

Fluorescence chlorofylu úplné základy - přehled

Přednáška č. 1

Miloš Barták

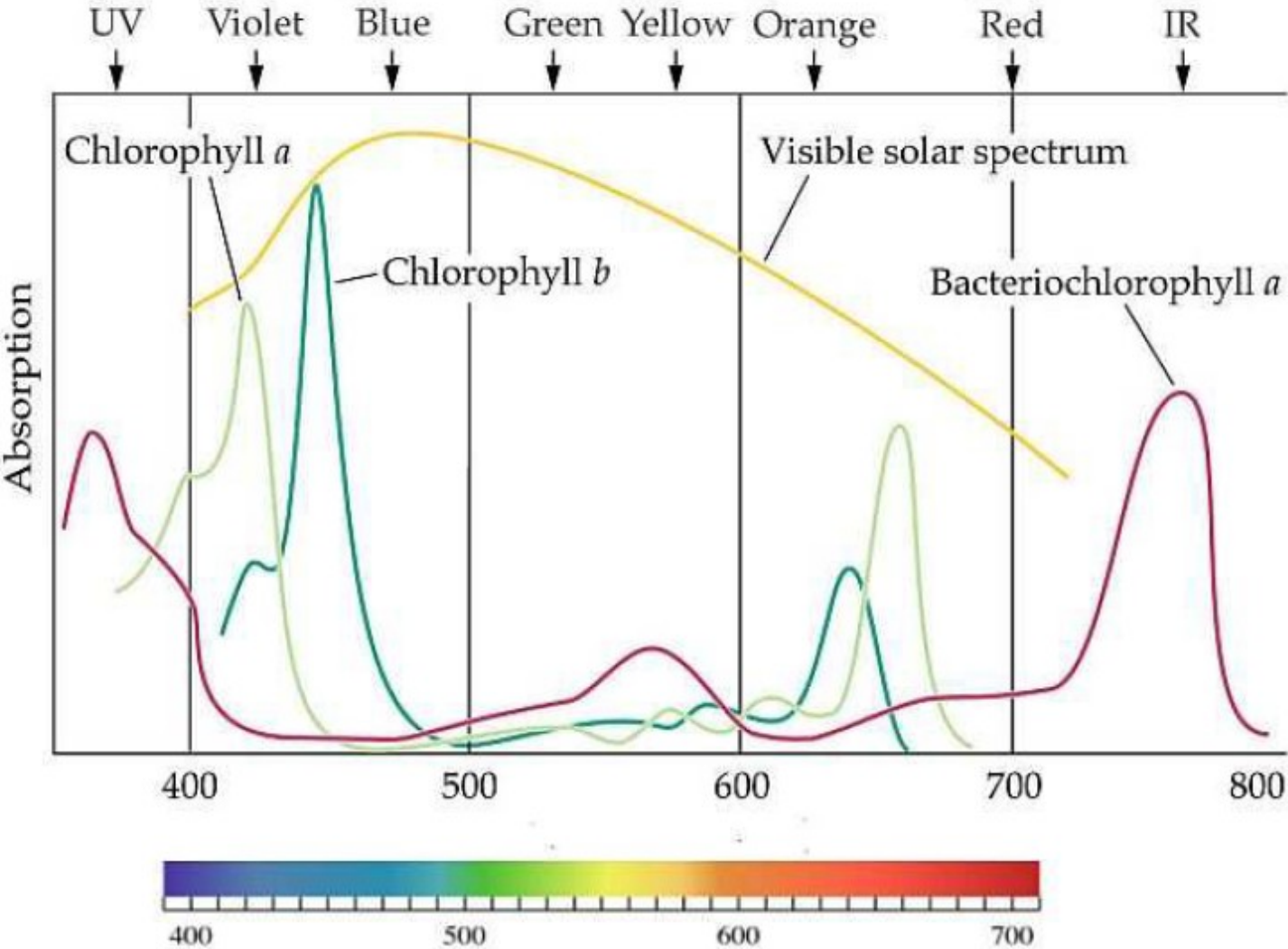
OEBR ÚEB PŘF MU, Brno

Podzimní semestr 2020



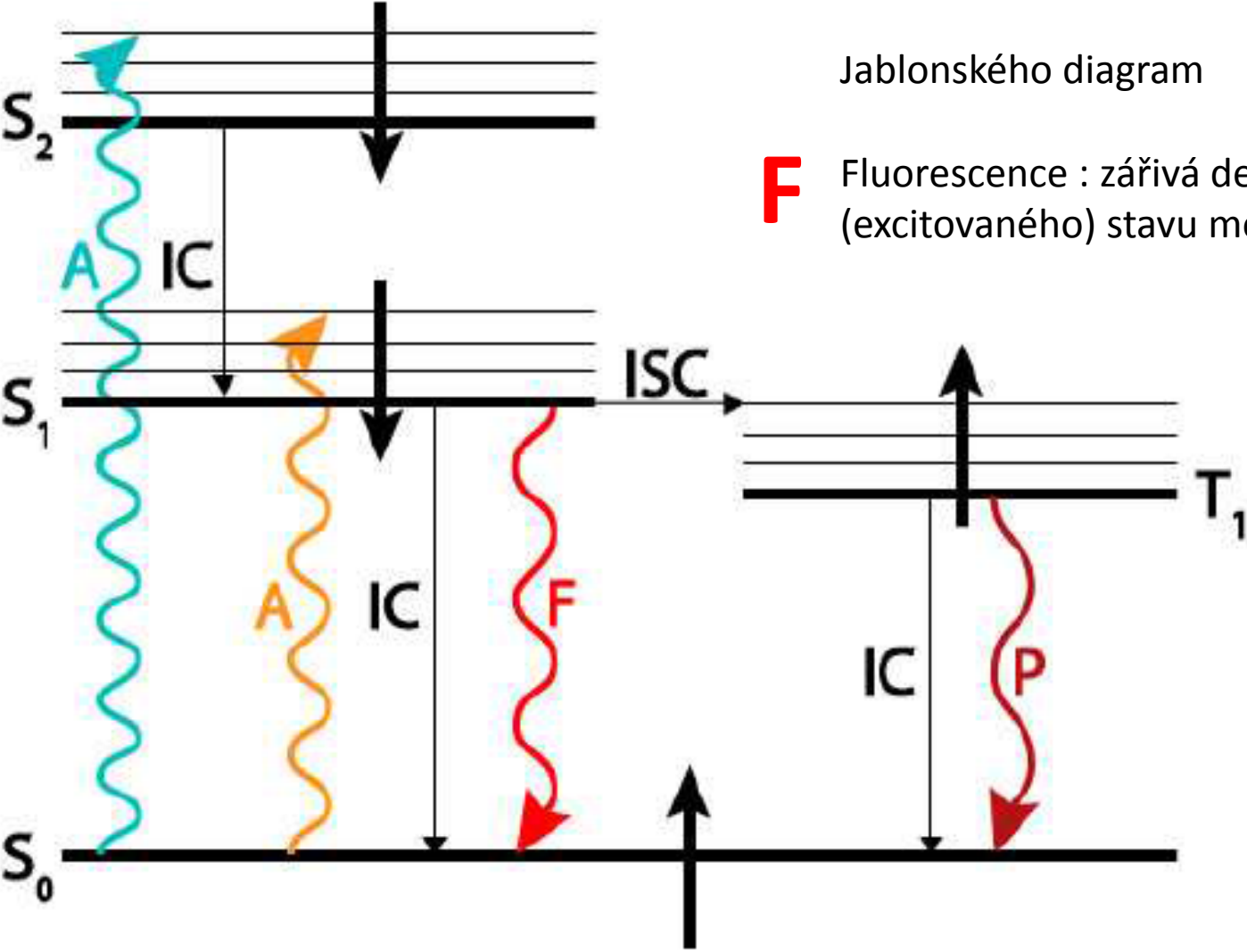
Chlorofyl - absorpce

(A) Chlorophylls



Excitace molekuly chlorofylu po absorbování zářivé energie

Jablonského diagram



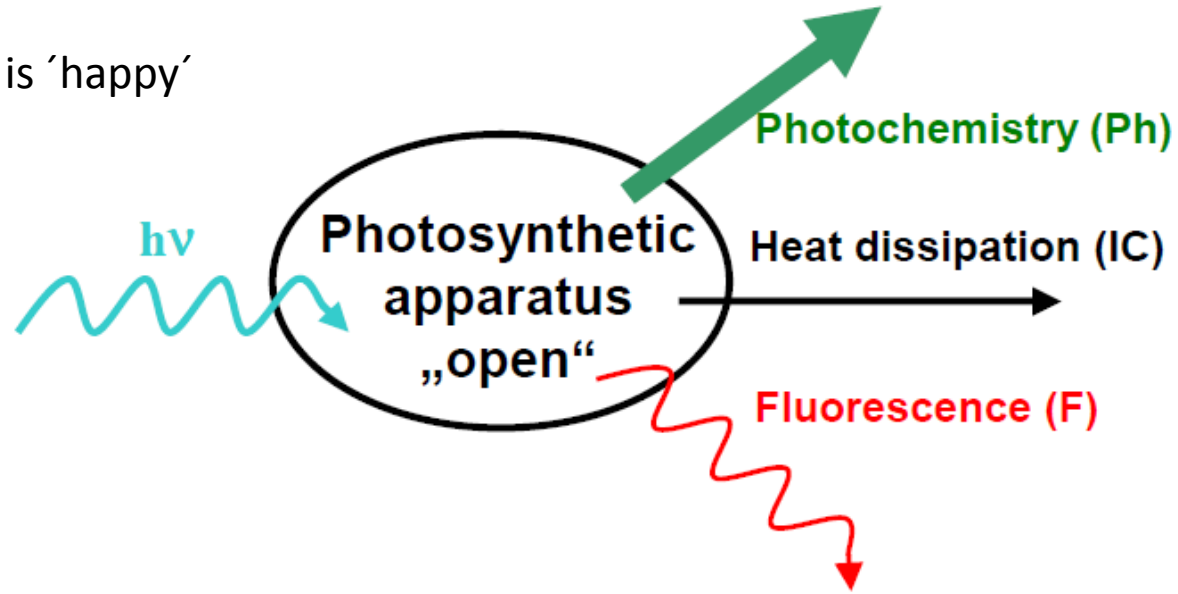
