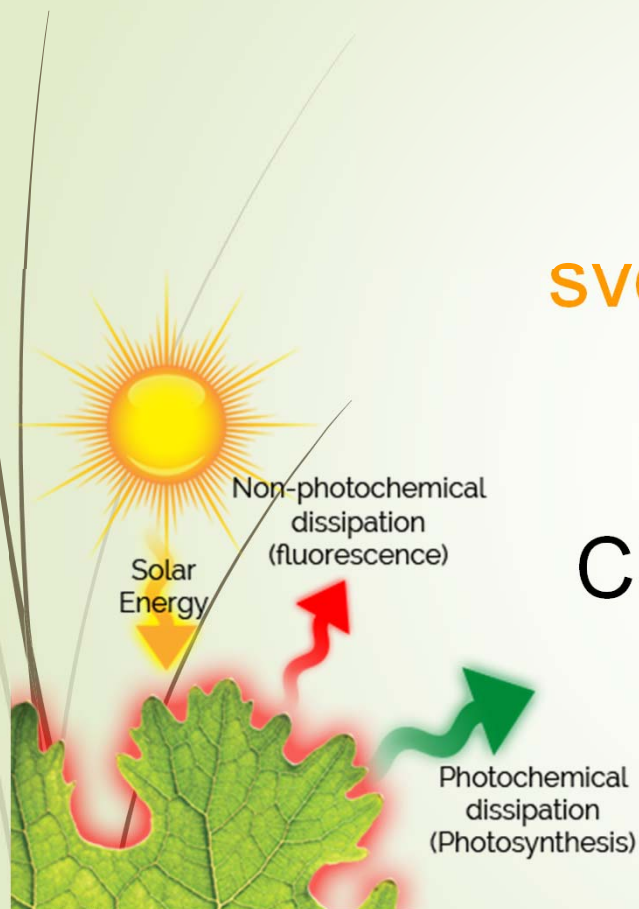
reflexe

Absorbované  
záření

# Fotosyntéza

transmise

# Fluorescence chlorofylu



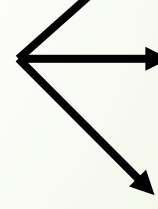
světlo



Chl



$^1\text{Chl}^*$



fotosyntéza

teplo

fluorescence

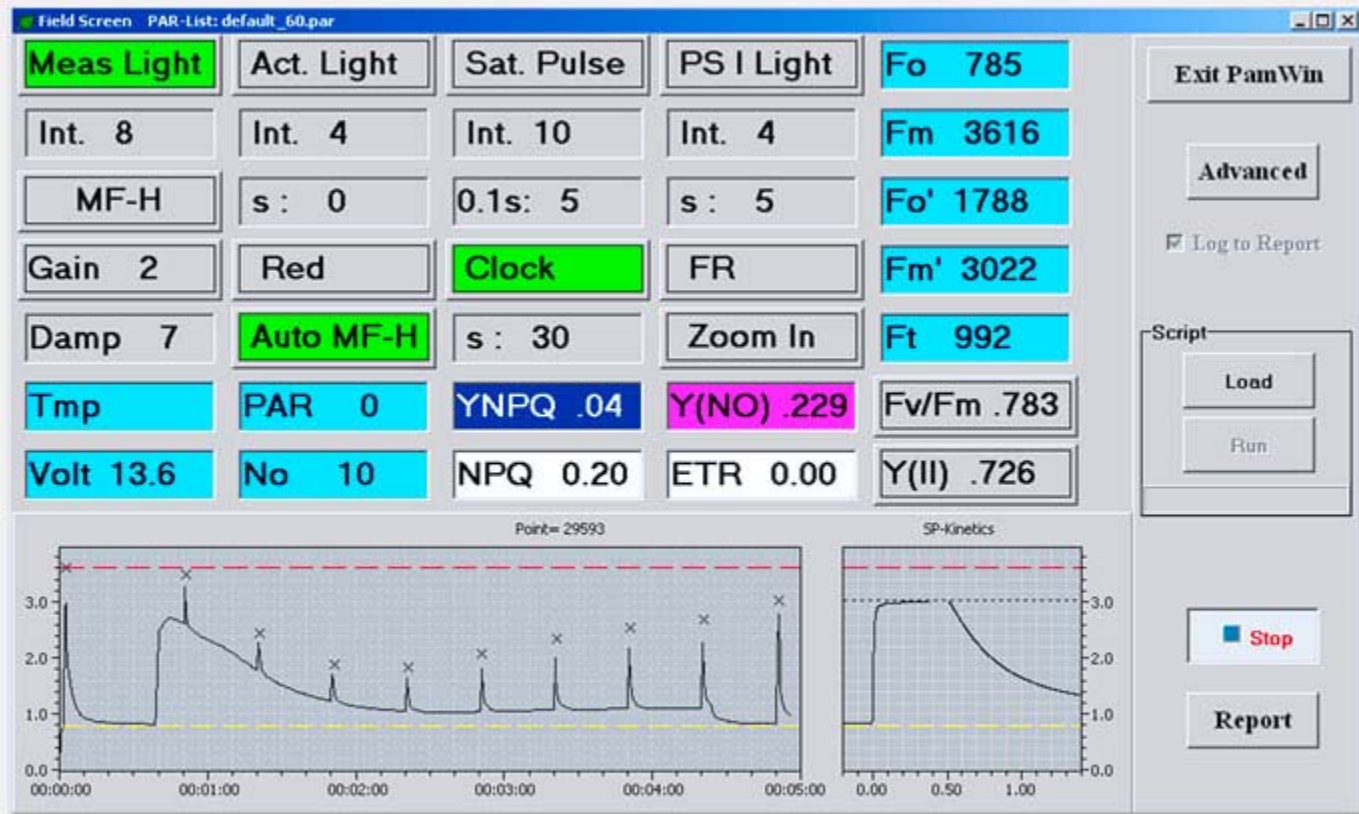
tyto tři procesy jsou na sobě závislé  
= snížení jednoho vede ke zvýšení druhých dvou  
např. snížení fotosyntézy vede ke zvýšení tepelné disipace a fluorescence



