PROFILY PRONIKÁNÍ ZÁŘENÍ RŮZNÉ SPEKTRÁLNÍ KVALITY DO LISTU JEČMENE

Semer Jan[1]

[1]*Katedra fyziky, Přírodovědecká fakulta, Ostravská univerzita v Ostravě, Chittussiho 10, 710 00, Slezská Ostrava, P12184@student.osu.cz*

Abstrakt

Pro běžné měření Pulzně Amplitudově Modulované (PAM) fluorescence chlorofylu a se používá modré nebo červené měřící světlo. S velkým rozmachem světlo emitujících diod (LED) je začínají výrobci používat rovněž jako zdroje aktinického světla i jako zdroje saturačních pulzů. Při interpretaci takto získaných výsledů je ovšem třeba zohlednit určitá fakta.

Tato práce se zabývá různou hloubkou průniku světla modré, červené a zelené barvy do listu ječmene setého (*Hordeum vulgare L.*). Měření bylo prováděno pomocí fluorescenčního mikroskopu na řezech listu s pravoúhlým uspořádáním excitace a detekce. Byly měřeny profily fluorescence při excitaci z abaxiální i adaxiální strany listu.

Nejméně hluboko pronikala záření modré barvy, poté červené. Nejméně byla absorbována radiace zelené barvy. Rozdíl v hloubce a profilu pronikání různých spektrálních kvalit světla z horní a spodní stany listu nebyl pozorován.

Klíčová slova: *ječmen setý; fluorescence chlorofylu a; profil pronikání; spektrální kvalita záření*