F Fluorescence : zářivá deexcitace prvního singletního (excitovaného) stavu molekuly chlorofylu

S1, S2 singletní excitované stavy

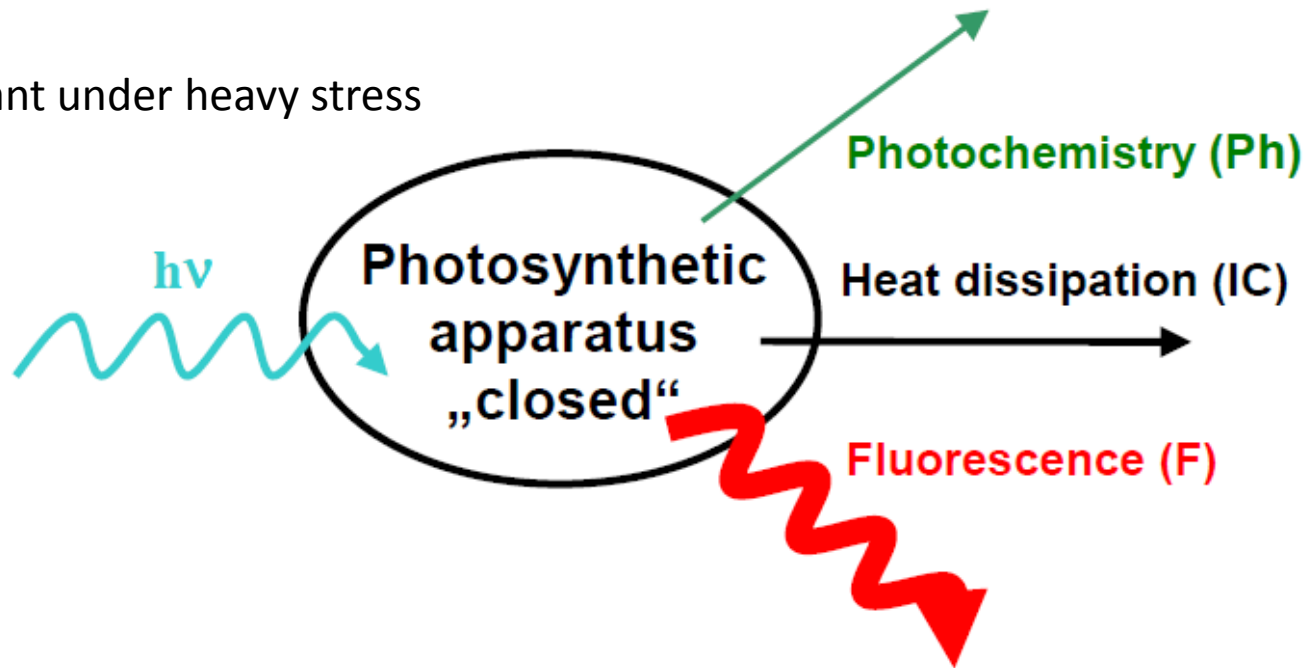
T – tripletní stavy



Plant is 'happy'



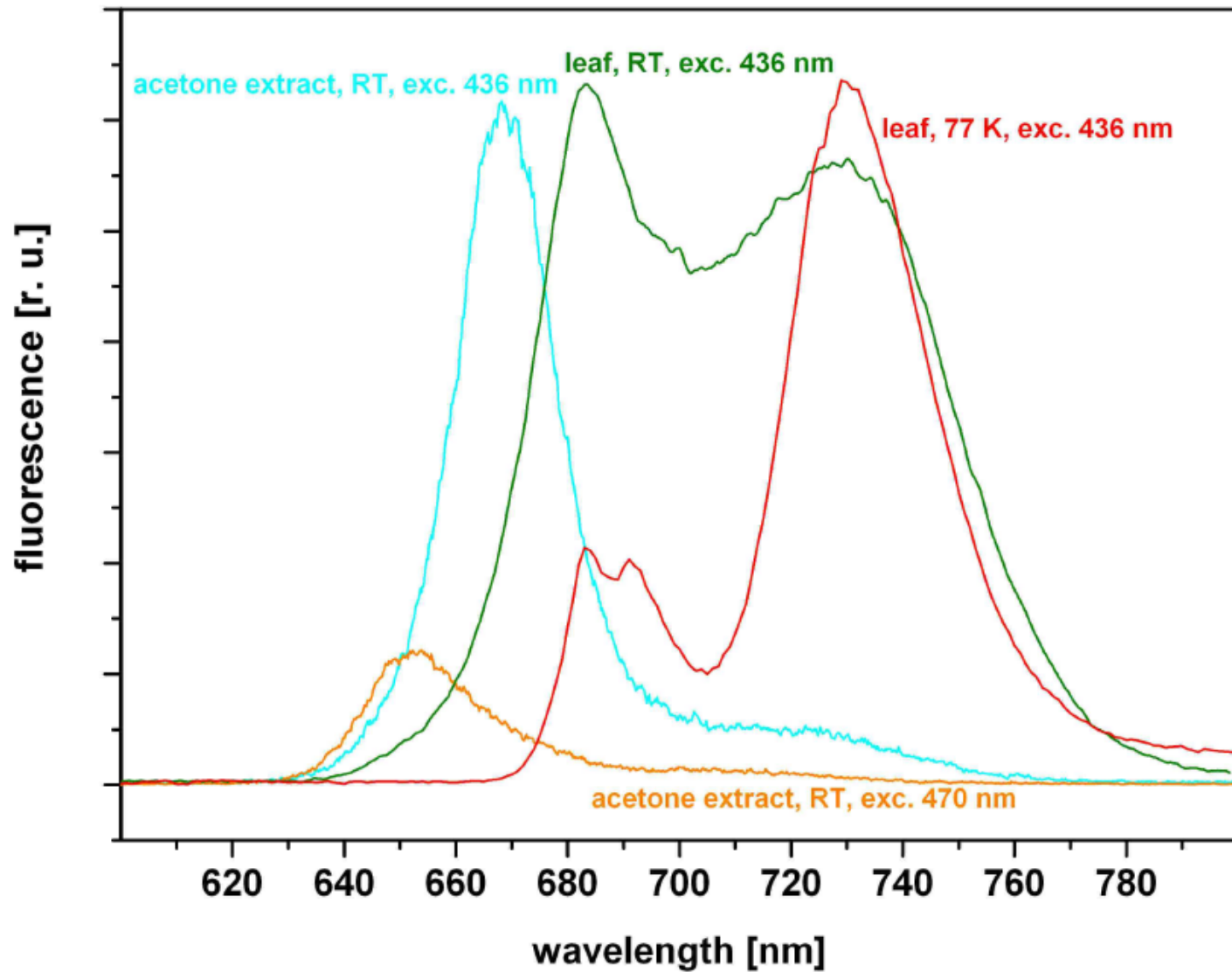
Plant under heavy stress



Spolupůsobící deexcitační cesty

Ph : fotosyntéza (Lin. Elektron. Transport)
IC: Termální disipace (uvolnění tepla)
Fluorescence chlorofylu
Plus mechanismy nefotochemického zhášení)





