

Czy rośliny się stresują?

Wpływ stresu na rośliny z rodziny bobowatych: *Fasolę wielkokwiatową*
„Piękny Jaś”.

Projekt gimnazjalny wykonany przez:

Zuzanna Mysza

Tomasz Hałabuda

Grzegorz Fajnkuchen

pod kierunkiem: s. mgr Agnieszka Kasprzyk SchP

Dziękujemy dyrekcji Instytutu Fizjologii Roślin im. Franciszka Górskiego Polskiej Akademii Nauk w Krakowie za umożliwienie przeprowadzenia badań na terenie Instytutu.

Podziękowania kierujemy szczególnie do dr inż. hab. Ilony Czyczło- Mysza i dr Michała Dziurka za ogromną pomoc w wykonaniu projektu.

Spis treści

1. Wstęp	4
1.1 <i>Cel projektu:</i>	4
1.2 <i>Hipoteza:</i>	4
2. Wprowadzenie teoretyczne	5
2.1 <i>Co to jest stres i jakie są czynniki stresogenne dla roślin?</i>	5
2.2 <i>Fotosynteza</i>	6
3. Przebieg eksperymentu	10
3.1. <i>Hodowla fasoli</i>	10
3.2. <i>Pomiary wykonane na żywych okazach</i>	10
3.3. <i>Pomiary wykonane na zebranych materiale</i>	11
3.3.1. <i>Pomiary biochemiczne. Przygotowanie materiału do analiz</i>	12
3.3.2. <i>Analizy</i>	12
4. Wyniki	14
4.1. <i>Obserwacje wzrostu roślin</i>	14
4.2. <i>Pomiary na żywych okazach</i>	15
4.3. <i>Pomiary biochemiczne</i>	19
5. Wnioski	21
6. Załącznik	22

1. Wstęp

1.1 Cel projektu:

W świecie istot żywych stres jest istotnym czynnikiem wpływającym na życie organizmów. U ludzi jest on przyczyną wielu chorób.

Celem badania było sprawdzenie, jak rośliny reagują na stres. Jako czynnik stresogenny wybrano wodę, która jest substratem fotosyntezy. Jej nadmiar lub brak wpływa na tempo tego procesu, co prowadzi do zmiany ilości wyprodukowanych cukrów. Obserwacje codzienne potwierdzają, że roślina pozbawiona wody rozwija się wolniej, a potem usycha.

Do badania wybrano roślinę z rodziny bobowatych: Fasole wielkokwiatową „Piękny Jaś”. Jej szybki wzrost i rozwój, a także łatwość hodowli umożliwił przeprowadzenie eksperymentu. Zbadanie odporności na stres tej rośliny daje istotne informacje dla osób uprawiających ją, gdyż zmiany klimatu w Polsce prowadzą do częstszych okresów suszy.

1.2 Hipoteza:

Jeśli rośliny pozbawimy wody, zostanie zahamowany ich wzrost, spadnie tempo fotosyntezy i ilość wyprodukowanych cukrów.

2. Wprowadzenie teoretyczne.

2.1 Co to jest stres i jakie są czynniki stresogenne dla roślin?

Termin stres wprowadził po raz pierwszy **Selye (1967)**. Określił on stres jako "sumę wszystkich, swoistych zmian, wywoływanych czynnością lub uszkodzeniami".

Stres według **Levitta (1980)** w znaczeniu fizycznym oznacza nacisk (presję) na ciało stałe, powodujący uszkodzenie lub deformację odwracalną (elastyczną) lub nie odwracalną (plastyczną). Ciało poddane takiemu stresowi znajduje się w stanie napięcia. W sensie biologicznym tą presją, czyli stresem działającym na komórkę (lub cały organizm) są niekorzystne czynniki środowiska, które w organizmie żywym powodują zaburzenie przebiegu procesów życiowych, a w skrajnym przypadku - różne deformacje, a nawet śmierć.

Według **Salisbury'ego i Marionosa(1985)** stresorem można nazwać każdy czynnik środowiska, który ogranicza procesy życiowe, czyli obniża ich intensywność poniżej potencjalnych możliwości, zdeterminowanych genetycznie.

Czynniki stresowe środowiska to stresory. Stresy (stresory) dzielimy na abiotyczne (fizyczne) i biotyczne (biologiczne).

Rodzaj stresu dla roślin	Czynniki wywołujące stres roślinny
ABIOTYCZNY	<ul style="list-style-type: none">➤ temperatura (wysoka, chłód, mróz),➤ promieniowanie świetlne (wysokie, niskie),➤ susza,➤ niedobór tlenu,➤ czynniki mechaniczne (wiatr, pokrywa śnieżna, pokrywa lodowa),➤ związki chemiczne (zasolenie, toksyny, niedobór minerałów).
BIOTYCZNY	<ul style="list-style-type: none">➤ patogeny (grzyby, bakterie, wirusy),➤ rośliny (allelпатия, pasożytnictwo, konkurencja),➤ zwierzęta (zgryzanie, pasożytnictwo, deptanie).

Odpowiedź na wymienione wyżej czynniki określana jest jako:

- Odporność roślin na niską temperaturę – mrozoodporność i zimotrwałość,
- Odporność roślin na wysoką temperaturę,
- Odporność roślin na suszę,
- Odporność roślin na zasolenie,
- Odporność roślin na związki toksyczne
- Odporność roślin na czynniki biotyczne – obronność roślin, obrona przed roślinożercami.

2.2 Fotosynteza

Fotosynteza to - biochemiczny proces wytwarzania związków organicznych z materii nieorganicznej, zachodzący w komórkach zawierających chlorofil lub bakteriochlorofil, przy udziale światła. Proces ten utrzymuje wysoki poziom tlenu w atmosferze oraz przyczynia się do wzrostu ilości węgla organicznego w puli węgla, zwiększając masę materii organicznej kosztem materii nieorganicznej.