# Měření fluorescence chlorofylu



# Měření fluorescence chlorofylu



# Měření fluorescence chlorofylu





# Měření fluorescence chlorofylu





# Měření fluorescence chlorofylu

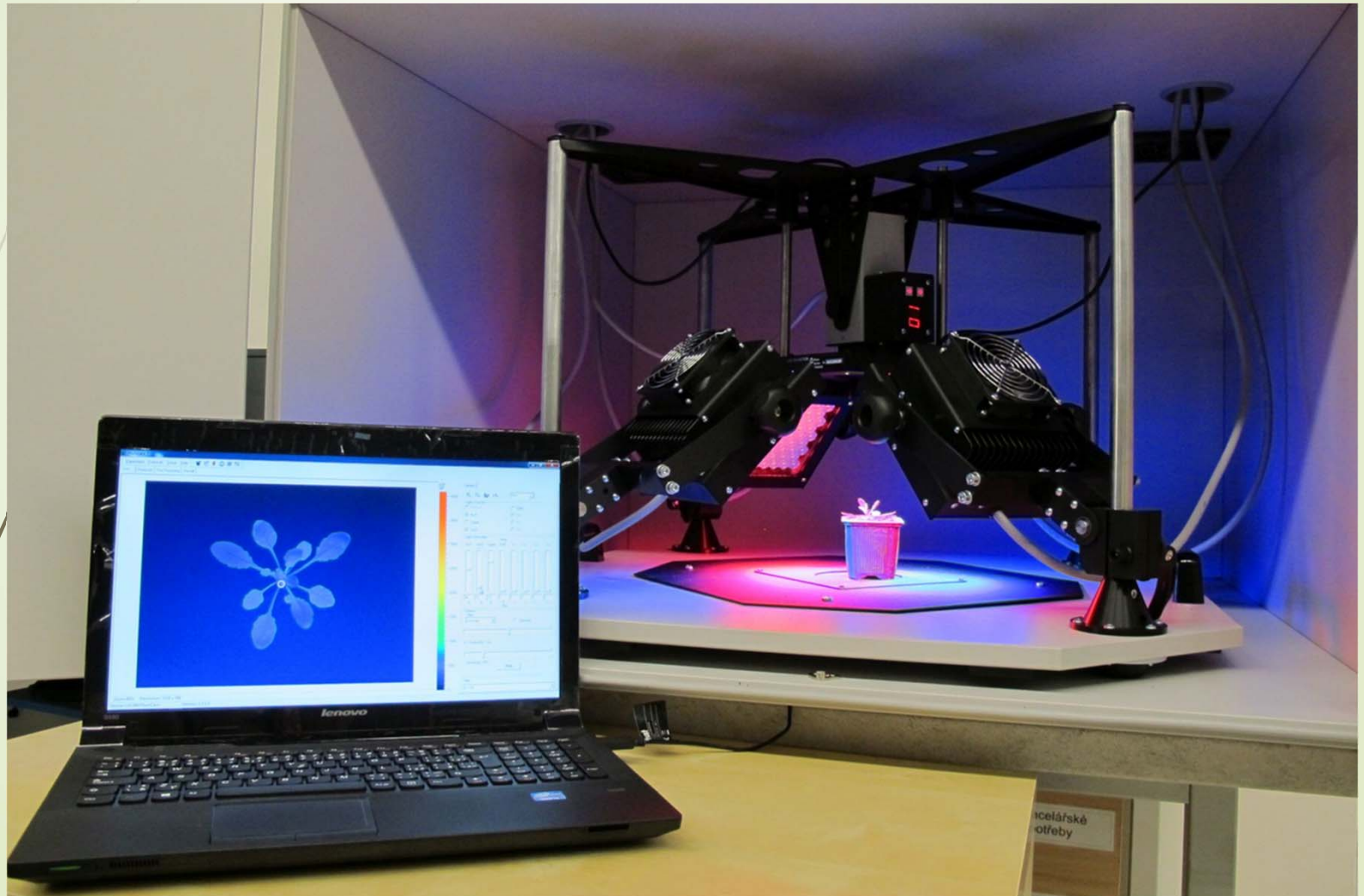


# Měření fluorescence chlorofylu



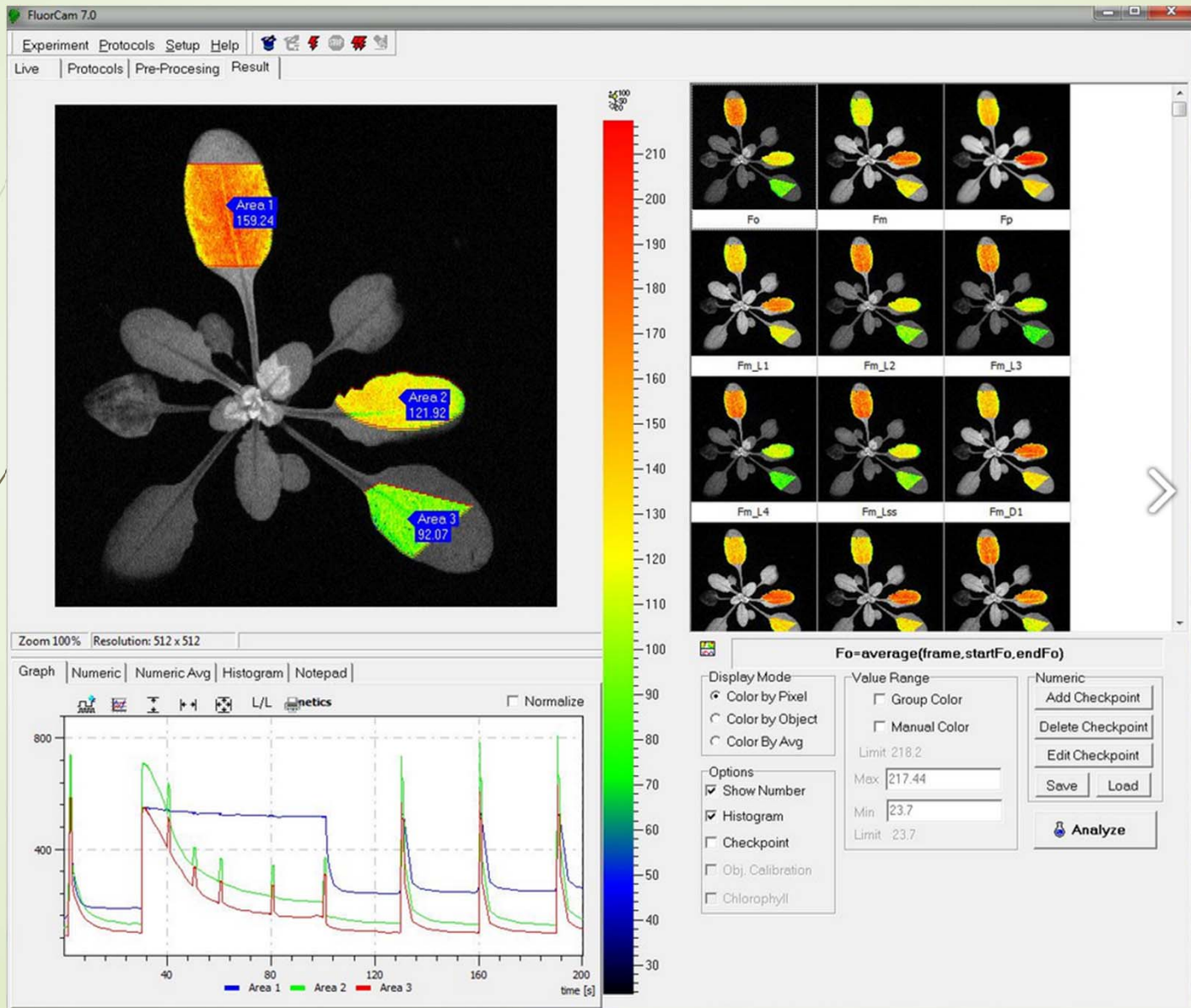