Emise fluorescenčního záření:

690 nm (fotosystém II, PSII)

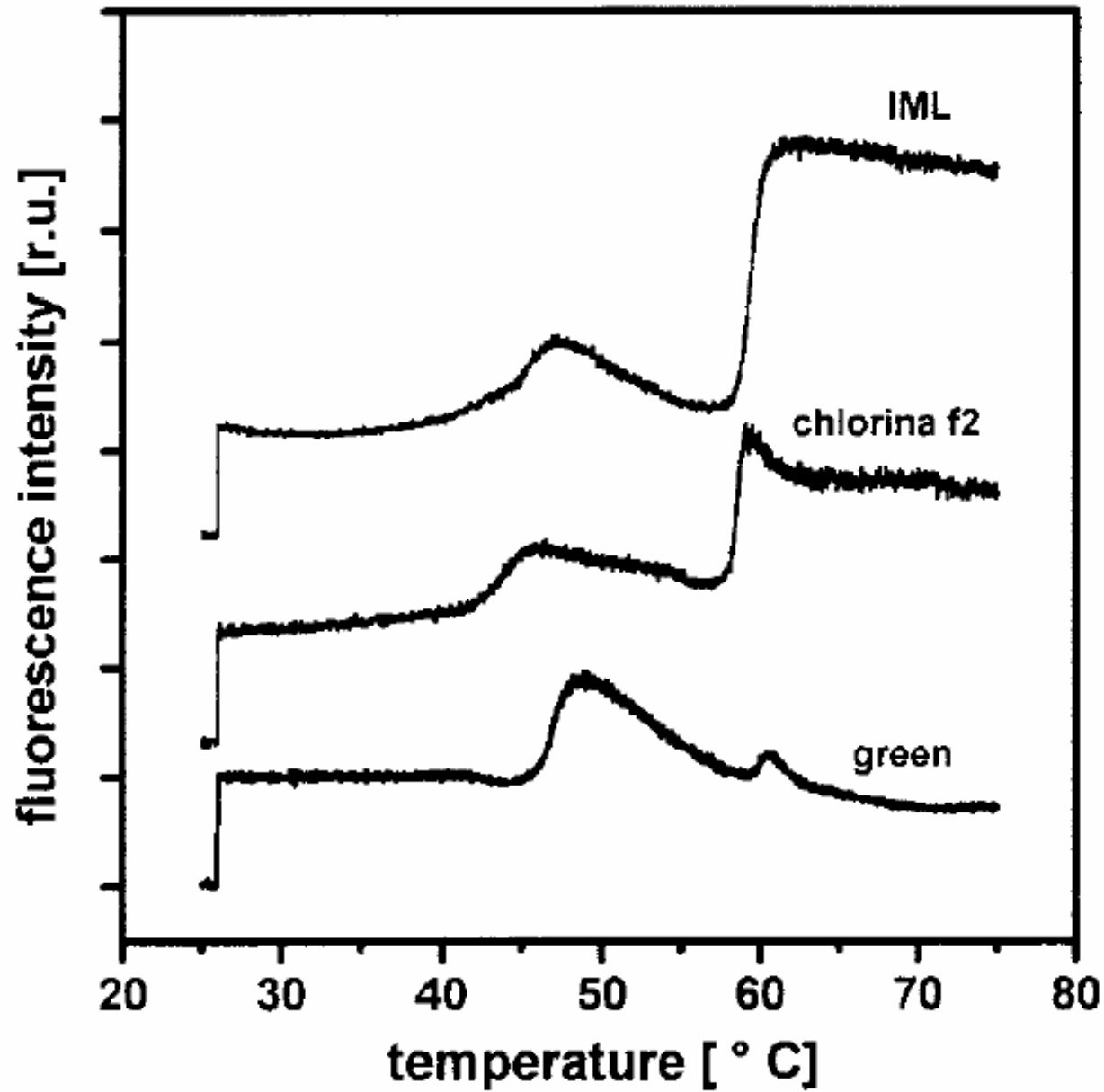
740 nm (fotosystém I, PSI)



Základní rozdělení metod fluorescence chlorofylu

- Měření aktuální hodnoty (signál-u)
- Měření indukčních křivek (d.a. – l.a)
 - Rychlá indukční kinetika (křivka) OJIP
 - Pomalá (Kautského) kinetika
- Měření parametrů fluorescence chlorofylu odvozených z křivek
 - OJIP parametry (přibližně 30 různých)
 - Pomalá (Kautského) kinetika doplněná o saturační pulsy (8 hlavních)



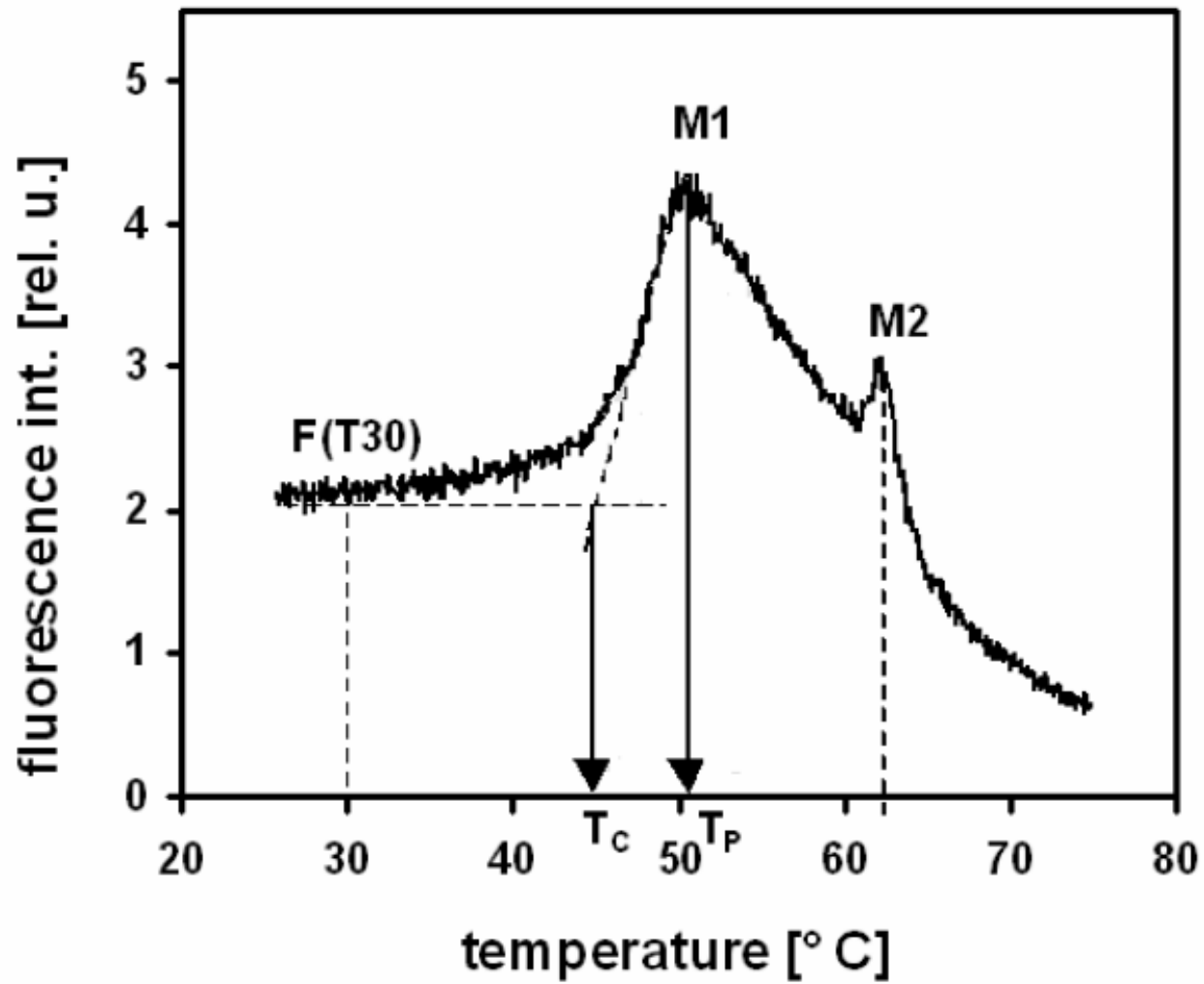


Příklad 1

Teplotní křivka fotosyntézy

Měření (celkového) fluorescenčního signálu
V závislosti na teplotě
(lineární oteplování vzorku konstantní rychlostí)