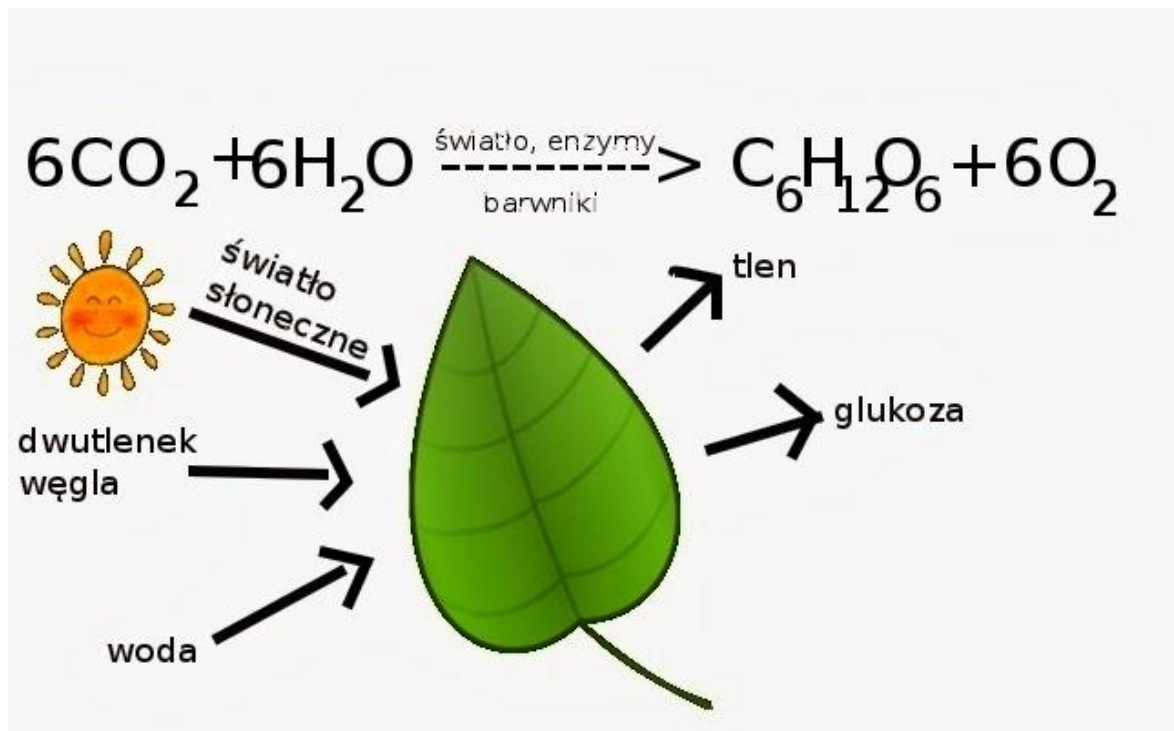
Fotosynteza zachodzi w dwóch etapach:

- Faza jasna, w której światło jest absorbowane, a jego energia jest zamieniana na energię wiązań chemicznych, a jako produkt uboczny wydzielany jest tlen,
- Faza ciemna, w której energia wiązań chemicznych, związków powstałych w fazie świetlnej, jest wykorzystywana do syntezy związków organicznych. Obie fazy zachodzą jednocześnie.

W uproszczonej formie sumaryczny przebieg fotosyntezy z glukozą jako syntezowanym węglowodanem zapisuje się:



Najczęściej substratami fotosyntezy są dwutlenek węgla i woda, produktem – węglowodan i tlen (jako produkt uboczny), a źródłem światła – słońce. Zarówno bezpośrednie produkty fotosyntezy, jak i niektóre ich pochodne określane są jako asymilaty.



Barwniki fotosyntetyczne to grupa organicznych związków chemicznych występują w specjalnych układach, głównie w komórkach zdolnych do przeprowadzania fotosyntezy. Odgrywają kluczową rolę w tym procesie czyli pochłaniają energię świetlną o określonej długości fali w celu zmagazynowania jej.

Ze względu na charakter chemiczny oraz pełnioną funkcję można je podzielić na:

a) Tetrapiolowe barwniki podstawowe (ich głównym zadaniem jest przeprowadzanie fotosyntezy):

-*chlorofile* - występują w chloroplastach roślin oraz sinic (nadają zieloną barwę). Maksimum absorpcji dwóch najczęściej występujących chlorofili wynosi 430 nm i 662 nm dla chlorofilu a oraz 453 nm i 642 nm dla chlorofilu b (zakres światła niebieskiego i słabszego czerwonego)

