



2004-2006 m. Bendrojo programavimo dokumento 2 prioriteto „Žmogiškųjų išteklių plėtra“ 4 priemonė „Mokymosi visą gyvenimą sąlygų plėtra“

Projekto sutarties numeris: ESF/2004/2.4.0-K01-160/SUT-261

Projekto pavadinimas: **Inovatyvūs mokymosi metodai ir naujausios technologijos gamtos mokslų bakalauro rengimui**

BIO 221. AUGALŲ SISTEMATIKA IR FIZIOLOGIJA

Laboratorinis darbas

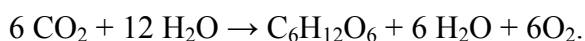
Anglies dioksido kiekio ir šviesos intensyvumo poveikis fotosintezės eigai

Teorinė dalis

Fotosintezė – svarbiausia cheminė reakcija Žemėje. Todėl pastaruoju metu ypač daug dėmesio skiriama globalinio klimato atšilimo poveikio fotosintezei problemai. Paskutiniai skaičiavimai rodo, kad CO₂ kiekiui atmosferoje padvigubėjus, vidutinė pasaulio temperatūra gali pakilti nuo 2 iki 5 °C (Hardy, 2003). Daugumoje emisijų scenarijų numatoma, kad 2100 metais CO₂ koncentracija atmosferoje bus nuo 540 iki 970 ppm (IPCC, 2001). Šiai temai skirti du laboratoriniai darbai. Pirmajame bendrai susipažinsime su fotosinteze, išsiaiškinsime, kaip jos intensyvumą veikia tokie veiksniai kaip anglies dioksido kiekis ore, šviesa. Antrajame detaliau panagrinėsime vieną klimato kaitos scenarijų, kaip keičiasi fotosintezės intensyvumas skirtinguose augaluose.

Žalieji augalai – tai ypatinga Žemės organizmų grupė, įsisavinanti energiją, kurią spinduliuoja Saulė. Žmogus, gyvūnai, grybai ir bakterijos saulės spindulių energijos tiesiogiai panaudoti negali. Patikimi šviesos energijos transformatoriai yra chlorofilo turinčios ląstelės.

Taigi fotosintezė – svarbiausia cheminė reakcija Žemėje. Tai organinių junginių sintezė iš anglies dioksido ir vandens. Ji vyksta šviesoje, chlorofilo turinčiuose audiniuose pagal šią suminę lygtį (Borusas, 1991):



Fotosintezę atlieka žaliosios plastidės – chloroplastai, o svarbiausias augalų fotosintezės organas – lapas. Jis yra gerai prisitaikęs atlikti šias funkcijas. Iš viršaus ir apačios jį dengia epidermis su vandeniui ir dujoms beveik nelaidžia kutikula, tai oras, kartu ir CO₂, į lapo vidų patenka pro žioteles (Borusas, 1991).

Fotosintezė vyksta dviem etapais. Pirmoji reakcijų grandinė vadinama nuo šviesos priklausančiomis reakcijomis, nes jos negali vykti be šviesos ir nepriklauso nuo temperatūros. Jos metu sugerama saulės šviesos energija. Antroji reakcijų grandinė vadinama nuo šviesos nepriklausančiomis reakcijomis, nes jos gali vykti ir be šviesos. Šio proceso metu sintetinami angliavandeniai (Mader, 1999).

Kad vyktų nuo šviesos priklausančios reakcijos, turi būti dvi šviesą sugeriančios sistemos, vadinamos fotosistema I (FS I) ir fotosistema II (FS II). Fotosistemoje šviesą sugerianti „antena“ saulės energiją kaupia reakcinio centro chlorofilo a molekulėje, iš kurios atsipalaidavę daug energijos turintys elektronai juda link elektronų akceptorius molekulės (Mader, 1999).

