

FLUORESCENCJA MODULOWANA

CEL ĆWICZENIA

Pomiar i analiza widm fluorescencji modulowanej chlorofilu *a* w systemie PAM (ang. *pulse-amplitude-modulation*).

ZAGADNIENIA DO PRZYGOTOWANIA

1. Ogólna charakterystyka procesu fotosyntezy
2. Architektura i komponenty aparatu fotosyntetycznego
 - Fotosystem II (PSII)
 - Transport elektronów na stronie akceptorowej PSII
 - Barwniki fotosyntetyczne roślin wyższych
3. Fluorescencja chlorofilu *a* jako wskaźnik funkcjonowania fotosystemu II
4. Diagram Jabłońskiego
5. Krzywa indukcji fluorescencji chlorofilu *a* – test OJIP

UKŁAD POMIAROWY

1. Fluorymetr o podwójnej modulacji FL-3000 (PSI)
 - jednostka kontrolująca
 - głowica optyczna
 - zestaw kuwet

SPRZĘT LABORATORYJNY

Wirówka laboratoryjna, przenośny spektrometr *Aqua Pen*, szkło laboratoryjne, probówki, moździerz, pipety

ODCZYNNIKI

1. bufor hepes (pH= 6.5)

<i>Składnik</i>	<i>mol/litr</i>
NaCl	1.5×10^{-2}
MgCl ₂ (6H ₂ O)	5.0×10^{-3}
Hepes	2.0×10^{-2}

2. DCMU, (diuron; 3-(3,4-dichlorofenylo)-1,1-dimetylomocznik)
3. CuCl₂

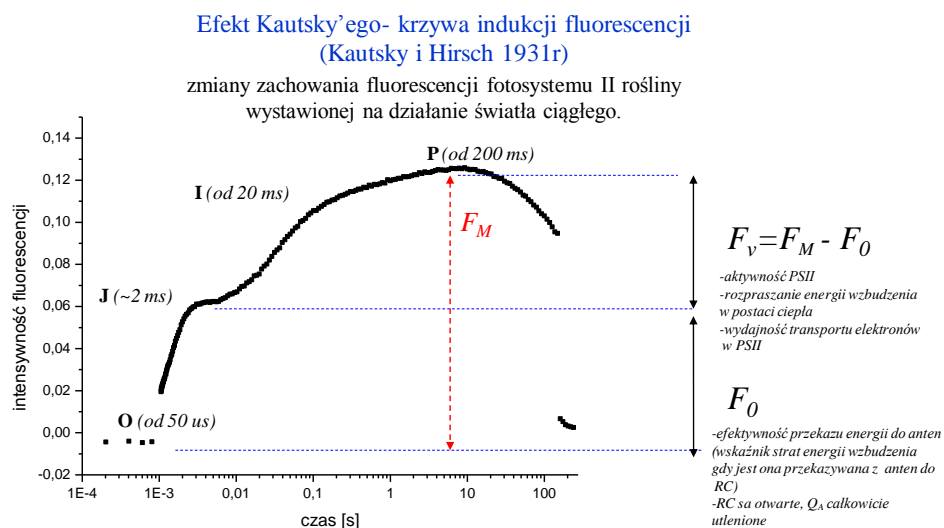
WYKONANIE ĆWICZENIA

1. Izolacja tylakoidów z liści rośliny wyższej (np. szpinaku, tytoniu, pietruszki)
2. Odwirowanie zawiesiny
3. Fotosyntetyczna adaptacja ciemnościowa
4. Pomiar efektu Kautsky'ego dla próbki natywnej
5. Pomiar dla próbek traktowanych CuCl₂ oraz DCMU

OPRACOWANIE WYNIKÓW

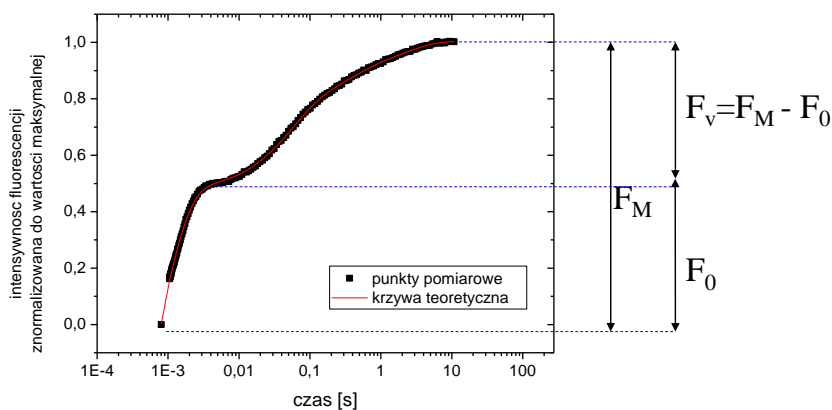
1. Opisać zarejestrowane widma fluorescencyjne
2. Do punktów doświadczalnych dopasować krzywą teoretyczną (równanie [1]). Wyznaczyć składowe sygnału fluorescencji: początkową wartość fluorescencji F_0 , wartość maksymalną F_M oraz jej wartość zmienną - F_V . Wyznaczyć stałe czasowe.
3. Przedyskutować otrzymane wyniki.

Dodatek



Maksymalna fotochemiczna wydajność PSII

$$\frac{F_V}{F_M} = \frac{F_M - F_0}{F_M}$$



Należy „odciąć” trzy pierwsze punkty pomiarowe i wszystkie punkty poza plateau, których wartość zaczyna się zmniejszać. Najlepiej „odciąć” tło i znormalizować oś y do F_M , wtedy $y_0=0$.

$$F_0 = A_1 + A_2$$

$$F_V = \sum A_i \quad (i=3,4,5)$$

$$F_{KautskyEffect}(t) = \sum_{i=1}^n A_i \left(1 - \exp\left(-\frac{t-t_0}{t_i}\right) \right) + y_0 \quad [1]$$

LITERATURA

Orzechowska A. *Wykład dla studentów MSIB*, luty 2019

Burda K. *Wykład z biofizyki dla studentów MSIB*, semestr letni 2019

Berg J.M, Stryer L., Tymoczko J.L., *Reakcje świetlne fotosyntezy* w „Biochemia”, Wyd. Naukowe PWN, 2009.

Rabinowitch E., Govindjee, *Photosynthesis*, John Wiley and Sons Inc. NY, 1969.

Blankenship R.E. *Molecular mechanisms of photosynthesis*, Blackwell Science, 2008.