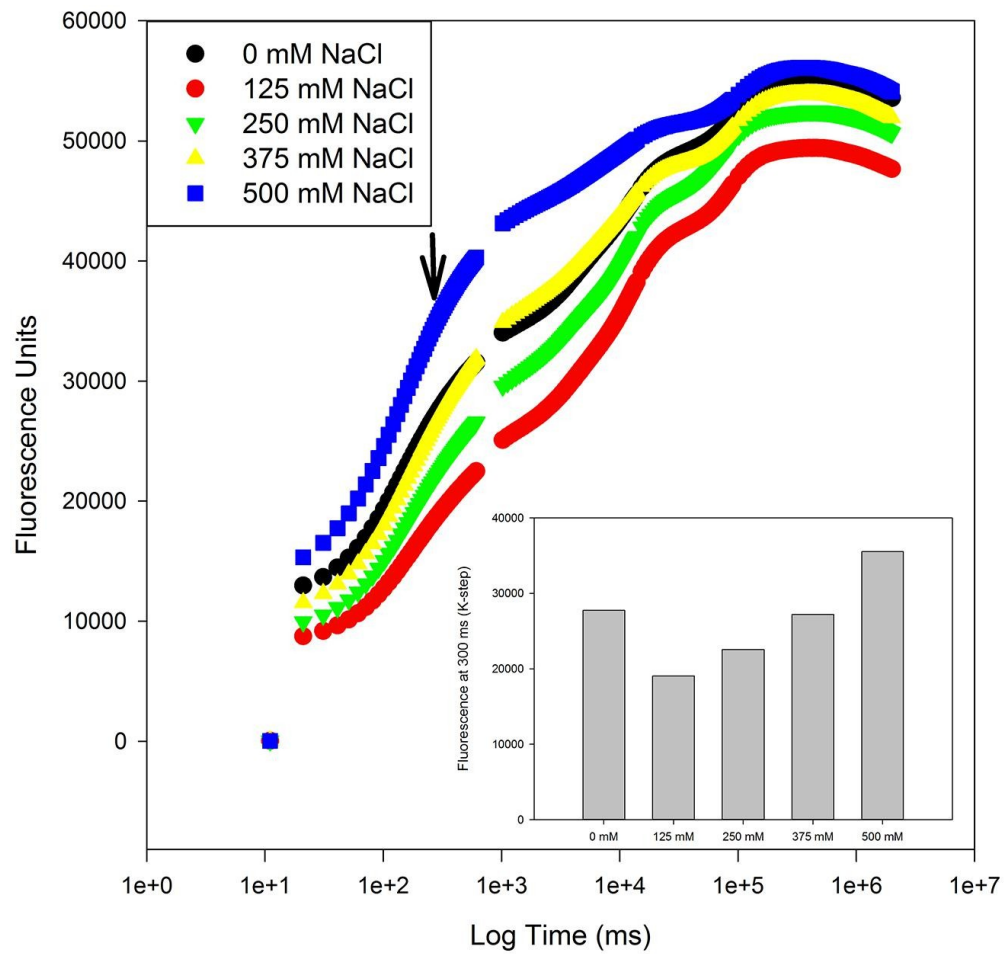
Příklad 1

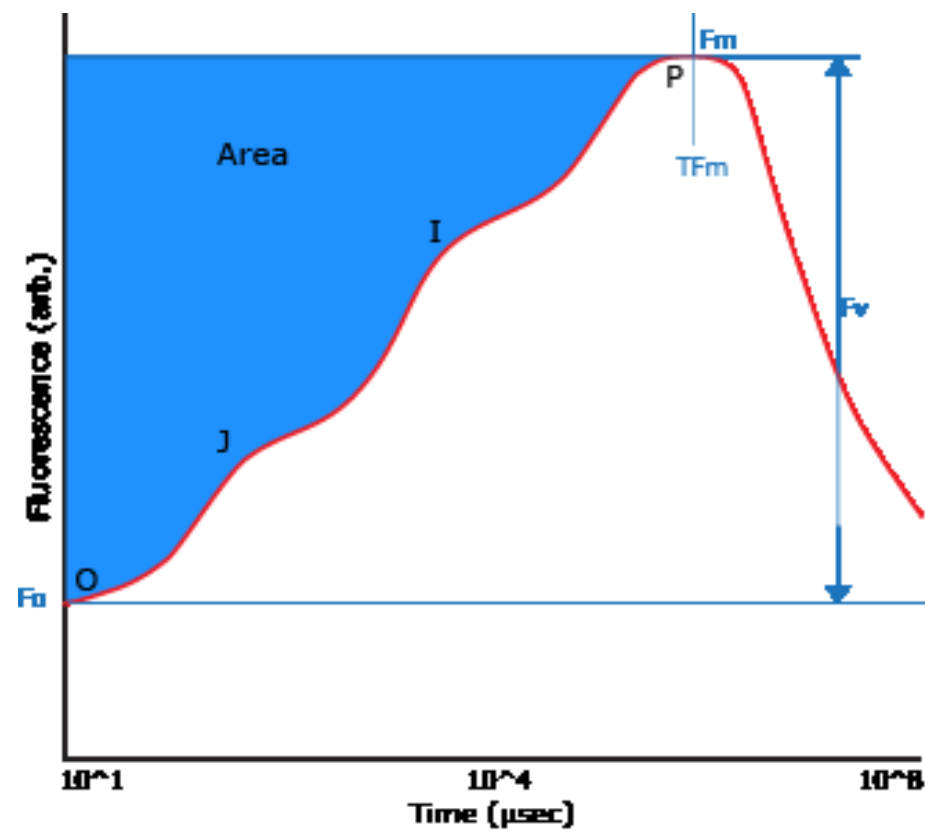
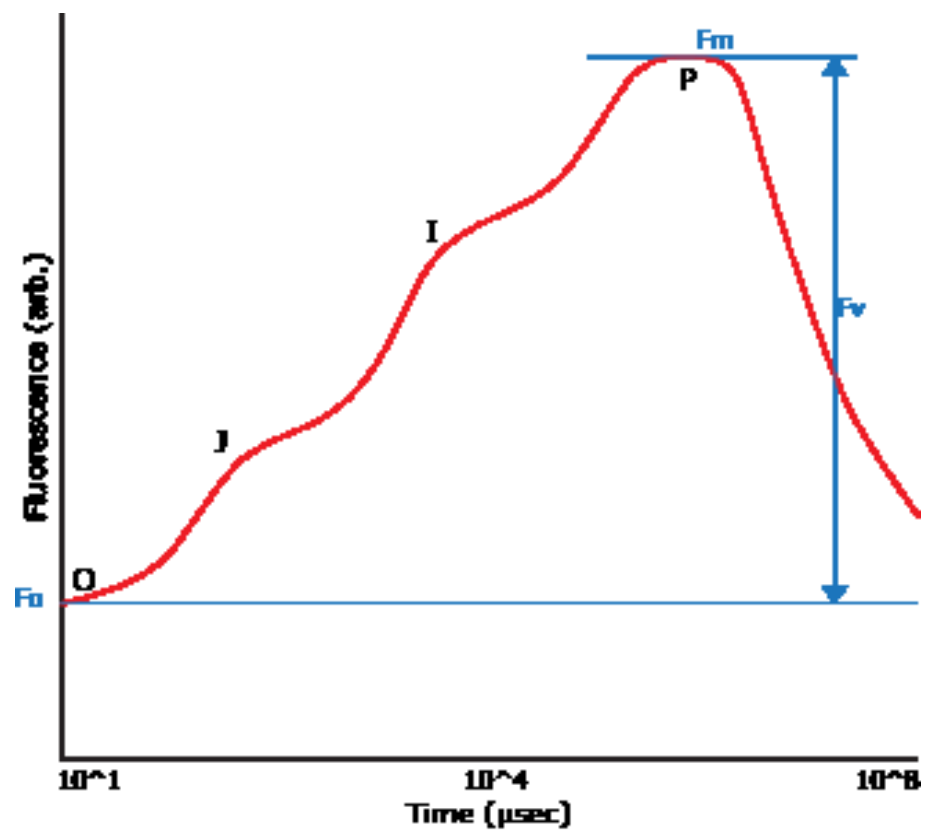
Teplotní křivka fotosyntézy

