

# Stanovení rychlosti čisté fotosyntézy gazometricky

## Princip:

Fotosyntézu můžeme zjednodušeně definovat jako proces probíhající v zelených rostlinách, který převádí asimilačními pigmenty absorbovanou část energie dopadajícího slunečního záření, spolu s  $\text{CO}_2$  a  $\text{H}_2\text{O}$ , do energie chemických vazeb biochemických produktů fotosyntézy (ATP, NADPH, sacharidy). Jde o fixaci vzdušného oxidu uhličitého rostlinami a vznik sacharidů (sacharózy, škrobu apod.). Metody měření fotosyntézy můžeme rozdělit do několika skupin. Následující výčet metod je v chronologickém sledu od metod nejstarších po nejmodernější.

Gravimetrické metody	Fotosyntéza je měřena jako přírůstek hmotnosti fotosyntetizujícího objektu (hromadícího se asimilačního škrobu)
Manometrické a voluntometrické metody	Měření změn tlaku a objemu sorbentu (látky napojené na komoru, v níž je uzavřen fotosyntetizující objekt). Warburgův respirometr.
Gazometrické metody	Infračervené analyzátory plynů ( $\text{CO}_2$ , $\text{H}_2\text{O}$ ) napojené na komoru, v níž je uzavřen fotosyntetizující objekt).
Oxymetrické metody	Clarkova kyslíková elektroda, stanovení koncentrace kyslíku v kapalném vzorku
Fluorometrické metody	Fluorometry, přístroje měřící indukovanou fluorescenci molekul chlorofylu

Podrobněji se zmíníme o **gazometrických metodách**, které jsou předmětem tohoto cvičení. Gazometrické metody jsou založeny na principu měření rychlosti spotřeby  $\text{CO}_2$  rostlinami. Zjednodušeně lze říci, že pomocí těchto metod měříme pokles koncentrace  $\text{CO}_2$  v okolí rostliny vyvolaný fotosyntetickou fixací molekul  $\text{CO}_2$ . Podle uspořádání měřící aparatury, zejména zapojení infračerveného analyzátoru plynů (IRGA) do měřícího systému, rozlišujeme gazometrické metody:

- uzavřené (cirkulačního typu)
- otevřené (průtočného typu)

## Pomůcky:

### Rostlinný materiál:

rostliny slunečnice (*Helianthus annuus*) pěstované za různých světelných podmínek (světlo, stín),

rostliny kukuřice z kultivačního experimentu

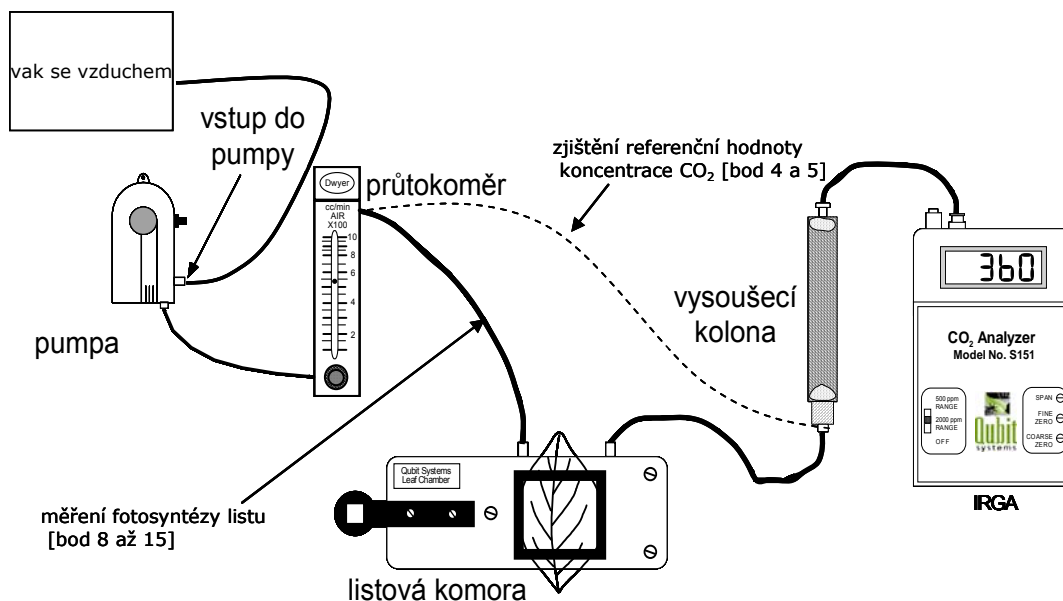
### Technické součásti měřící aparatury:

- infračervený analyzátor  $\text{CO}_2$  (Qubit Systems, Kanada)
- trubicový průtokoměr (rotametr)
- sensor fotosynteticky aktivního záření Li-1400 (Li-Cor, USA)
- pumpa
- 2 plastové vaky naplněné vzduchem (zdroj  $\text{CO}_2$  o konst. koncentraci)
- zdroj záření (světlo emitující diody - LED)
- listová komora
- stolní scanner/mřížka pro stanovení velikosti listové plochy

## Experiment: Změny rychlosti fotosyntézy rostliny v závislosti na ozáření (světelná křivka fotosyntézy)

### Postup:

1) Propojte součásti systému podle následujícího schématu:



2) Seřídte průtokoměr na tok 0.5 l/min (POZOR: max. průtok při připojeném IRGA nesmí překročit 0.6 l/min)

3) Zapněte infračervený analyzátor plynů (IRGA) a počkejte než zmizí „1“ z displeje a objeví se hodnoty CO<sub>2</sub> v jednotkách ppm.

4) Připojte sáček s laboratorním vzduchem ke vstupu do pumpy, výstup pumpy vede do spodní části průtokoměru. Výstup z průtokoměru připojte k vysoušecí koloně.

5) Připojte výstup z vysoušecí kolony do vstupu na IRGA. Koncentrace CO<sub>2</sub> na displeji je vaše „referenční koncentrace CO<sub>2</sub>“.

6) Umístněte do listové komory list a těsně ho tam uzavřete (svrchní a spodní těsnění musí na sebe doléhat po celém obvodu).

7) Listová komora má čtyři otvory ve dvou párech. Každý pár se skládá z otvoru ve vrchní straně komory a otvoru přímo pod ním. Tyto otvory rozvádějí vzduch na vrchní a spodní stranu listu. Každý pár otvorů musí být propojen pomocí umělohmotných trubiček, které jsou připojeny „Y“ konektorem k jedné trubičce.

8) Odpojte výstup průtokoměru z vysoušecí kolony a připojte ho k trubičce spojené s listovou komorou. Tato trubička je vstupem do komory s listem. Připojte druhou trubičku z listové komory ke vstupu vysoušecí kolony.

9) Připojte výstup z vysoušecí kolony ke vstupu do IRGA.

10) Zapněte světelný zdroj na maximum.

11) Pozorujte pokles koncentrace CO<sub>2</sub> ve vzduchu vycházejícím z listové komory.

12) Vyčkejte dosažení rovnovážné hodnoty CO<sub>2</sub> (asi 10 min).

13) Zaznamenejte hodnotu rovnovážné koncentrace CO<sub>2</sub>.

14) Snižte intenzitu světla na 80%. Opakujte body 12 a 13.

15) Snižujte postupně intenzitu světla na 60, 40, 20 a 10% a odečítejte hodnoty rovnovážné koncentrace CO<sub>2</sub>.

Pro každou ozářenost vyplňte do výsledkové tabulky následující údaje:

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

Výpočet rychlosti čisté fotosyntézy:

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:

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

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

#### **Prezentace získaných dat (součást protokolu v části "Výsledky")**

1. Výsledková měřicí tabulka ve formě uvedené výše.
2. Graf závislosti P<sub>N</sub> na PPFD (graf typu XY, body zjištěné závislosti proložené křivkou)

#### **Diskuze získaných dat (součást protokolu v části "Závěr")**

- Z vámi získaného grafu (světelné křivky fotosyntézy) stanovte (graficky nebo regresí) hodnotu kompenzační ozářenosti (I<sub>c</sub>), hodnotu temnotní respirace (R<sub>d</sub>) a hodnotu maximální rychlosti čisté fotosyntézy (P<sub>Nmax</sub>) pro měřené rostlinky a porovnejte varianty.