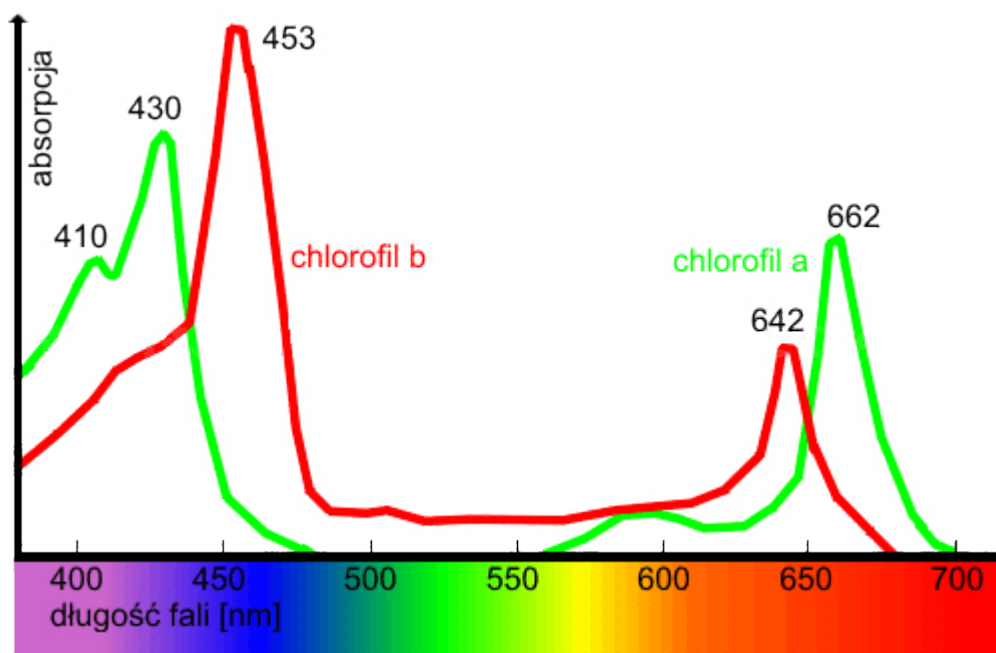
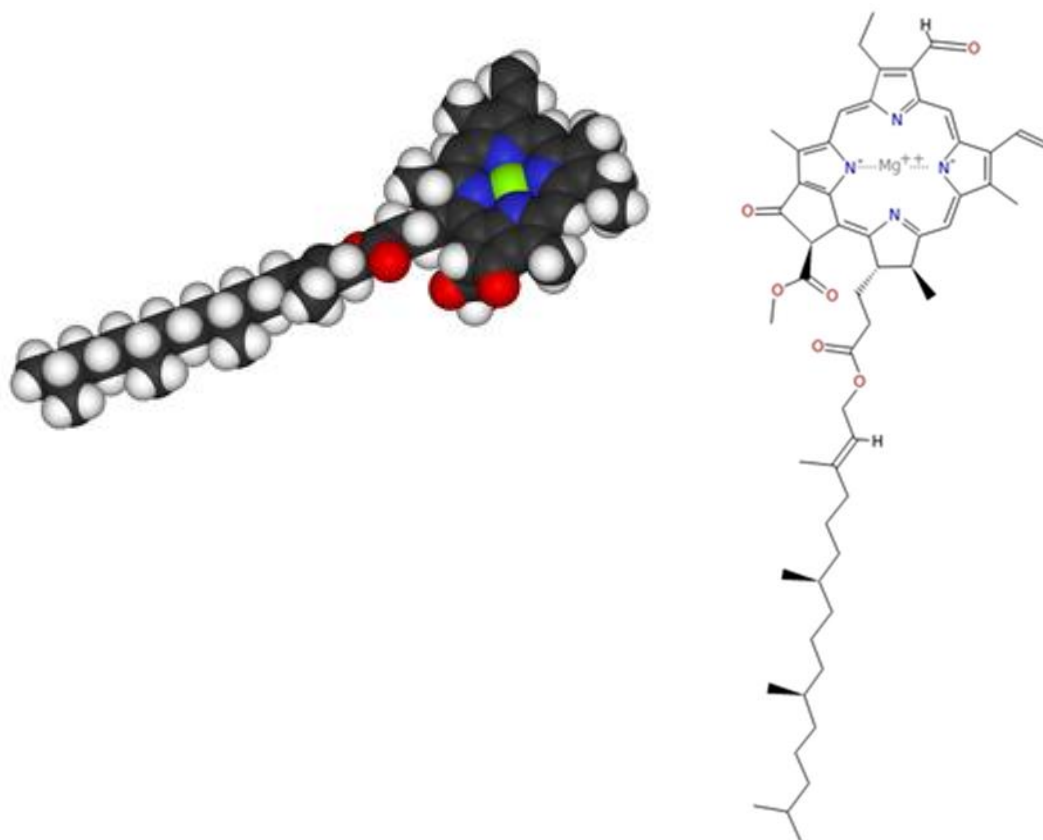
-*bakteriochlorofile* - odmiana chlorofili, występująca u bakterii

b) Barwniki wspomagające:

-*karotenoidy* - pomagają przeprowadzać fotosyntezę, a także chronią przed działaniem promieniowania UV oraz niektórymi szkodliwymi związkami chemicznymi; występują we wszystkich organizmach fotosyntezujących i u niektórych zwierząt (nadają barwę od żółtej do pomarańczowej)

-*fikobiliny* - występują jedynie u niektórych glonów i sinic

Budowa cząsteczki chlorofilu:



Widmo absorpcyjne, czyli wykres długości fal, które są pochłaniane, dwóch typów chlorofilu: typu a i b. Chlorofil nie pochłania koloru zielonego.

2.3 Wpływ wody.

Wpływ wody na przebieg procesu fotosyntezy jest wpływem pośrednim. Jej niedobór w organizmie rośliny (w liściach nawet o kilka procent) powoduje bowiem zamykanie się aparatów szparkowych i odcięcie dopływu dwutlenku węgla do miękiszu asymilacyjnego. Niedobór wody zmniejsza także ogólną aktywność biochemiczną chloroplastów, w których zachodzi fotosynteza.

Fluorescencja (znana także jako światło UV) to zjawisko emitowania światła przez wzbudzony atom lub cząsteczkę. Zjawisko uznaje się za fluorescencję, gdy po zaniku czynnika pobudzającego następuje szybki zanik emisji. Zjawisko fluorescencji jest podstawą działania lamp fluorescencyjnych (czyli popularnych świetlówek). Stosowane jest również szeroko w rozmaitych metodach badawczych, np. w mikroskopii fluorescencyjnej, a także w technikach zabezpieczeń banknotów.