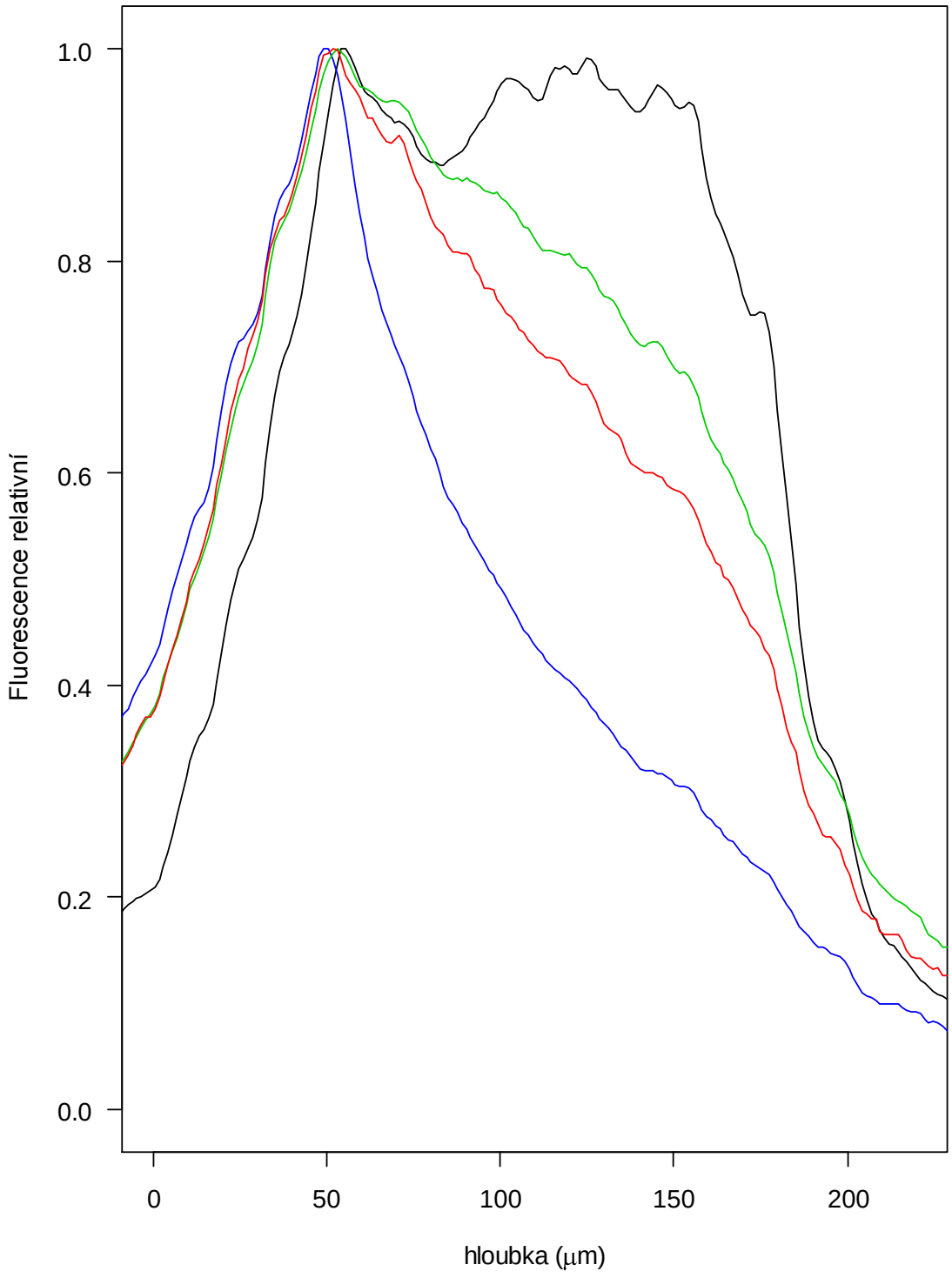
Úvod

Hlavním fotosyntetickým pigmentem vyšších rostlin je chlorofyl a. Ten absorbuje v modré a v červené oblasti viditelného spektra. Dalšími pomocnými pigmenty jako například karoteny a xantofyly absorbují modré až modrozelené záření. Z toho vyplývá, že modrá složka je absorbována nejintenzivněji, poté červená a nejméně zelená. K měření fluorescenčního indukčního jevu u vyšších rostlin se běžně používá červené nebo modré excitační světlo. Díky výše zmíněným skutečnostem tedy fluorescence chlorofylu excitovaná modrým světlem pochází pouze ze svrchních vrstev listu. Aby byl tento fakt ověřen a zároveň stanovena jeho míra, byl proveden experiment na řezech listu ječmene s vzájemnou orientací excitace a detekce fluorescence pod úhlem $\pi/2$. Pronikání bylo měřeno pro modré, zelené a červené světlo.

Daná problematika nesouvisí pouze s barvou měřícího světla, ale rovněž s barvou aktinického světla a barvou saturačního pulzu. V případě, že barva měřícího světla neodpovídá barvě světla aktinického, začne docházet ke zkreslování výsledků. Detekovaná fluorescence totiž pochází z jiných vrstev, než ve kterých je světlo absorbováno a nevypovídá tedy úplně o vlivu aktinického světla. Takto získaná data vypovídají pouze o reakcích vyvolaných aktinickým světlem v příslušné vrstvě.

Záření, které dopadá na list, je částečně odraženo, pohlceno nebo projde listem. Pravděpodobnost těchto jevů je závislá jak na druhu a způsobu pěstování rostliny, tak na frekvenci dopadajícího světla. Pohlcená část záření zvaná absorptance však popisuje pouze množství záření pohlceného listem jako celkem. Nic nevypovídá o intenzitě absorpce

v jednotlivých vrstvách, která je ovlivněna jak jejich chemickým složením tak morfologickou stavbou listu.



Obrázek 1. Profil fluorescence chlorofylu a na řezu listu ječmene setého, který byl excitován z adaxiální strany. Barvy křivek (červená, modrá, zelená) odpovídají barvě excitačního světla. Černá barva znázorňuje rozložení chlorofylu v listu. Křivky jsou normovány na své maximum.

Materiál a metody

Rostliny ječmene setého byly pěstovány po dobu osmi dnů na ozářenosti 240 $\mu mol^{-1}\ m^{-2}\ s^{-1}$ (FytoScope FS 130, PSI, Česká republika). Pro kultivaci byl zvolen poměr 1:2:1,5 (modrá:zelená:červená), což odpovídá poměru těchto barev ve Slunečním spektru. Fotoperioda byla 16 hodin světlo a 8 hodin tma. Teplota během těchto intervalů byla regulována na 295 K (22 °C) a 293 K (20 °C).

Byly zhotoveny příčné řezy střední částí prvního pravého listu. Apikální strana řezu byla orientována vzhůru. Měření bylo prováděno pomocí sestavy IMAGING-PAM (Walz, Spolková republika Německo) a mikroskopu Axio Scope.A1 (Carl Zaiss, Spolková republika Německo). Zdrojem excitačního záření byl LED zdroj (460, 520, 620 nm).

Obrazový záznam intenzit fluorescence byl vyhodnocen v programu ImageJ. Jednotlivé křivky byly normovány na svá maxima.