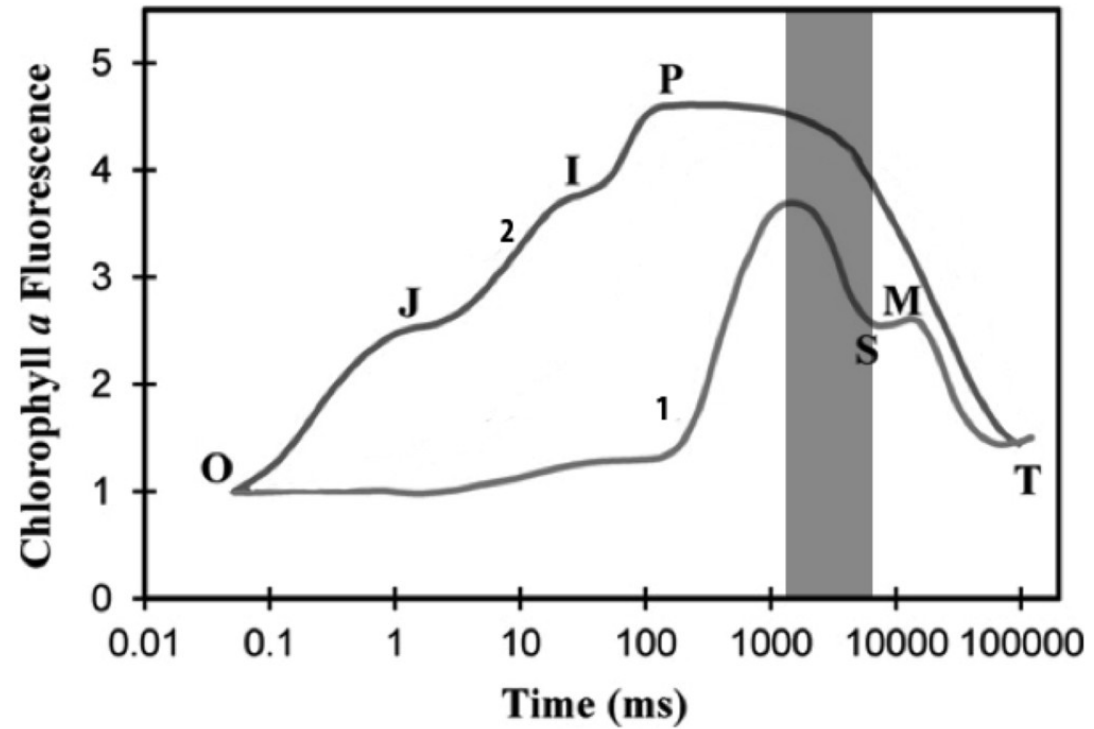
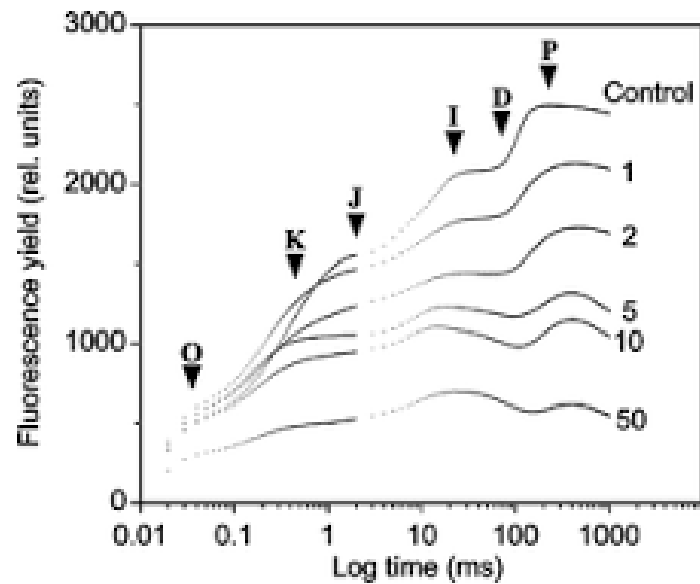
Detekce bodů M1 a M2

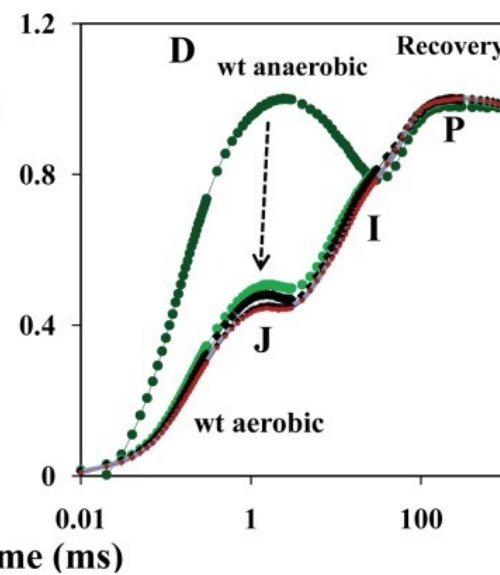
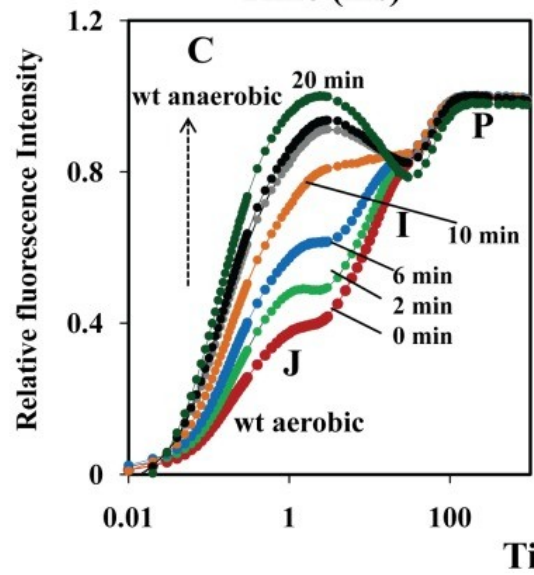
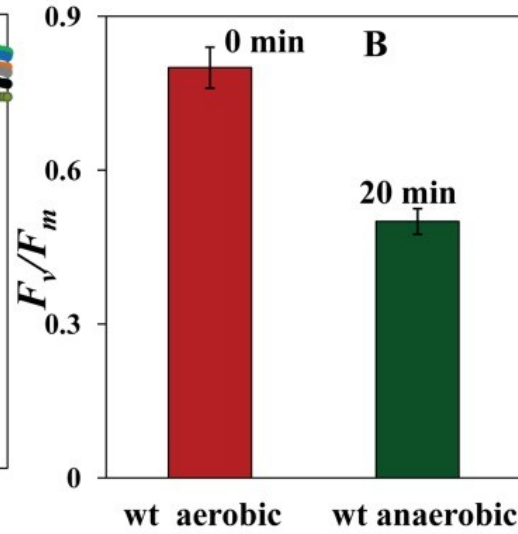
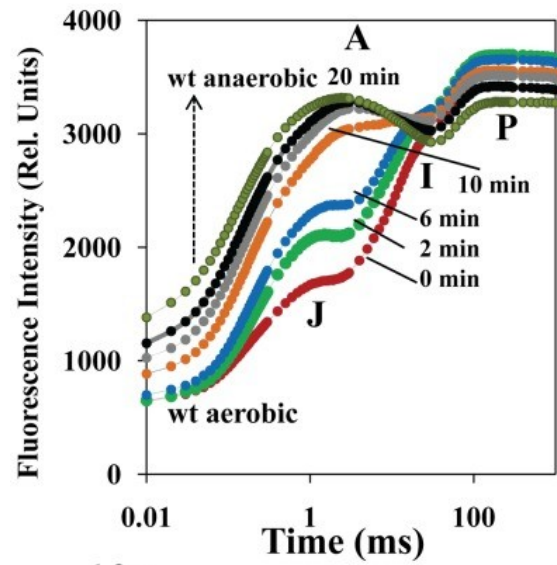
Různé fáze teplotou-indukované destrukce
PSII a thylakoidní membrány chloroplastu