# Měření fluorescence chlorofylu

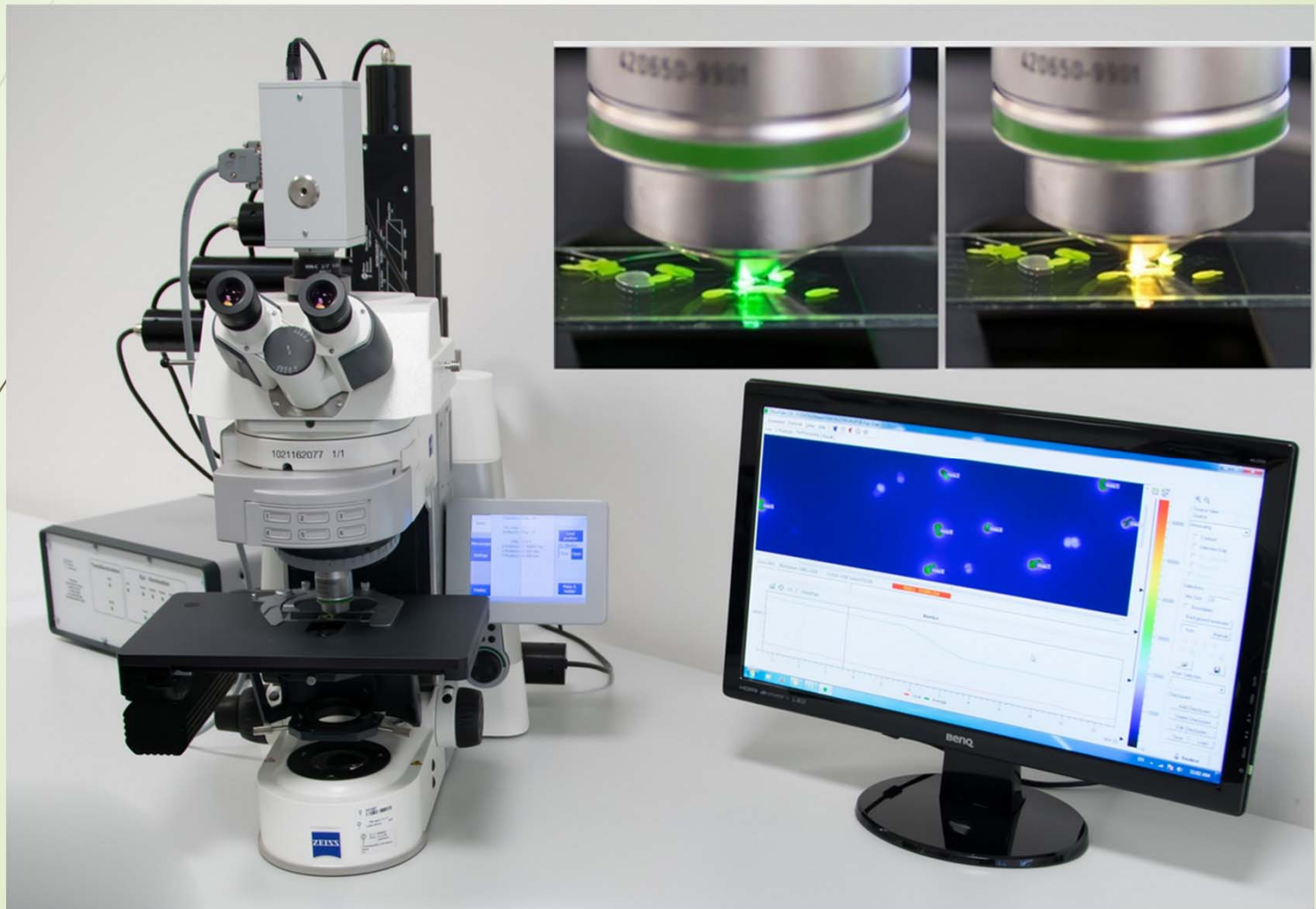




# Měření fluorescence chlorofylu

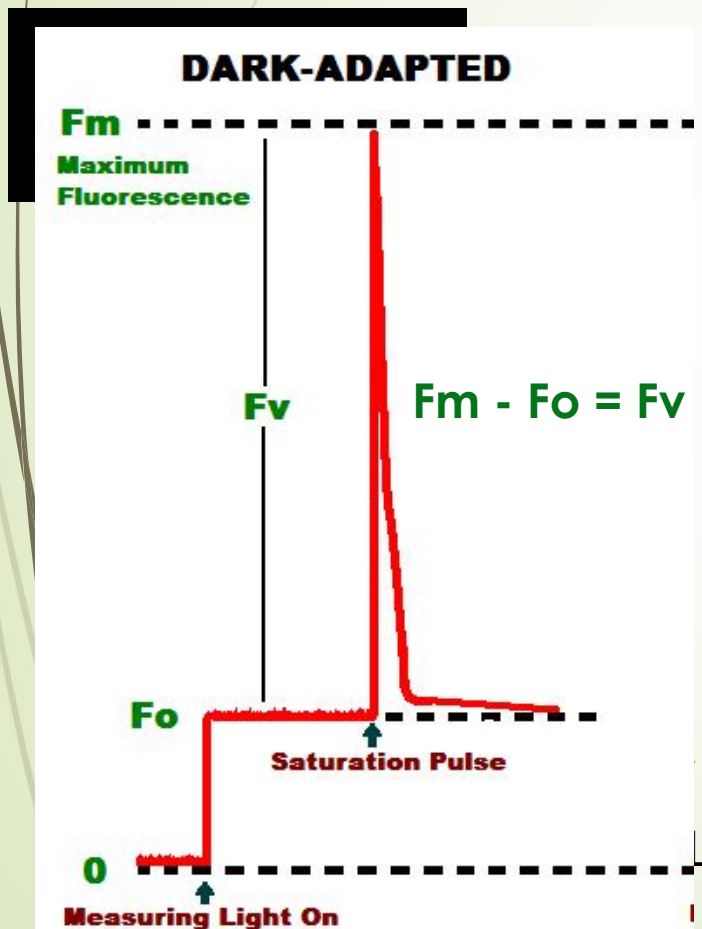


# Měření fluorescence chlorofylu



# Měření fluorescence chlorofylu

**Metoda saturačních pulzů** – používá stanovení maximální a aktuální