Výsledky a diskuse

Z obrázku č. 1 je patrné, že modré světlo je absorbováno hned ve svrchních vrstvách listu. Měření z abaxiální strany ukázalo, že se profily pronikání radiace různých kvalit výrazně neliší od profilů měřených z adaxiální strany listu. Vogelmann a Evans [1], kteří měřili profily na listu špenátu, pozorovali rozdíly při měření z axiální a abaxiální strany listu. Tento rozdíl byl způsoben rozdílnými optickými vlastnostmi palisádového a houbového parenchymu. Z horní strany listu, kde je umístěn palisádový parenchym, bylo pronikání pozvolnější než ze spodní strany listu, kde byl úbytek u všech kvalit záření prudší. To, že tento trend nebyl pozorovánu u ječmene, souvisí s jeho anatomickou stavbou. Ječmen nemá mezofyl rozlišený na palisádový a houbový parenchym.

Provedená měření dávají informaci o pronikání světla různých barev do listu a s tím souvisejícím místem vzniku fluorescence. Při běžném měření PAM fluorescence je ovšem signál detekován ze stejné strany, jako je excitován. Proto je třeba rozlišovat mezi místem vzniku fluorescence, které bylo měřeno v rámci tohoto experimentu, a vrstvě, ze které je fluorescence detekována při klasickém měření. Totiž fluorescence, která pochází z prostřed listu nebo z opačné strany, než je vzorek excitován, bude zeslabena více než fluorescence z povrchových vrstev.

Protože tloušťka listu ječmene je zhruba o dvě třetiny menší než u špenátu, na kterém prováděl pokusy Vogelmann a Evans [1], proniká červené a zelné světlo přes celý list, na rozdíl od jejich pozorování. Této skutečnosti je plánováno využít v dalším experimentu pro přibližné určení místa vzniku fluorescence, která je detekována při klasickém měření. V něm bude vzorek excitován červeným a modrým měřícím světlem a fluorescence bude detekována jak ze strany, na kterou dopadá měřící světlo, tak z opačné. V případě modrého měřícího světla je předpokládáno, že u detekce z opačné strany bude signál silně zeslaben. Při použití červeného světla je předpokládáno menší zeslabení signálu. Výše zmíněné výsledky tento předpoklad nevyvrátily.

Závěr

Bylo provedeno měření průniku záření různé spektrální kvality do listu ječmene setého kultivovaného při poměru 1:2:1,5 (modrá:zelená:červená), což odpovídá poměrům těchto barev ve slunečním světle. Hloubka průniku byla měřena na příčných řezech prvního pravého listu pomocí fluorescenčního mikroskopu, kde byla zaznamenávána fluorescence chlorofylu a. Naměřené výsledky byly ve shodě s teorií – modrá složka je absorbována ve svrchních vrstvách,

červená proniká hlouběji a zelená složko je absorbována nejméně. Nebyl však pozorován rozdíl mezi absolutní hloubkou průniku jednotlivých spektrálních složek osvětlovaných z abaxiální a adaxiální strany listu. To pravděpodobně souvisí s rozdílnou anatomickou stavbou jednoděložných a dvouděložných listů.

Poděkování

Tímto bych rád poděkoval Mgr. Michalovi Štrochovi, PhD. za vedení práce. Experiment byl podpořen Ostravskou univerzitou v Ostravě prostřednictvím grantu SGS21/PřF/2014.

Literatura

[1.] VOGELMANN, T. C. a EVANS, J. R. *Profiles of light absorption and chlorophyll within spinach leaves from chlorophyll fluorescence.* Plant, Cell and Environment, 2002, 25, s. 1313-1323

Abstract

Blue or red measuring light is used for routine measurement of pulse amplitude modulated (PAM) fluorescence of chlorophyll a. With the great expansion of light emitting diodes (LED) manufacturers begin to use them as a source of actinic light and also as a source of saturation pulses. However, when interpreting the obtained results it is necessary to take into account some specific factors.

This work deals with different depths of penetration of blue, red and green light in barley leaf (Hordeum vulgare L.). Measurement was carried out using fluorescence microscope on the cross-sections of the leaf with the rectangular configuration of excitation and detection. Fluorescence profiles were measured with both excitations of abaxial and adaxial side of the leaf.

Blue light penetrates into the lower depth of the leaf as compared with the red one and absorption of the green light was the lowest. There were not observed differences in the depth and profile penetration of various spectral qualities of light from the upper and lower leaf surfaces.