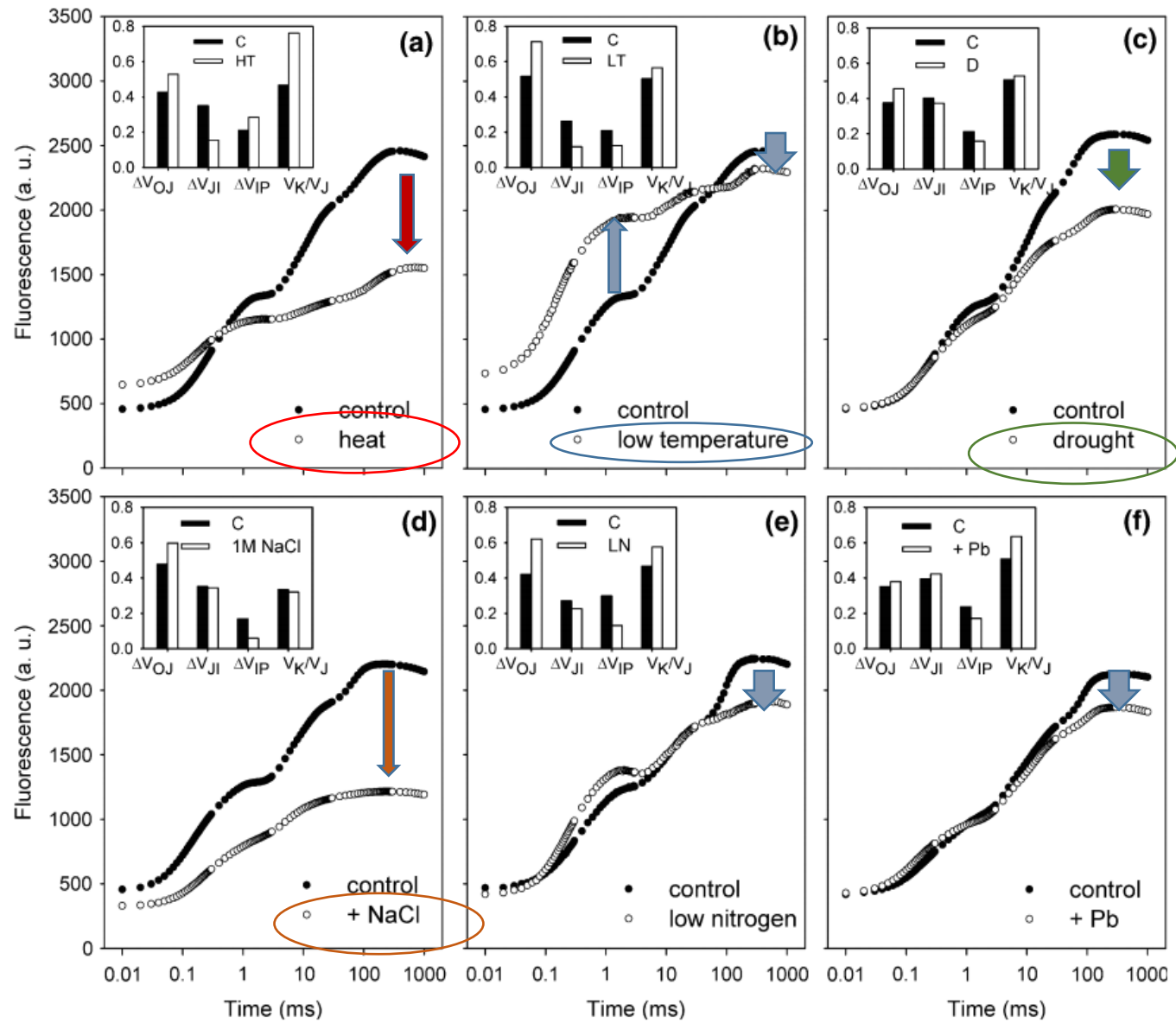


Vliv základních abiotických faktorů na fluorescenci chlorofylu

Detekce stresu pomocí OJIP

Přehledná souborná práce Kalaji et al. (2016)





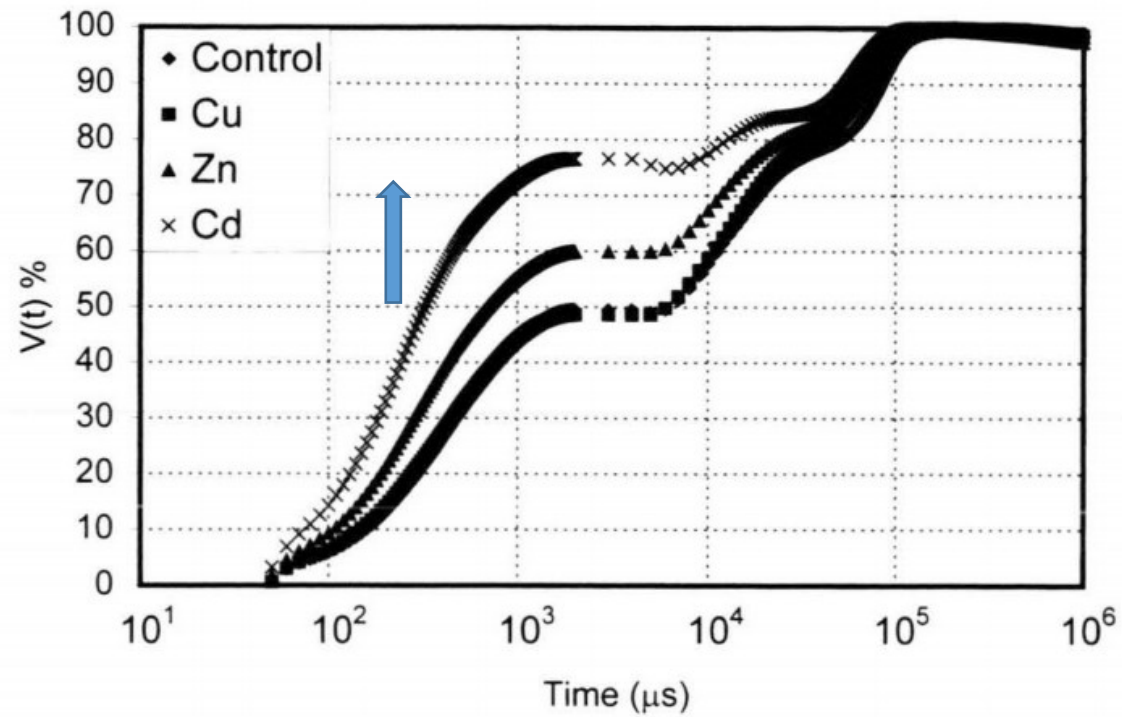
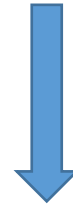
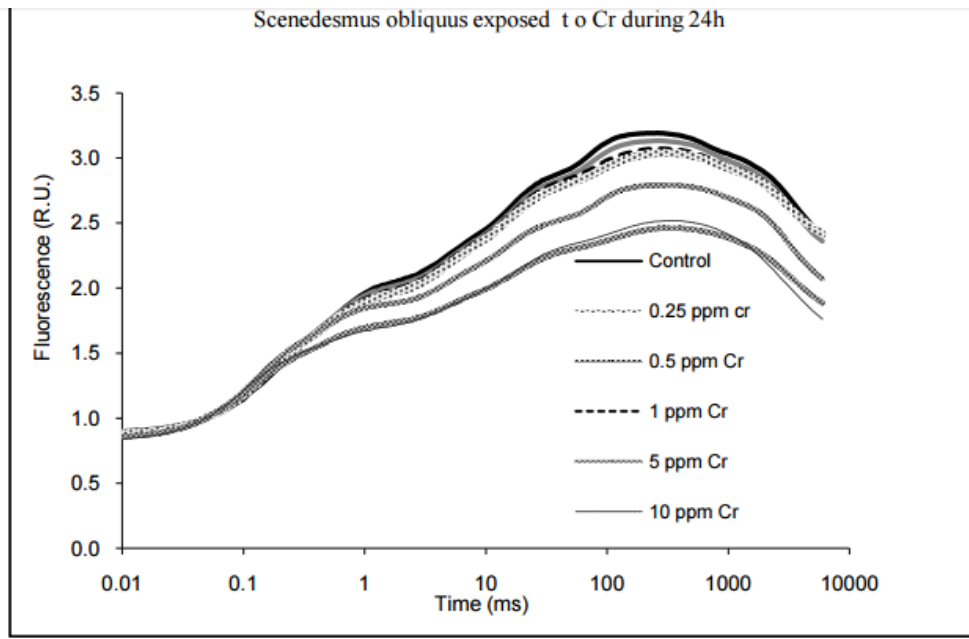


Fig. 2. Kinetics of the net Q_A reduction from bean leaves after 7 days of metal treatment.