rychlosti přenosu energie redoxními systémy membrány thylakoidu



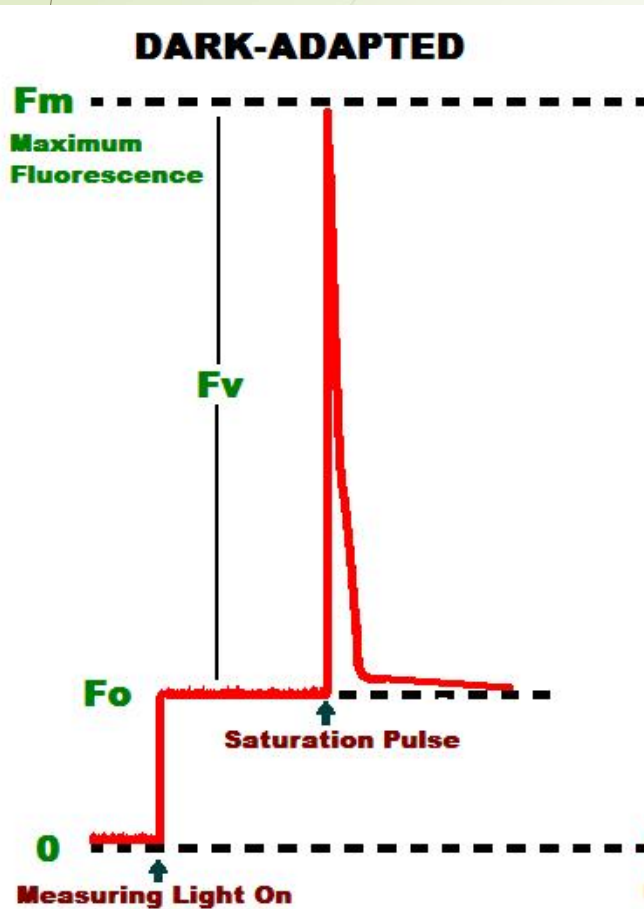
- Measuring light = měřící světlo: světlo o nízké intenzitě, vyvolá tzv. základní fluorescenci chlorofylu  $F_0$  (nedojde k separaci náboje na chlorofylu, všechna energie jde do fluorescence)