Elektronų ciklinės pernašos grandinės reakcijose, elektronams judant iš FS I atgal į FS II, susidaro tik ATP. Tuo tarpu neciklinės pernašos reakcijų metu suskyla vandens molekulės ir susidaro H⁺, e⁻ ir O₂; susidaro ATP, o NADP⁺ paverčiamas į NADPH.

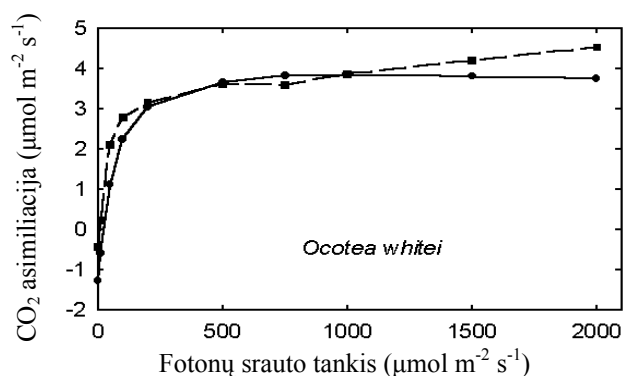
Fotosintezės antrosios fazės reakcijos vyksta, kai augalo lapo ląstelės turi CO₂ bei nuo šviesos priklausančių reakcijų fazėje susidariusių ATP ir NADPH, kurie naudojami anglies dioksidui redukuoti. Vykstant reakcijoms iš aplinkos absorbuotas CO₂ jungiasi su specifiniu akceptoriumi, kuris po sudėtingų kitimų virsta pagrindiniu produktu - heksoze. Įvairūs augalai anglį asimiliuoja skirtingai. Dabar žinomi trys jos asimiliavimo keliai – C₃, C₄ ir CAM (Borusas, 1991).

Fotosintezės intensyvumą galima reguliuoti terminiu režimu, anglies dioksido koncentracija, šviesos kiekiu, optimizuojant tręšimą ir augalų aprūpinimą vandeniu.

Anglies dioksidas yra labai svarbus elementas augalų augimui. Jau ilgą laiką žemės ūkyje seniai naudojamas papildomas tręšimas anglies dioksidu šiltnamyje auginamoms kultūroms, siekiant, kad jos duotų gausenį derlių.

CO₂ atmosferoje yra apie 0,5 g/m³, ir dėl vis aktyvėjančios žmogau veiklos, kaip jau buvo minėta, kasmet jo dar padaugėja. Nors augalai prisitaikę prie tokios CO₂ koncentracijos, ištirta, kad ji augalams greičiau yra tik minimali negu optimali. Todėl CO₂ koncentracijai didėjant, taip pat intensyvėja fotosintezė ir didėja augalų derlius. Fotosintezė

prasideda, kai aplinkoje yra 0,008 – 0,01 % CO₂, o intensyviausiai ji vyksta, kai CO₂ koncentracija būna 0,2 -0,3 %. Dėl to anglies dioksidas naudojamas kaip oro trąša šiltnamiuose, kur diena augalams jo labai trūksta (Borusas, 1991).



1 pav. CO₂ asimiliavimo priklausomybė nuo apšviestumo

Apšviestumas. Fotosintezės intensyvumas priklauso nuo šviesos kiekio ir jos spektro. Šviesos energija plinta atskiromis porcijomis – kvantais. Kvantų energija skirtinga ir mažėja nuo mėlynai violetinės iki raudonosios spektro dalies (Stašauskaitė, 1999).

Fotosintezės reakcijos prasideda, kai apšviestumas būna vos 15-20 liuksų. Jam didėjant fotosintezės intensyvumas taip pat didėja, tačiau tiesinis proporcingumas tarp šių rodiklių yra tik iš pradžių. Apšviestumui didėjant, fotosintezės intensyvumas didėja, bet lėčiau. Pagaliau pasiekama riba, kai, didinant apšviestumą, fotosintezė nebedidėja (1 pav.). Įvairių augalų ši riba skiriasi: vienu fotosintezės intensyvumas nustoja didėti, kai apšviestumas dar yra palyginti silpnas, kitų – tik tada, kai jis stiprus (Borusas, 1991).