Cząsteczka każdego chlorofilu zbudowana jest z feoporfiryny, będącej pochodną porfiryny. Cztery z pierścieni to pierścienie pirolowe, a piąty pierścień tworzą same atomy węgla. Centralne miejsce w układzie porfiryny zajmuje atom magnezu łączący się z atomami azotu każdego z pierścieni. Porfiryne tworząca kompleks z magnezem posiada zdolność do absorpcji promieniowania elektromagnetycznego w zakresie widzialnym. Dzięki takiej budowie cząsteczka chlorofilu może zostać także wzbudzona światłem ultrafioletowym. Wzbudzona cząsteczka posiada większą energię niż w stanie podstawowym. Stan taki jest nietrwały i po bardzo krótkim czasie następuje spontaniczne przejście do stanu podstawowego. Zgodnie z zasadą zachowania, różnica energii między tymi dwoma stanami zostaje oddana do środowiska w postaci promienistej - jest to właśnie obserwowane przez nas światło o czerwonej barwie.

3. Przebieg eksperymentu

3.1. Hodowla fasoli

Część szkolna naszego projektu rozpoczęła się dnia 01.04.2016 r. Najpierw przygotowany został "stelaż" pod naszą hodowlę fasoli, został on zrobiony z dwóch ławek przykrytych ceratą, aby woda wyciekająca z doniczek nie zniszczył drewna. Następnie do 20 kolejno ponumerowanych doniczek zasadzonych zostało 20 roślin gatunku: *Phaseolus coccineus* L (Fasola piękny Jaś), po jednym nasieniu do każdej doniczki. Niestety doniczki z nasionami nie zostały ustawione w równej odległości od okna, czyli źródła światła. Nasiona podlano. W kolejnych dniach regularnie podlewano rośliny w odstępach około dwa dni.

Dwie z roślin nie wykiełkowały, zostało więc 18 obiektów badawczych. Dnia 23.04.2016 r. przyczepiono rośliny do patyczków aby nie płożyły się po ziemi. Gdy fasole odpowiednio wyrosły, wtedy według planu stworzyliśmy połowie roślin warunki suszy(nr. 1,2,7,12,13,14,16,17,18). Druga połowa była natomiast grupą badawczą, służącą porównaniu naszych wyników(nr. 3,4,6,8,5,9,10,11,15).

3.2. Pomiary wykonane na żywych okazach

W pierwszym i ostatnim dniu suszy, na 36 liściach fasoli zostało wykonane oznaczenie kinetyki fluorescencji „chlorofilu a” przy pomocy fluorymetru Handy PEA (Hansatech, Kings Lynn, UK) oraz pomiar zawartości chlorofilu przy pomocy chlorofilometru SPAD 502 (Minolta Co. Ltd., Japonia).

Pomiar aktywności fotochemicznej PSII

Wszystkie pomiary zostały wykonane w środkowej części prawego i lewego liścia, po uprzednim jego zaciemnieniu klipssem na okres około 20 minut, w 2 powtórzeniach dla każdego obiektu (kontrola i susza). Na podstawie pomiarów fluorescencji chlorofilu, teorii przepływu energii w PSII oraz korzystając z testu OJIP (Strasser i in., 2000; 2004) obliczono i zanalizowano następujące parametry kinetyki fluorescencji chlorofilu:

Parametry indukcji fluorescencji w liściu zaadoptowanym do ciemności podstawowe

F₀ - Minimalna wydajność (intensywność) fluorescencji, która określa stałą fluorescencję charakterystyczną dla otwartych centrów reakcji (pierwszy akceptor Q_A jest utleniony i może przyjmować wszystkie elektrony z PSII w związku z czym centra te pozostają zdolne do dalszej absorpcji światła). Poziom F₀ stanowi wygodny sygnał dla standaryzacji innych sygnałów F.

Jednakże wartość F_0 nie jest zawsze stała, może rosnać lub spadać kiedy uszkodzone są centra PSII albo jeżeli przekazywanie energii wzbudzenia z anten do centrów reakcji wykazuje opór, a poza tym zależy od zawartości chlorofilu w liściach.

F_m (max) - Maksymalna wydajność fluorescencji, obserwowana gdy wszystkie centra reakcji PSII są zamknięte (nie mogą jeszcze przyjąć następných fotonów). Pula Q_A jest zredukowana i część fotochemiczna rozkładająca wodę przejmuje transport elektronów.

F_v - ($F_v = F_m - F_0$) Maksymalna zmiana wartości fluorescencji między F_0 a F_m . Jest to parametr proporcjonalny do wydajności kwantowej PSII. Gdy parametr przyjmuje wartości bliskie zero to świadczy to o unieczynnieniu PSII i rozpraszaniu energii wzbudzenia w postaci ciepła.

F_v/F_m - **względna (np. procentowa)** zmiana potencjalnej wydajności kwantowej (w warunkach optymalnych) fotosystemu II (PSII). Spadek tego parametru poniżej 0,75 jest dobrym wskaźnikiem uszkodzeń wywołanych różnymi czynnikami stresowymi środowiska lub zmniejszonym zapotrzebowaniem na produkty stanowiące tzw. siłę asymilacyjną. Wartość 0,8 – 0,85 wskazuje na optymalne warunki.