- Saturation pulse = saturační pulz: krátký pulz světla o vysoké intenzitě, vyvolá tzv. maximální fluorescenci chlorofylu  $F_M$  (úplná redukce chinonu  $Q_A$  a tím potlačení fotochemické cesty)

$F_v$  – variabilní fluorescence



# Měření fluorescence chlorofylu



$$Fv/Fm = (Fm - Fo) / Fm$$

- základní fluorescenční poměr
- Ekvivalent maximální efektivity fotochemických reakcí v PS2
- u většiny rostlin v optimálním stavu je hodnota blízká 0.83
- jakékoli snížení od optimální hodnoty znamená určité poškození fotosystémů  
(vratné nebo nevratné)

# Měření fluorescence chlorofylu

## Výhody:

- ▶ Nedestruktivní měření
- ▶ rychlá odezva na stres:  
vhodná pro měření reakcí rostlin  
na vysokou/nízkou teplotu, vysokou/nízkou ozářenost,  
poškození patogeny, znečištění životního prostředí...

## Nevýhody:

- ▶ Nespecifická odezva vůči různým konkrétním typům stresu
  - ▶ Nutné další metody pro stanovení typu působícího stresu



Úloha:

Změny základního fluorescenčního poměru (FV/FM) jako indikátoru tepelného stresu

**Princip:**

Pokud je fotosyntetický aparát rostlin nebo celá rostlina vystavena působení některého stresu, dochází k negativnímu ovlivnění funkce PS II, což se projeví ve snížení hodnoty FV/FM.

- Opakované tepelné ovlivnění v temperované komoře (45°C)

**Cíl:**

Zjistit vliv působení tepelného stresu na fotochemické procesy fotosyntézy (parametr Fv/Fm) u vybraných druhů rostlin.

**Materiál a pomůcky:**

Fluorometer PAM 210, temperovaná komora (Memmert UFE 400)

smetánka lékařská (*Taraxacum officinale*)

jitrocel střední (*Plantago media* L.)

habr obecný (*Carpinus betulus*) / borovice lesní (*Pinus sylvestris*)



## Snímek 17

---

**UH [2]2** Budeme tyto druhy taky používat? Nejsou tam jejich fotky...  
Uživatel typu Host; 13.04.2021

# Materiál a pomůcky



smetánka lékařská  
(*Taraxacum officinale*)

borovice lesní  
(*Pinus sylvestris*)

# Materiál a pomůcky



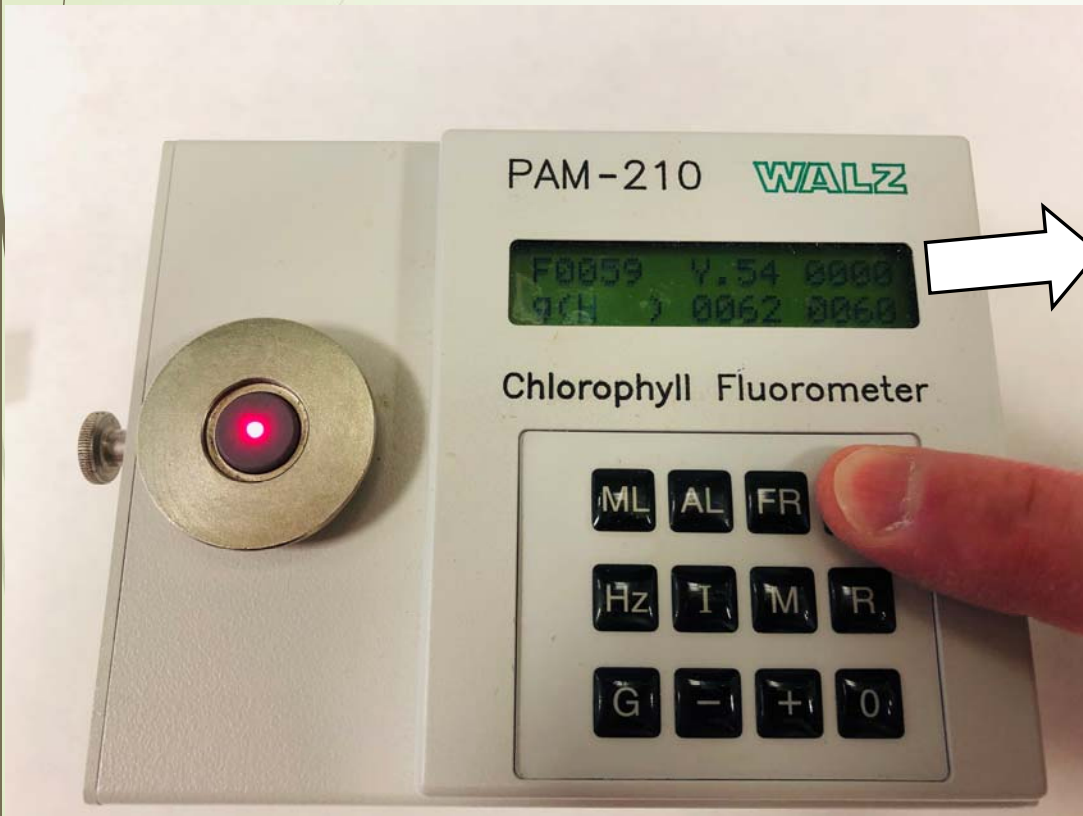


# Materiál a pomůcky



V tepelné komoře musí být připravena temperovaná kádinka s vodou

# Příprava měření



$F_V/F_M$		
F0431	Y.79	0000
g (L )	0429	2040
	$F_0$	$F_M$

Nastavení:

[ I ]

ML:3

SP:8

PAM-210

WALZ

F0059 Y.54 0000  
9CH ) 0062 0060

Chlorophyll Fluorometer

ML

AL

FR

Hz

I

M

R

G

-

+

0



# Postup

1. Zapněte fluorometr PAM-210 a počkejte na ukončení úvodních testů (cca 30s).
2. V nabídce na displeji fluorometru nastavte intenzity použitých typů světla (opakovaným mačkáním tlačítka „I“ na klávesnici fluorometru: ML - měřící světlo, AL - aktinické světlo, FR - vzdálené červené záření, SP - saturační pulz  
ML = 3, AL = *nenastavuje se*, FR = *nenastavuje se*, SP = 10 (tj. maximální hodnota)
3. Vložte měřený list na měřící bod přístroje a přiložte z vrchu magnetickou krytku, přístroj vypněte (pro vypnutí všech měření)
4. Ponechte měřený list takto po dobu 5 minut (zatemnění).
5. Po uplynutí doby zapněte přístroj a zkontrolujte stav na displeji:

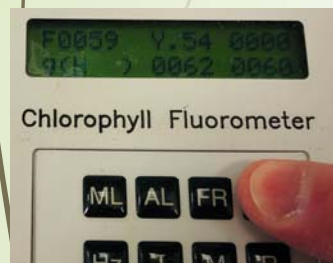
$F_V/F_M$

F0431	Y.79	0000
g (L )	0429	2040

$F_0$        $F_M$

Pokud nesvítí „L“ vymáčkněte na klávesnici fluorometru tlačítko ML

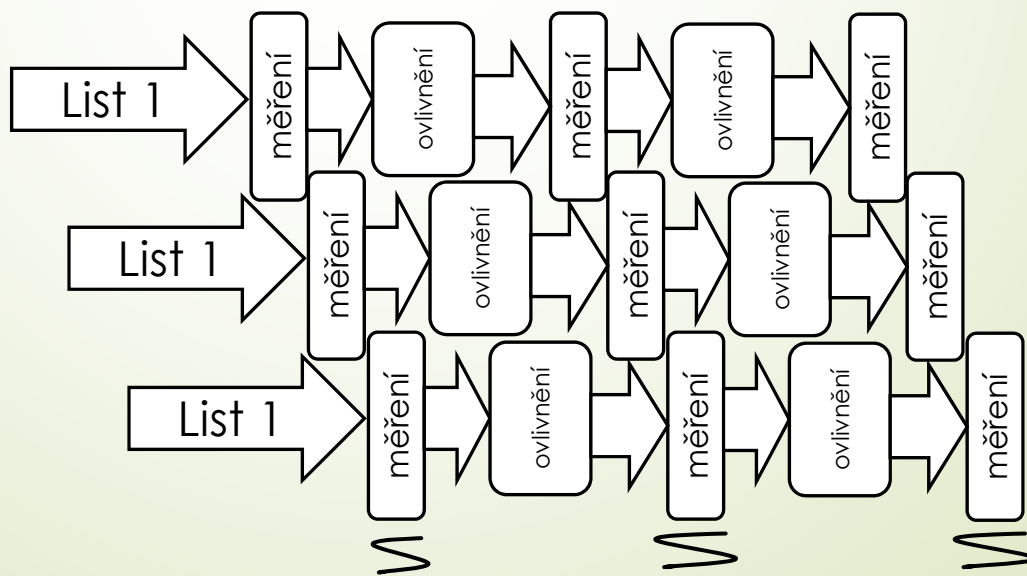
6. Po 3s stlače „SP“ pro provedení měření. Na displeji přístroje odečtete hodnotu  $F_0$ ,  $F_M$ ,  $F_V/F_M$  a zaneste do tabulky a přístroj vypněte.





# Postup

7. Měřený list vložte do temperované komory s vodou a vystavte po dobu 10 min teplotě 45 °C.
8. Měřený list vyjměte a opakujte měření v krocích 4-6, pokud list udržíte ve tmě, zkráťte dobu zatemnění na 30s.
9. Opakovaně vložte list do temperované komory a vystavte po dobu 10 min teplotě 45 °C.
10. Měřený list vyjměte a opakujte měření v krocích 4-6.
11. Měření opakujte s dalšími sledovanými listy. Využijte časový posun měření a inkubace jednotlivých paralelně testovaných listů pro zrychlení práce.



PAM-210

WALZ

Chlorophyll Fluorometer

ML	AL	FR	SP
Hz	I	M	R
G	-	+	0

Heinz Walz GmbH  
91090 Effeltrich  
Germany  
Model: PAM-210  
S/N: CFMB0214  
Made in Germany

WALZ  
Mess- und Regeltechnik

CE

PAM-210

WALZ

F0119 V, 36 0000  
F0119 V, 36 0000

Chlorophyll Fluorometer

ML	AL	FR	SP
Hz	I	M	R
G	-	+	0



Walz Wetz GmbH  
82000 Straubing  
Germany  
Model: PAM-210  
S/N: CFMB0214  
Made in Germany