Temperatūra. Kylant temperatūrai, fotosintezės intensyvumas didėja, tačiau tik tol, kol temperatūra pasiekia 25-30 °C. Toliau keliant temperatūrą, fotosintezės intensyvumas pradeda mažėti (Borusas, 1991).

Vertinant fotosintezės priklausomybę nuo temperatūros, atsimintina, kad augalo lapų temperatūra skiriasi nuo aplinkos temperatūros. Tas skirtumas yra nepastovus, nuolat kinta ir priklauso nuo daugelio priežasčių – apšviestumo, spindulių kritimo kampo, transpiracijos intensyvumo, pigmentų kiekio lapuose (Borusas, 1991). Įvairių sistemtinių grupių ir klimato zonų augalai į temperatūrą reaguoja nevienodai. Vidutinės klimato juostos augalai intensyviausiai atlieka fotosintezę 25-30 °C, šiaurės kraštų augalai - 8-15 °C.

Darbo tikslas: išsiaiškinti fotosintezės intensyvumo priklausomybę nuo svarbiausių aplinkos veiksnių: apšviestumo ir anglies dioksido kiekio ore.

Darbo priemonės: nešiojamas fotosintezės įrenginys LI-6400 (2 pav.); kelios pasirinktos augalų rūšys.

CO₂ asimiliavimo greitis lape (fotosintezės intensyvumas) apskaičiuojamas pagal 1 formulę:

$$A = \frac{F(C_r - C_s)}{100S} - C_s E, \quad (1)$$

A – CO₂ asimilavimo greitis (net assimilation rate) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$);

F – oro srauto greitis ($\mu\text{mol s}^{-1}$);

C_r – CO₂ koncentracija bandinio (sample IRGA) kameroje;

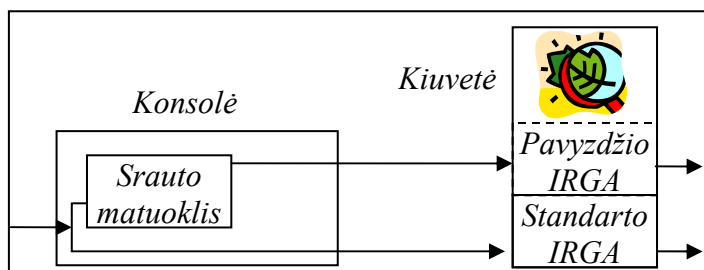
C_r – CO₂ koncentracija standarto (reference IRGA) kameroje;

S – lapo plotas (cm^2);

E – transpiracijos greitis ($\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$).



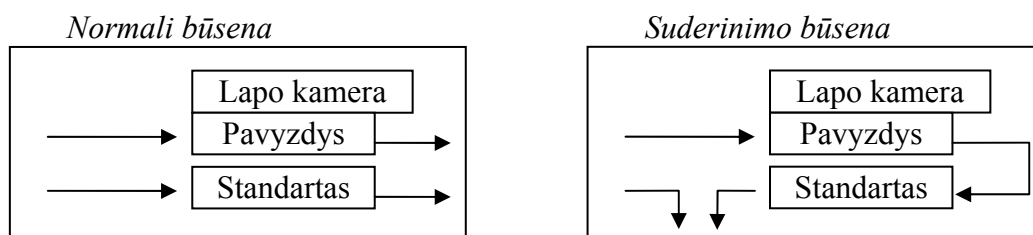
2 pav. Nešiojamas fotosintezės įrenginys LI-6400



$$\text{Fotosintezė} = \frac{\text{Srautas} \times \Delta\text{CO}_2}{\text{Plotas}} \quad \text{Transpiracija} = \frac{\text{Srautas} \times \Delta\text{H}_2\text{O}}{\text{Plotas}}$$