Pomiar zawartości chlorofilu

Pomiar zawartości chlorofilu w liściach fasoli wykonano na 18 liściach w środkowej jego części przy pomocy chlorofilometru SPAD 502 (Minolta Co. Ltd., Japonia), z wykorzystaniem optycznej metody pomiaru bezinwazyjnego. Przyrząd mierzy różnicę gęstości optycznej w dwóch zakresach fal: 650 i 940 nm. Pomiar polega na umieszczeniu liścia pomiędzy nieruchomą a ruchomą częścią głowicy. Po lekkim ściśnięciu blaszki liściowej na wyświetlaczu wyświetlany jest wynik zawartości chlorofilu w tzw. jednostkach SPAD. Otrzymane wartości w jednostkach SPAD mają charakter umowny, gdyż wartości SPAD są proporcjonalne do zawartości chlorofilu w badanym liściu. Pomiar wykonano w 2 powtórzeniach dla każdego obiektu

3.3. Pomiary wykonane na zebranych materiale

Liście roślin fasoli w ostatnim dniu suszy zostały zerwane i zamrożone w -70 °C, następnie zliofilizowano je. Tak przygotowany materiał roślinny został użyty do analiz biochemicznych, czyli zawartości: chlorofilu a i b, karotenoidów, fenoli oraz cukrów rozpuszczalnych.

3.3.1. *Pomiary biochemiczne. Przygotowanie materiału do analiz*

Pomiary wykonano w Instytut Fizjologii Roślin im. Franciszka Górskiego Polskiej Akademii Nauk w Krakowie pod kierunkiem dr inż. hab. Ilony Czyczło- Mysza i dr Michał Dziurka. Zliofilizowane próbki liści roślin fasoli homogenizowano w młynie miksującym, w naczyniach do mielenia, po wcześniejszym ich schłodzeniu w ciekłym azocie (Fot. 1).

Sproszkowany materiał roślinny odważano na wadze analitycznej do polipropylenowych zakręcanych dokładnie zważonych probówek 12 ml. Pipetą automatyczną (Fot. 2) dodawano 5 ml etanolu do próbek. Próbki ekstrahowano przez wytrząsanie na rotatorze laboratoryjnym przez 15 min przy 250 obrotach na min. Następnie próbki były wirowane w wirówce laboratoryjnej (Fot. 3) przez 5 min, przy 4000 obrotów. Po odwirowaniu zbierano klarowny roztwór (supernatant) z nad osadu (pelet). Supernatant używano do dalszych analiz.

3.3.2. *Analizy*

Zawartość barwników fotosyntetycznie czynnych, związków fenolowych i cukrów rozpuszczalnych oznaczono metoda spektrofotometryczną za pomocą czytnika mikropłytek firmy Biotek (Fot. 4).

a) Zawartość barwników fotosyntetycznie czynnych

W próbkach mierzono intensywność pochłaniania światła o energii odpowiadającej maksymalnemu pochłanianiu charakterystycznemu dla każdej z grup badanych związków. Chlorofil a - 664 nm; chlorofil b – 648 nm; karotenoidy 470 nm. Stężenia zostały wyznaczone na podstawie parametrów ekstynkcji molowej poszczególnych związków w etanolu.

Zawartość chlorofilu a i b oraz sumy karotenoidów została obliczana przy pomocy programu komputerowego z zależności:

$$C_{chl.a} = 13,36 A_{664,2} - 5,19 A_{648,6}$$

$$C_{chl.b} = 27,43 A_{648,6} - 8,12 A_{664,2}$$

$$C_{a+b} = 5,24 A_{664,2} + 22,24 A_{648,6}$$

$$C_{x+c} = (1000 A_{470} - 2,13 C_{chl.a} - 97,64 C_{chl.b}) / 209$$

gdzie:

A_{λ} - wartość absorbancji dla długości fali [λ].

$C_{chl.a}$ - stężenie chlorofilu a

Cchl.b - stężenie chlorofilu b

Ca+b - stężenie całkowitego chlorofilu

Cx+c - stężenie sumy karotenoidów

Stężenia zostały wyrażone w mikrogramach danego barwnika w 5 ml ekstraktu, po czym obliczono jego zawartość w suchej masie liścia.

b) Zawartość związków fenolowych

Związki fenolowe zostały oznaczone metodą spektrofotometryczną wykorzystującą charakterystyczną reakcję z odczynnikiem Folin–Ciocalteu. Próbką była mieszana z odczynnikiem Folin–Ciocalteu i po 20 min inkubacji dodawano bufor w postaci nasyconego węglanu sodu. Po zmieszaniu odczekiwano 2 godziny i dokonywano pomiaru intensywności zabarwienia. Wyniki odnoszono do kalibracji sporządzone dla znanych wzrastających stężeń kwasu galusowego, mierzonych identycznie jak próbki.

c) Zawartość cukrów rozpuszczalnych

Cukry rozpuszczalne oznaczano spektrofotometrycznie metodą fenolową w kwasie siarkowym. Próbki rozcieńczane wodą mieszane były z wodnym roztworem fenolu a następnie dodawano porcję stężonego kwasu siarkowego. Po ostygnięciu mierzono intensywność zabarwienia uzyskanego roztworu, wyniki odnoszono do kalibracji sporządzone dla znanych wzrastających stężeń glukozy, mierzonych identycznie jak próbki.