WALZ  
CE



PAM-210

WALZ

Chlorophyll Fluorometer

ML	AL	FR	SP
Hz	I	M	R
G	-	+	0

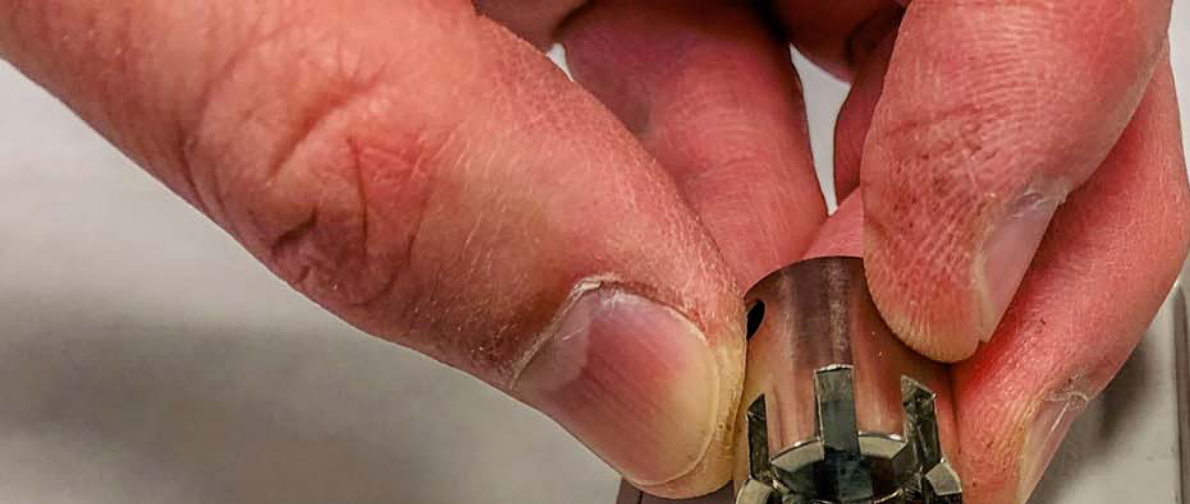


Heinz Walz GmbH  
91050 Ellrich  
Germany  
Model: PAM-210  
S/N: CFMB0214  
Made in Germany