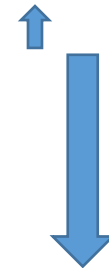
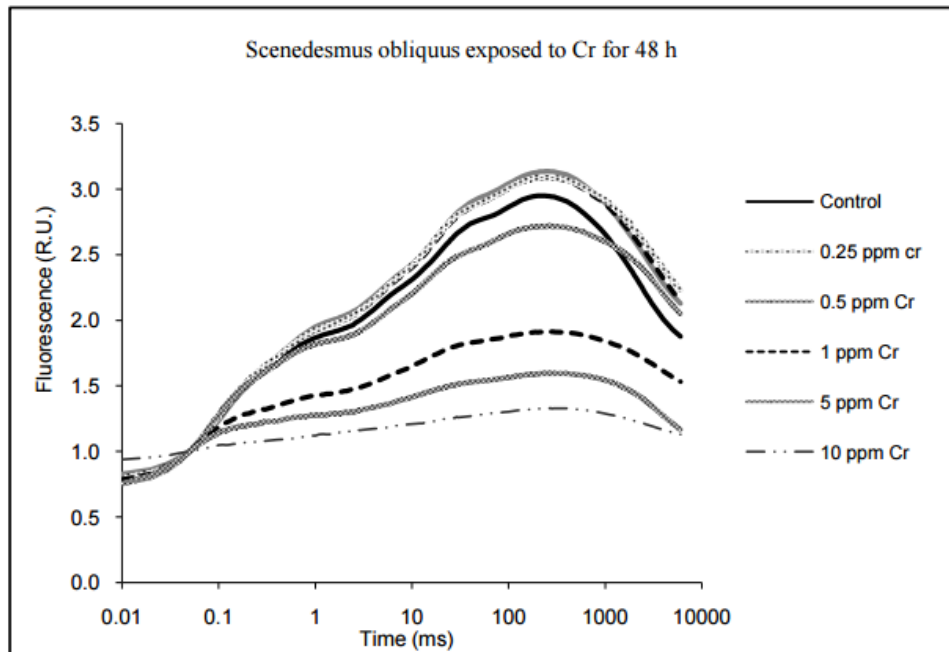




Khalida et al. 2012

Vliv iontů chromu na OJIP (průběh)

Figure 5. Induction of fluorescence affected by different concentrations of chromium after exposure for 24 hours



Pomalá (Kautského) kinetika fluorescence chlorofylu

Doplněná o metodu saturačních pulsů

Saturační pulsy umožňují rozlišit, jaký díl absorbované zářivé energie je spotřebován v procesu fotosyntézy:

qP – fotochemické zhášení fluorescence chlorofylu

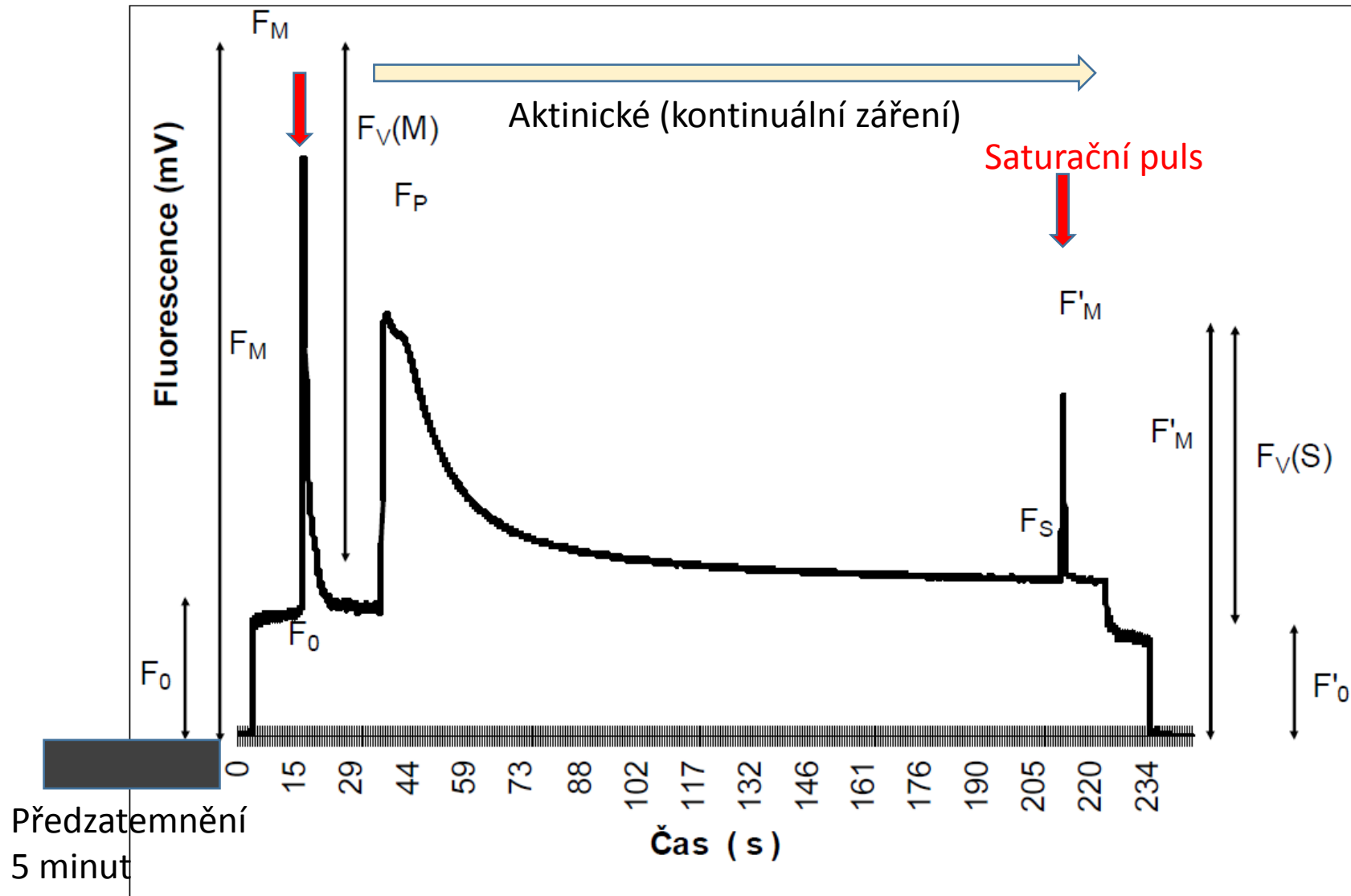
... rovněž také podíl energie spotřebovaný jinak než ve fotosyntéze:

qN – nefotochemické zhášení fluorescence chlorofylu (ochranné mechanismy aktivované při působení stresu)



Saturační puls

KK



Obr. 1. Příklad záznamu Kautského křivky fluorescence chlorofylu se dvěma saturačními pulzy (v čase: 15 s, 210 s). Šipkami jsou vyznačeny základní charakteristiky (hodnoty signálů fluorescence chlorofylu: F_0 , F_M , F_V , F_S , F'_M , F'_0) nezbytné pro výpočet parametrů F_V/F_M , qP , qN , Φ_{II} .



Parametry fluorescence chlorofylu odvozené z pomalé KK doplněné o metodu saturačních pulsů:

KK

Kapacita fotochemických procesů fotosyntézy v PSII

nebo také

Maximální kvantový výtěžek PSII

Fv/Fm

Nebo také

Potenciální kvantový výtěžek fotochemických procesů v PSII

Nebo také

Základní fluorescenční poměr

$$Fv/Fm = (Fm - F_0) / Fm$$

Udává potenciální fotosyntézu ve fotosystému II

Měří se na předzatemněném materiálu aplikací saturačního pulsu



Parametry fluorescence chlorofylu odvozené z pomalé KK doplněné o metodu saturačních pulsů:

KK

Efektivní kvantový výtěžek fotochemických procesů fotosyntézy ve fotosystému II

nebo také

Yield of PSII

Φ_{PSII}

$$\Phi_{PSII} = (Fm' - Fs) / Fm'$$

Udává aktuální rychlost fotochemických procesů fotosyntézy

Měří se na vzorku adaptovaném na světlo (5 min). Hovoříme o Rovnovážném stavu (*steady state chlorophyll fluorescence*)



Parametry fluorescence chlorofylu odvozené z pomalé KK doplněné o metodu saturačních pulsů:

Nefotochemické zhášení (qN) je tvořeno třemi základními součástmi podle charakteru fyziologického procesu, který se ve fotosyntetickém aparátu uplatňuje:

qE energetické zhášení fluorescence (závislé na pH gradientu)