4. Wyniki

4.1. Obserwacje wzrostu roślin

Tab.1. Obserwacje hodowli fasoli

Data	Czynność	Obserwacje
01.04	Wysadzenie nasion, podlanie	Brak.
04.04	Podlanie	Brak widocznych liścieni.
06.04	Podlanie	Widoczny korzeń u niektórych roślin.
11.04	Podlanie	Korzeń rozrasta się.
13.04	wysadzono 10 nowych gatunku ERYKA, dokonano pomiaru wysokości (Por. tab 2)	18 okazów wyrosło pojawiły się dwa liścienie, 10 roślin spleśniało
23.04	Przyczepianie fasoli do podpory, podlanie	Rośliny znacznie urosły, mają wiele liści.
25.04	Podlanie, pomiar wysokości	pojawiają się pierwsze liście w drugiej hodowli – rośliny 1,2,3,5,8, rośliny szybko rosą, istnieją duże różnice wysokości poszczególnych okazów, rośliny znajdujące się bliżej okna są wyższe.
27.04.	Pomiar zawartości chlorofilu- spad, pomiar współczynnika fluorescencji podlanie	Rośliny rosą, są dalej w dobrej kondycji.
04,05	Podzielono rośliny. Pierwszy dzień suszy Podlane- próba kontrolna: 3,4,6,8,5,9,10,11,15 Niepodlane- próba badawcza: 1,2,7,12,13,14,16,17,18	Rośliny zostały podzielone ze względu na to w jakim miejscu się znajdują.
06i 09	Podlanie	Na razie nie widać różnic pomiędzy obiema grupami.
11,05	Spad ,fluorescencja, pomiar wysokości	Widoczne lekkie zwiędnięcie liści na krawędziach.
16 05	Spad ,fluorescencja, pomiar wysokości	Liście zostały zebrana po badaniu i przeniesione do zamrażarki.

4.2. Pomiary na żywych okazach

Tab.2. Pomiary wysokości fasoli.

data pomiaru nr. fasoli		długość fasoli [cm]					przyrost dł pom.11 a 4.05	przyrost dł m 21.04 a 04.05
		13.04	15.04	21.04	4.05	11.05		
3	kontrola	13,30	19,00	48,50	85,30	110,00	24,70	36,80
4	kontrola	12,20	17,50	18,00	83,30	111,00	27,70	65,30
5	kontrola	12,10	16,30	16,30	97,30	125,00	27,70	81,00
6	kontrola	12,20	21,00	24,00	88,30	89,00	0,70	64,30
8	kontrola	10,10	19,80	24,00	85,00	114,00	29,00	61,00
9	kontrola	7,10	13,30	15,10	100,30	128,00	27,70	85,20
10	kontrola	9,30	15,70	17,00	84,30	91,00	6,70	67,30
11	kontrola	7,60	16,10	18,00	103,30	132,00	28,70	85,30
15	kontrola	10,00	17,30	25,00	70,30	70,50	0,20	45,30
1	susza	29,80	48,50	70,50	78,30	80,00	1,70	7,80
2	susza	15,60	20,50	29,60	59,30	60,00	0,70	29,70
7	susza	11,20	17,40	24,30	81,30	84,00	2,70	57,00
12	susza	2,00	2,00	21,30	38,30	43,00	4,70	17,00
13	susza	12,40	19,80	29,00	99,30	105,00	5,70	70,30
14	susza	8,50	16,60	20,50	63,30	72,00	8,70	42,80
16	susza	5,50	15,30	18,50	83,30	93,00	9,70	64,80
17	susza	1,20	5,00	8,50	68,30	69,00	0,70	59,80
18	susza	9,50	15,00		87,30	120,00	32,70	
średnia długość kontrola		10,43	17,33	22,88	88,60	107,83	19,23	65,72
susza		10,63	17,79	27,78	73,19	80,67	7,48	43,65

Istnieją różnice w tempie wzrostu fasoli. Fasole rosły skokowo. Zarówno te podlewane jak i niepodlewane rosły. Zauważono, że niepodlewane rosły wolniej (mniejsza średnia wzrostu). Mogło to być jednak spowodowane różnicami osobniczymi.

Tab.3 Zawartość chlorofilu w jednostkach SPAD

Pomiar 11. maja 2016 r.

SPAD

susza	L	P
1	28,9	36,6
2	31,7	32,8
7		28,8
12	24,5	26,1
13	40,6	38,8
14	35,6	38,1
16	28,5	30,3
17	35,9	34,7
18	29,3	34,2
Średnia:	31,875	33,37778

Pomiar 16. maja 2016 r.

SPAD

susza	L	P
1	28,5	29,7
2	33,6	33
7		31,7
12	28,5	28,7
13	41,7	51,8
14	36,5	34,9
16	30,4	32,6
17	35,4	32,6
18	30,9	31,2
Średnia:	33,1875	34,02222

kontrola	SPAD	
	L	P
3	31,6	33
4	31,4	31,7
5	34,6	34,5
6	32,4	31,2
8		29,1
9	31,9	32,6
10	29,5	28,7
11	32,5	30,3
15		
Średnia:	31,98571	31,3875

kontrola	SPAD	
	L	P
3	32,4	34
4	36,7	36
5	32,4	33,4
6	30	30,8
8		33,9
9	34	35,1
10	33,9	31,3
11	30,6	31,5
15	46,3	42,2
Średnia:	34,5375	34,24444

W próbie kontrolnej obserwuje się niewielki wzrost zawartości chlorofilu o ok.3 jednostki SPAD, W próbie badawczej wyniki obu pomiarów są podobne.

Tab.4 Parametry indukcji fluorescencji

OBIEKT		Data	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	P.I.
10L	K	2016-04-16	253	1664	1411	0,848	3,364
10P	K	2016-04-16	249	1617	1368	0,846	2,998
5L	K	2016-04-16	266	1729	1463	0,846	3,104
11L	K	2016-04-16	262	1602	1340	0,836	3,114

11P	K	2016-04-16	257	1703	1446	0,849	2,776
3L	K	2016-04-16	247	1628	1381	0,848	3,77
3P	K	2016-04-16	246	1620	1374	0,848	3,284
4P	K	2016-04-16	250	1633	1383	0,847	4,275
6L	K	2016-04-16	251	1719	1468	0,854	3,373
6P	K	2016-04-16	234	1464	1230	0,84	2,613
9L	K	2016-04-16	256	1629	1373	0,843	2,932
9P	K	2016-04-16	256	1679	1423	0,848	3,6
15L	K	2016-04-16	228	1432	1204	0,841	3,505
15P	K	2016-04-16					
ŚREDNIA			250,4	1624,54	1374,15	0,8456923	3,2852308
ODCHYLENIE STANDARDOWE			10,39	88,5284	79,9321	0,0046437	0,4431497
MIN			228	1432	1204	0,836	2,613
MAX			266	1729	1468	0,854	4,275

