

## 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	$1.5 \times 10^{-2}$
MgCl <sub>2</sub> (6H <sub>2</sub> O)	$5.0 \times 10^{-3}$
Hepes	$2.0 \times 10^{-2}$

2. DCMU, (diuron; 3-(3,4-dichlorofenylo)-1,1-dimetylomocznik)
3. CuCl<sub>2</sub>

### 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 CuCl<sub>2</sub> oraz DCMU

## OPRACOWANIE WYNIKÓW

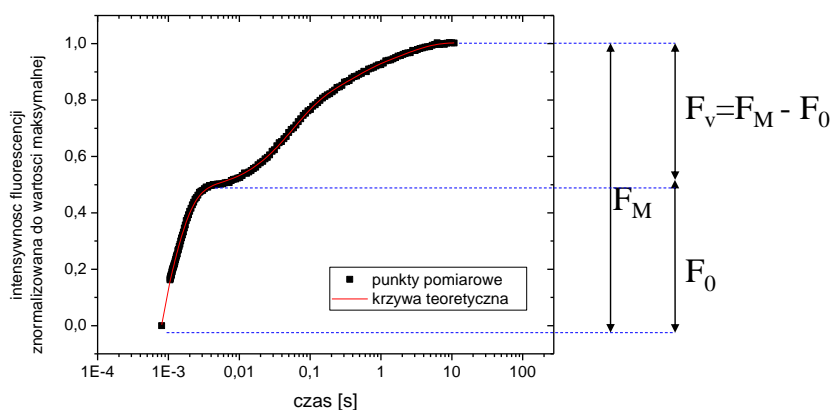
1. Opisać zarejestrowane widma fluorescencyjne
2. Do punktów doświadczalnych dopasować krzywą teoretyczną (równanie [1]). Wyznaczyć składowe sygnału fluorescencji: początkową wartość fluorescencji  $F_0$ , wartość maksymalną  $F_M$  oraz jej wartość zmienną -  $F_V$ . Wyznaczyć stałe czasowe.
3. Przedyskutować 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 2013

Burda K. *Wykład z biofizyki dla studentów MSIB*, semestr letni 2013

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.