3 pav. Fotosintezė apskaičiuojama pagal CO₂ koncentracijos skirtumus pavyzdžio ir standarto kameroje

Trečiame paveiksle schematiškai pavaizduotas fotosintezės įrenginys (3 pav). Oras teka per abi kameras, tačiau vienoje jų yra lapas (pavyzdžio kamera), dėl ko pasikeičia įeinančio oro savybės, ir pagal skirtumus nuo standartinės kameros apskaičiuojami įvairūs rodmenys. Todėl atliekant bandymą, smarkiai pasikeitus aplinkos veiksniams (temperatūrai, CO₂ koncentracijai), arba esant mažam fotosintezės intensyvumui, būtina atlikti suderinimo procedūrą (*Match mode; f5 lygis 1; 4 ir 5 pav.*), kad rodmenys būtų tikslūs. Tuomet tas pats oras perleidžiamas per abi kameras, koncentracijos susilygina (4 pav.). **Svarbu:** atliekant šią procedūrą CO₂ ir H₂O parodymai ekrane (pavyzdžio) turi būti pastovūs (A eilutė ekrane *CO2S_μml, H2OS_mml*).



4 pav. „Mach Mode“ metu oras iš pavyzdžio kameros eina į standarto kamara, taip, susilyginant CO₂ ir H₂O koncentracijoms, abi kameros suderinamos, nekeičiant sąlygų lapo kameroje

Taip pat svarbu teisingai nusistatyti lapo plotą, bei žiotelių santykį (esančių viršutinėje ir apatinėje lapo pusėje). Jį galite nusistatyti naudodami funkcinis klavišus (*f1 lygis 3*). Jei lapas užpildo visą kamara, tuomet lapo plotas bus lygus kameros plotui, t.y. 6 cm². Žiotelių santykis bus lygus 1, jei abiejose lapo pusėse žiotelių skaičius vienodas, 0 jei žiotelės yra tik vienoje lapo pusėje. Jei nesate tikri rašykite 0,5 (*f2 lygis 3*).

1	Įrašymo kontrolė; suderinimas	Open LogFile	<view file>	<close file>	<add remark>	Match
2	Aplinkos kontrolės valdymas	<rspns>	Flow= 500µms	Mixer OFF	Temp OFF	Lamp= OFF
3	Kameros ventiliatoriaus valdymas; sistemos konstantos	AREA= 6.00	STCMRT= 1.00	LeafFar Fast	Prompts* off	Prompt* All
4	Realaus laiko grafikų kontrolė		GRAPH QuikPik	View Graph	GRAPH Setup	
5	Autoprogramų kontrolė	AUTO PROG		Log Options	Define Stabltly	Define Log Btn
6	Teksto rodymo kontrolė	Display QuikPik	Display List	What's What	Display Editor	Diag Mode
7						

5 pav. Funkcinių klavišų pavadinimai 1-6 eilutėse.

Visi rodmenys automatiškai įrašomi ir saugomi įrenginyje. Prijungus jį prie kompiuterio, duomenis galima persirašyti ir analizuoti naudojantis įvairiomis programomis.

Darbo planas. Pirmieji bandymais skirti pavaizduoti fotosintezės, žiotelių laidumo ir C_i (CO_2 koncentracija ląstelėje) priklausomybę nuo šviesos (apšviestumą galie sumažinti pridengdami lapo kamerą paprasčiausiai ranka). Antrojo bandymo metu bus pademonstruota fotosintezės priklausomybė nuo CO_2 koncentracijos ore (keičiant CO_2 koncentraciją pavyzdžio kameroje).

Kadangi šiems bandymams reikia ilgesnį laiką laikyti prispaustą lapą, lapo kamerą pritvirtinkite ant trikojo.