OBIEKT		Data	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	P.I.
18L	S	2016-04-16	238	1585	1347	0,85	4,138
18P	S	2016-04-16	232	1448	1216	0,84	3,002
14L	S	2016-04-16	249	1564	1315	0,841	3,941
14P	S	2016-04-16	264	1732	1468	0,848	3,595
16L	S	2016-04-16	237	1540	1303	0,846	3,069
16P	S	2016-04-16	244	1577	1333	0,845	3,156
13L	S	2016-04-16	260	1648	1388	0,842	4,038
13P	S	2016-04-16	249	1687	1438	0,852	4,292
1L	S	2016-04-16	238	1598	1360	0,851	5,072
1P	S	2016-04-16	248	1689	1441	0,853	4,184
2L	S	2016-04-16	232	1503	1271	0,846	3,306
2P	S	2016-04-16	245	1617	1372	0,848	3,749
7P	S	2016-04-16	259	863	604	0,7	-0,055
12L	S	2016-04-16	218	1387	1169	0,843	2,639
12P	S	2016-04-16	255	838	583	0,696	
17L	S	2016-04-16	239	1557	1318	0,846	3,17
17P	S	2016-04-16	232	1520	1288	0,847	2,96
ŚREDNIA			243	1491	1248	0,829	3,391
ODCHYLENIE STANDARDOWE			12,04	256,227	258,005	0,00494715	1,1167747
MIN			218	838	583	0,696	-0,055
MAX			264	1732	1468	0,853	5,072

OBIEKT		Data	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	P.I.
14P	S	2016-05-16	237	1253	1016	0,811	1,767
14L	S	2016-05-16	258	1417	1159	0,818	2,263
17P	S	2016-05-16	263	1617	1354	0,837	2,906
17L	S	2016-05-16	250	1581	1331	0,842	3,745
12P	S	2016-05-16	250	1380	1130	0,819	1,527
12L	S	2016-05-16	258	1500	1242	0,828	1,444
18P	S	2016-05-16	257	1524	1267	0,831	2,382
18L	S	2016-05-16	263	830	567	0,683	-0,053

16P	S	2016-05-16	263	1652	1389	0,841	2,91
16L	S	2016-05-16	244	1522	1278	0,84	3,216
13P	S	2016-05-16	245	1335	1090	0,816	2,284
13L	S	2016-05-16	241	1445	1204	0,833	2,554
1P	S	2016-05-16	253	1653	1400	0,847	4,17
1L	S	2016-05-16	270	1618	1348	0,833	2,761
2L	S	2016-05-16	247	1569	1322	0,843	4,181
2P	S	2016-05-16	258	1667	1409	0,845	4,388
7P	S	2016-05-16	255	1658	1403	0,846	3,998
ŚREDNIA			254	1484	1230	0,824	2,73
ODCHYLENIE STANDARDOWE			8,9	208,6	207,5	0,0	1,2
MIN			237	830	567	0,683	-0,053
MAX			270	1667	1409	0,847	4,388

OBIEKT		Data	Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	P.I.	
6L	K	2016-05-16	265	1741	1476	0,848	3,089	
6P	K	2016-05-16	264	1740	1476	0,848	2,754	
10P	K	2016-05-16	262	1650	1388	0,841	2,414	
10L	K	2016-05-16	274	1767	1493	0,845	3,38	
5P	K	2016-05-16	270	1785	1515	0,849	3,736	
5L	K	2016-05-16	279	1796	1517	0,845	3,104	
15P	K	2016-05-16	291	1719	1428	0,831	4,062	
15L	K	2016-05-16	275	1787	1512	0,846	4,381	
11P	K	2016-05-16	115	703	588	0,836	10,418	
11L	K	2016-05-16	274	1824	1550	0,85	3,277	
9P	K	2016-05-16	274	1756	1482	0,844	3,541	
9L	K	2016-05-16	269	1724	1455	0,844	3,321	
4P	K	2016-05-16	244	1710	1466	0,857	4,263	
4L	K	2016-05-16	263	1795	1532	0,853	3,817	
3P	K	2016-05-16	259	1648	1389	0,843	3,282	
3L	K	2016-05-16	268	1794	1526	0,851	3,116	
	127	K	2016-05-16	281	1781	1500	0,842	2,565
	128	K	2016-05-16	263	1577	1314	0,833	2,446
ŚREDNIA			261	1683	1423	0,845	3,72	
ODCHYLENIE STANDARDOWE			37,7	252,632	216,68	0,0066647	1,7682637	
MIN			115	703	588	0,831	2,414	
MAX			291	1824	1550	0,857	10,418	

F₀ - Minimalna wydajność (intensywność) fluorescencji, która określa stałą fluorescencję charakterystyczną dla otwartych centrów reakcji (pierwszy akceptor QA jest utleniony i może F_m - Maksymalna wydajność fluorescencji, obserwowana gdy wszystkie centra reakcji PSII są zamknięte (nie mogą jeszcze przyjąć następnych fotonów). Pula QA jest zredukowana i część fotochemiczna rozkładająca wodę przejmuje transport elektronów.

F_v - (F_v = F_m - F₀) Maksymalna zmiana wartości fluorescencji między F₀ a F_m. Jest to parametr proporcjonalny do wydajności kwantowej PSII. Gdy parametr przyjmuje wartości bliskie zero to świadczy to o unieczynnieniu PSII i rozpraszaniu energii wzbudzenia w postaci ciepła.