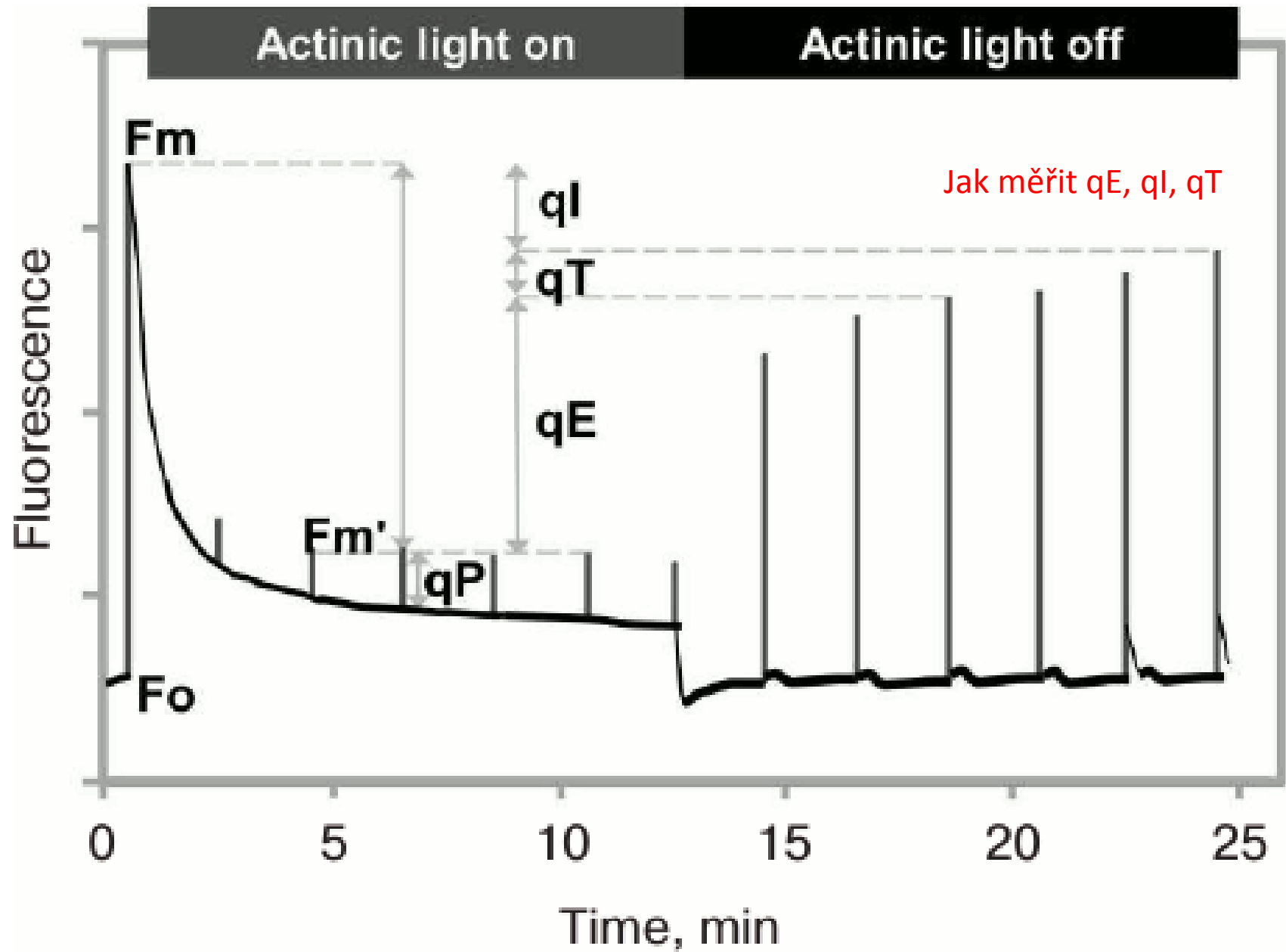
qT zhášení způsobené odpojením LHC II (fosforylací) a jejich přesunem od PS II k PS I

qI fotoinhibiční zhášení fluorescence (působené radiačním stresem)

Pro stanovení těchto součástí je nezbytné vystavit rostlinný materiál saturačním pulsům, a to s využitím speciálního postupu

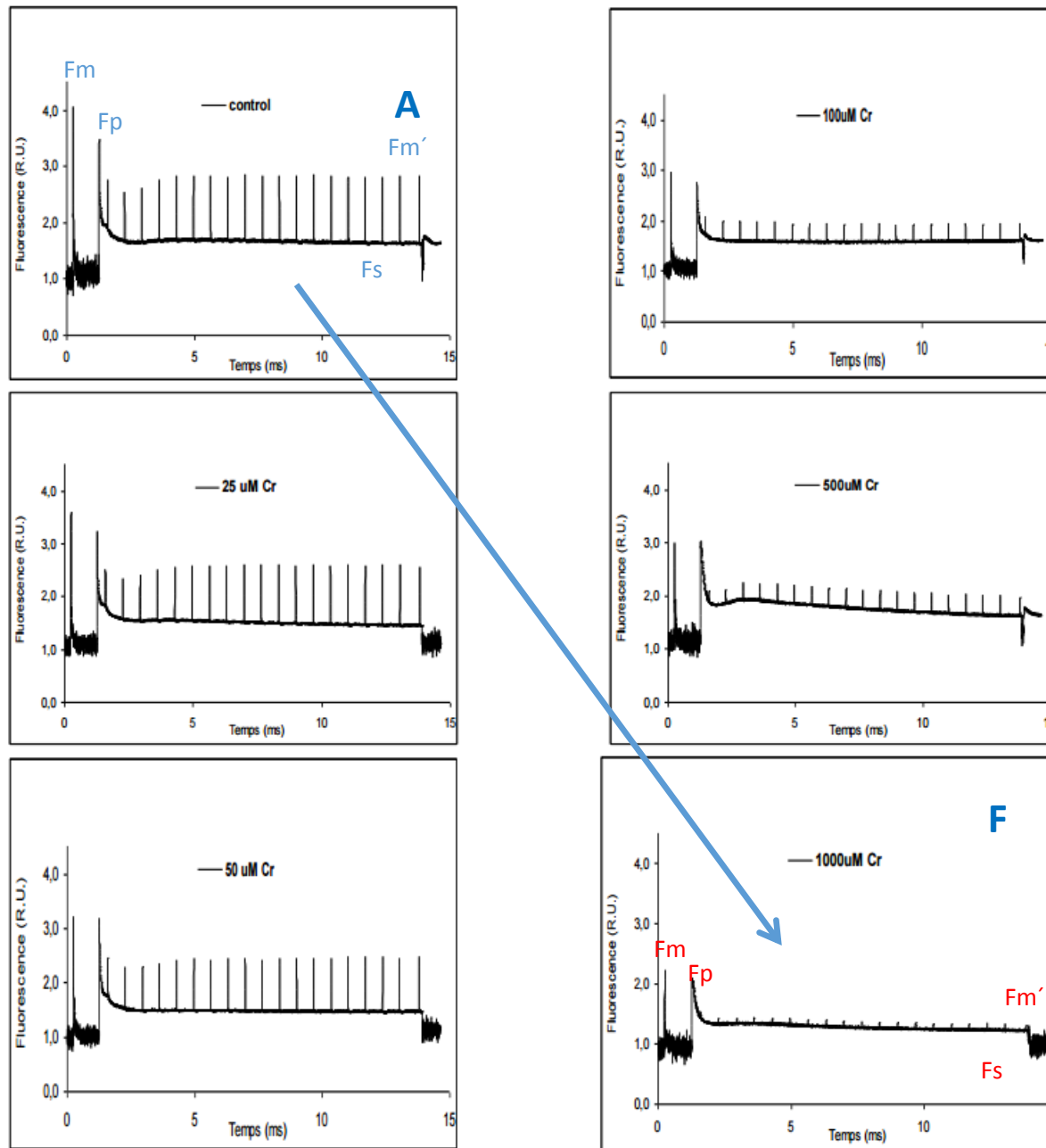
$$qN = qE + qT + qI$$





Khalida et al. 2012

Vliv iontů chromu na Průběh KK u *Scenedesmus obliquus*



Nalezněte a zaznamenejte si (sami) vliv Cr na:

- (1) Fm a Fm'
- (2) Fs
- (3) Fp

(4) Porovnejte Obr. A a F

Figure 9. Kinetics of modulated fluorescence of *Scenedesmus obliquus* treated by the Chromium exposure of 24 hours, obtained by using a PAM Fluorometer



Toto je úplný základ

Následují přednášky 2-12

Bi5880 Pokročilé metody indukované fluorescence chlorofylu