WALZ  
Made and Registered in Germany

CE





PAM-210



Chlorophyll Fluor



PAM-210

WALZ

F0039 Y.36 8000  
701 Y.0050 0055

Chlorophyll Fluorometer

ML	AL	FR	SP
Hz	I	M	R
G	-	+	0

WALZ  
Model: PAM-210  
SN: CPMS014  
CE

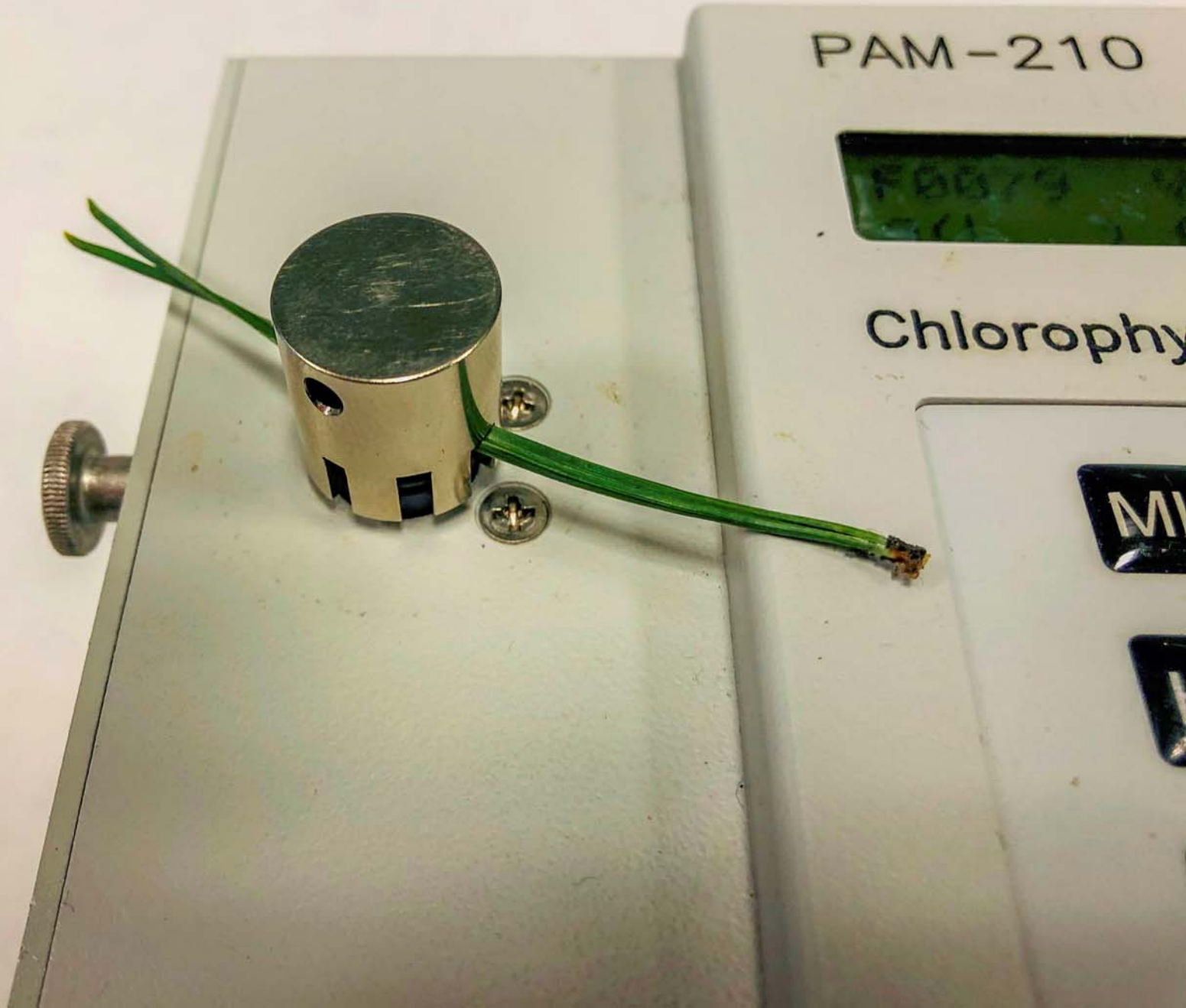


PAM-210

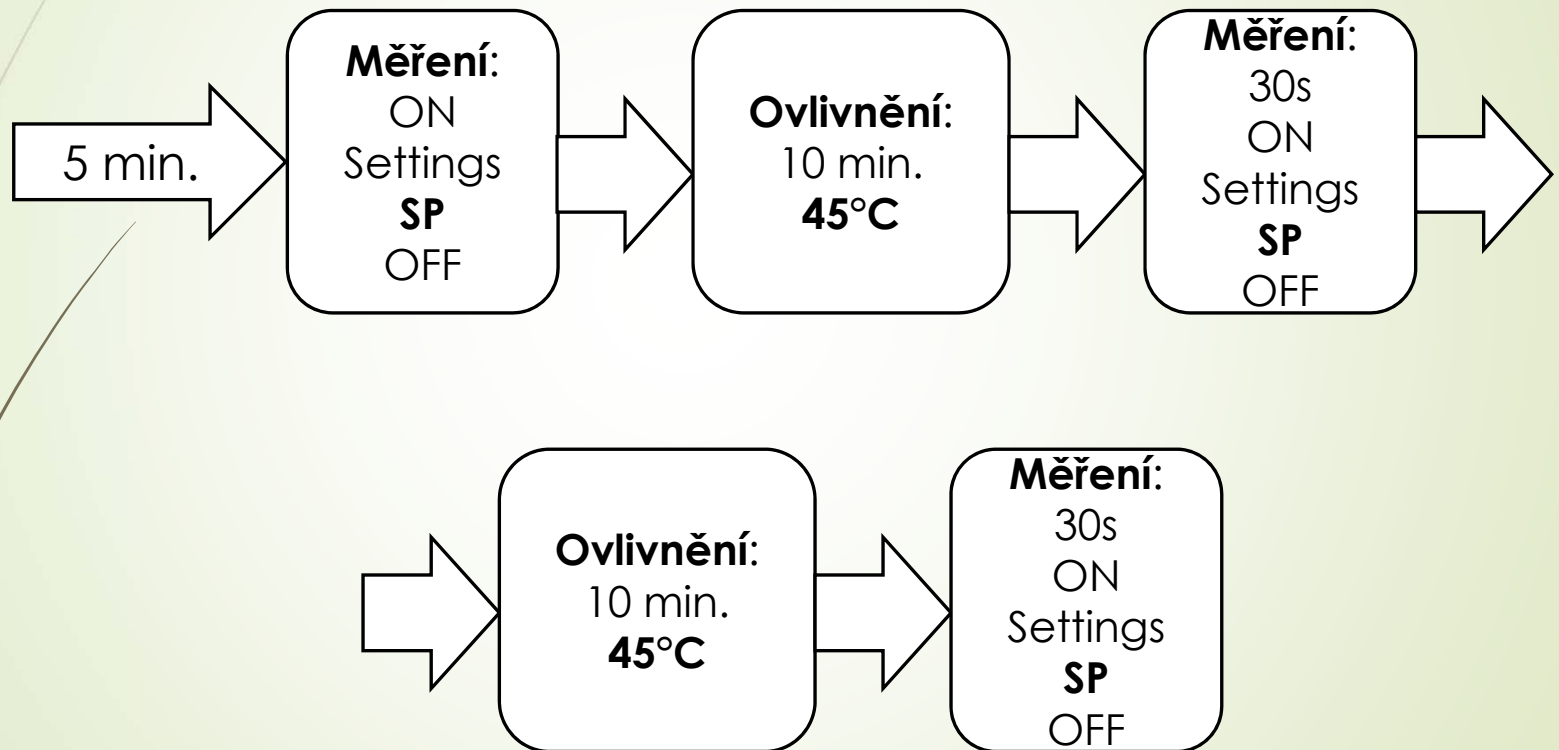
F0079

Chlorophyll

MI



# Postup





## Fluorescence chlorofylu

	Smetanka 1			Smetanka 2		
	před	po 10min	po 20min	před	po 10min	po 20min
F0						
Fm						
Fv/Fm						
	Jitrocel 1			Jitrocel 2		
	před	po 10min	po 20min	před	po 10min	po 20min
F0						
Fm						
Fv/Fm						
	Habr 1			Habr 2		
	před	po 10min	po 20min	před	po 10min	po 20min
F0						
Fm						
Fv/Fm						
	Borovice 1			Borovice 2		
	před	po 10min	po 20min	před	po 10min	po 20min
F0						
Fm						
Fv/Fm						

Úloha:

Změny základního fluorescenčního poměru ( $F_V/F_M$ ) jako indikátoru tepelného stresu

Výsledky:

- Presentujte ve formě sloupcových grafů průměrných hodnot jednotlivých parametrů  $F_0$ ,  $F_M$ ,  $F_V/F_M$
- Popište vliv tepelného stresu na fotochemické procesy
  - Doba působení
  - Mezidruhové rozdíly

TAB 1:

<i>Rostlinný materiál</i>	$F_0$	$F_M$	$F_V/F_M$
kontrolní měření			
po 1. tepelném ovlivnění			
po 2. tepelném ovlivnění			