Z tabeli wynika, że pomimo suszy rośliny utrzymały wysoka aktywność fotosyntezy. Parametr względnej aktywności PSII utrzymał się na poziomie ok. 0,82, co jest wartością optymalną.

4.3. Pomiary biochemiczne

Tab. 4. Stężenia chlorofilu A i B, karotenoidów, związków fenolowych i cukrów rozpuszczalnych.

Z danych wynika, że istnieje duży rozrzut wyników szczególnie jeśli chodzi o zawartość chlorofilu A i B. Nie widać istotnych różnic w próbach badawczych i kontrolnych. W próbach badawczych zaznacza się większa ilość chlorofilu A i B oraz cukrów rozpuszczalnych.

Nr próbki/nazwa	Traktowanie	Name	ug/ml	ug/mg	ug/ml	ug/mg	ug/ml	ug/mg	ug/ml	ug/mg	ug/ml	ug/mg	ug/ml	ug/mg
			ChIA	ChIA	ChIB	ChIB	ChIA+B	ChIA+B	car	car	Zwiazki Fen	Zwiazki Fen	Cukry Rozp	Cukry Rozp
1	susza	1 S	8,55	1,90	6,70	1,49	15,25	3,39	4,27	0,95	58,34	1,62	4357,13	120,97
2	susza	2 S	7,58	1,47	5,19	1,00	12,76	2,47	3,97	0,77	41,51	1,00	4281,63	103,60
12	susza	12 S	9,23	7,63	3,21	2,65	12,44	10,28	2,04	1,69	15,17	1,57	1070,84	110,64
13	susza	13 S	24,75	4,13	13,80	2,30	38,54	6,43	3,26	0,54	78,97	1,65	2541,38	53,02
14	susza	14 S	25,98	5,12	23,50	4,63	49,48	9,76	4,19	0,83			2647,16	65,27
16	susza	16 S	11,03	3,73	4,00	1,35	15,03	5,08	4,15	1,40	39,29	1,66	2901,62	122,48
17	susza	17 S	13,28	8,05	4,44	2,69	17,72	10,74	2,68	1,62	27,47	2,08	1554,78	117,83
18	susza	18 S	9,11	3,30	4,14	1,50	13,25	4,81	2,50	0,91	48,33	2,19	2643,35	119,83
średnia			13,69	4,42	8,12	2,20	21,81	6,62	3,38	1,09	44,16	1,68	2749,74	101,71
SD (odchył			7,42	2,42	7,07	1,17	14,11	3,24	0,88	0,43	20,74	0,39	1150,49	27,18
min.			7,58	1,47	3,21	1,00	12,44	2,47	2,04	0,54	15,17	1,00	1070,84	53,02
max.			25,98	8,05	23,50	4,63	49,48	10,74	4,27	1,69	78,97	2,19	4357,13	122,48
3	kontrola	3 K	9,50	2,28	3,66	0,88	13,16	3,16	3,44	0,82	28,13	0,84	2005,65	60,18
4	kontrola	4 K	13,32	3,77	5,82	1,65	19,14	5,42	2,63	0,75	38,41	1,36	2572,71	91,08
5	kontrola	5 K	11,46	3,68	5,40	1,73	16,86	5,41	3,88	1,24	57,23	2,29	2509,36	100,56
6	kontrola	6 K	14,61	4,80	6,49	2,13	21,10	6,92	3,64	1,20	51,54	2,11	1943,57	79,74
9	kontrola	9 K	15,80	5,42	6,98	2,39	22,78	7,81	3,97	1,36	53,37	2,29	1963,22	84,18
11	kontrola	11 K	4,83	1,32	4,70	1,29	9,52	2,61	3,48	0,95	48,62	1,67	2089,24	71,59
15	kontrola	15 K	15,25	3,88	7,91	2,01	23,16	5,89	5,37	1,36	56,07	1,78	2755,14	87,54
średnia			12,11	3,59	5,85	1,73	17,96	5,32	3,77	1,10	47,62	1,76	2262,70	82,12
SD (odchył			3,91	1,40	1,43	0,52	5,11	1,88	0,83	0,26	10,63	0,53	338,41	13,24
min.			4,83	1,32	3,66	0,88	9,52	2,61	2,63	0,75	28,13	0,84	1943,57	60,18
max.			15,80	5,42	7,91	2,39	23,16	7,81	5,37	1,36	57,23	2,29	2755,14	100,56

5. Wnioski

Zgodnie z założeniem zauważono różnice w tempie wzrostu fasoli. Rośliny z próby badawczej rosły wolniej i miały uwędnięte liście. Dokładniejsze badania pokazały jednak, że pomimo suszy rośliny utrzymały wysoką aktywność fotosyntezy. Nie widać było istotnych różnic zawartości chlorofilu A i B oraz cukrów rozpuszczalnych pomiędzy próbami kontrolnymi i badawczymi.

Z badan wynika, że badana roślina jest odporna na suszę. W warunkach stresu utrzymuje wysoką aktywność fotosyntezy. Jest to korzystne dla osób uprawiających tę roślinę w naszym zmiennym klimacie.

W kolejnych badaniach należałoby zwiększać stopniowo długość okresów suszy, aby dojść do progu wytrzymałości tej rośliny na stres. Nie należy się przy tym kierować wyglądem zewnętrznym roślin.

6. Załącznik



Fot. 1. Młyn miksujący do mielenia próbek.



Fot. 2. Pipety automatyczne używane do pomiarów biochemicznych.



Fot. 3 Wirówka laboratoryjna.



Fot. 4. Mikropłytki z próbkami oraz czytnik (Biotek).