Darbo eiga

Apšviestumo kitimas

Nusistatykite kontrolines sąlygas. Oro srovė: palaikykite pastovų oro drėgnumą (nustatykite oro srovės stiprumą $400 \mu mol s^{-1}$ ir stebėkite $H_2O S_mml$ parodymus, pagal juos nustatykite pastovų oro drėgnumą). CO_2 : nustatykite, kad palaikytų pastovią, šiek tiek aukštesnę negu aplinkos, CO_2 koncentraciją standarto kameroje ($CO_2R_ \mu ml$ nustatykite $400 \mu mol mol^{-1}$). Palaikykite pastovią esamą temperatūrą.

Prispauskite lapą

Įsijunkite realaus laiko grafikus. Nusistatykite, kad vienu metu galėtumėte stebėti fotosintezę, žiotelių laidumą (conductance) ir C_i .

Trumpalaikio šešėlio imitavimas. Stebėkite minėtų rodmenų parodymus realaus laiko grafikuose. Kai jie pasidarys maždaug horizontalūs (tai rodo stabilumą), sumažinkite apšviestumą 80 % 20-30 sekundžių. Stebėkite, kaip dėl tokio trumpalaikio ir staigaus šviesos kiekio sumažėjimo pasikeičia fotosintezės intensyvumas, laidumas, C_i .

Ilgalaikio šešėlio imitavimas. Vėl sumažinkite apšviestumą 80 % tačiau ilgesniam laikui – 2 minutėms, tuomet vėl gražinkite pradines sąlygas. Ar šio laiko užteko, kad žiotelės pradėtų reaguoti? Atsakykite, kodėl žiotelių laidumas sumažėja, kai šviesos kiekis sumažėja, ir kas lemia, koku lygiu žiotelės užsidaro.

Apšviesti ir pavėsyje esantys lapai

Pasiruoškite. Prispauskite saulės apšviestą lapą lapo kameroje. Oro srovės srautą nustatykite $400 \mu\text{mol s}^{-1}$ (*Flow 400*) ir CO_2 koncentraciją pavyzdžio kameroje (*reference cell*) $350 \mu\text{mol mol}^{-1}$. Atlikite suderinimo procedūrą (*Match mode*), kai sistema pasieks stabilią būseną.

Susikurkite naują failą, į kurį įrašysite bandymo duomenis (*fl lygis1*).

Išmatuokite 5 apšviestus lapus

Suspauskite kitą lapą, palaukite kol fotosintezės ir laidumo rodmenys stabilizuosis. Paprastai užtenka 1 minutės. Tuomet paspauskite LOG (*fl lygis 1*), arba įrašyti rodmenys galite 1 sekunde paspaudę mygtuką ant kameros rankenos. Analogiškai išmatuokite likusius lapus.

Būkite atsargūs, kad neuždengtumėte apšviestų lapų. Pasistenkite pasirinkti lapą, kuris apšviečiamas tiesiai. Kad nereikėtų pakreipti lapo, norint kad lapo kamera nesudarytų šešėlio, tuomet jūs staiga padidintumėte apšviestumą (šviesos intensyvumas priklauso nuo spindulių kritimo kampo).

Išmatuokite 5 pavėsyje esančius lapus

Pasirinkite lapus, kurie buvo pavėsyje pakankamai ilgą laiką. Išmatuokite jų fotosintezės intensyvumą.

CO_2 poveikio kreivė

Nusistatykite kontrolines sąlygas. Palaikykite pastovų oro drėgnumą bei pastovią CO₂ koncentraciją standarto kameroje. Palaikykite pastovią esamą temperatūrą. Palaikykite pastovų apšviestumą, kadangi šis eksperimentas yra bevertis, jei kinta šviesos kiekis.

Susikurkite naują failą, į kurį įrašysite bandymo duomenis.

Įrašykite parodymus. Kai fotosintezės ir drėgnumo rodmenys stabilizuosis, paspauskite įrašymo mygtuką (*Log*).

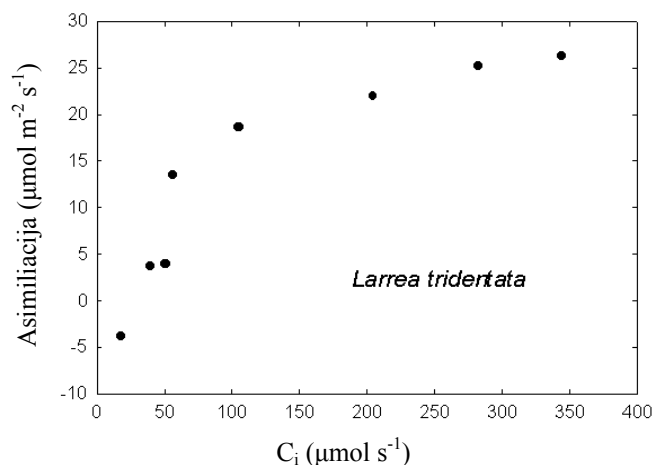
Kitos CO₂ vertės. Sumažinkite CO₂ koncentraciją standarto kameroje 100 μmol mol⁻¹. Naudokite šias CO₂ koncentracijas standarto kameroje: 400, 300, 200, 100, 30, 400, 600, 800, 1000.

Kaip matote, pakeitus CO₂ koncentraciją, fotosintezės parodymai tampa nepastovūs, todėl palaukite kelias minutes, kol rodmenys stabilizuosis. Tuomet atlikite suderinimo procedūrą (angl. k. *Match mode*). Atliekant šią procedūrą CO₂ ir H₂O parodymai ekrane turi būti pastovūs (A eilutė ekrane). Tuomet vėl įrašykite rodmenis. Atlikite šiuos veiksmus su visomis pateiktomis CO₂ koncentracijomis. Nelaikykite per ilgai lapo su mažiausia CO₂ koncentracija, nes tuomet ilgai užtruks, kol fotosintezė vėl grįš į normalią būseną.

Rezultatų tvarkymas bei klausimai savarankiškam darbui

Kokios medžiagos dalyvauja fotosintezėje? Kaip galima paskatinti fotosintezės intensyvumą? Kokioje šviesos spektro dalyje fotosintezė intensyviausia ir kodėl?

Aprašykite, kaip kito fotosintezės intensyvumas, laidumas, C_i keičiantis šviesos intensyvumui. Atsakykite, kodėl žiotelių laidumas sumažėja, kai šviesos kiekis sumažėja, ir kas lemia, koku lygiu žiotelės užsidaro.



6 pav. A-C_i kreivė

Nubraižykite grafiką, iliustruojantį, kaip skiriasi fotosintezės intensyvumas apšviestuose ir pavėsyje esančiuose lapuose.

Nubraižykite fotosintezės intensyvumo priklausomybės nuo anglies dioksido kiekio ląstelėje (C_i) grafiką (6 pav.). Ką apie fotosintezės procesą pasako ši kreivė?

Literatūra

1. **Borusas S.** (1991). *Augalų fiziologija*. Vilnius: Mokslas. 420 p.
2. **Hardy J.T.** (2003). *Climate Change: Causes, Effects and Solutions*. England: John Wiley & Sons, 247 p.
3. **IPCC** (2001). *Climate Change 2001: Synthesis report. A Contribution of Working Groups I, II, and III to the Third Assessment report of the Intergovernmental Panel of Climate Change* (Watson, R.T. and the Core Writing Team (eds.)). Cambridge: Cambridge University Press. 398 p.
4. **Mader S.S.** (1999). *Biologija*. Vilnius: Alma littera. 368 p.
5. **Stašauskaitė S.** (1999). *Augalų fiziologijos laboratoriniai ir lauko bandymai*. Vilnius: Aldorija. 415 psl.