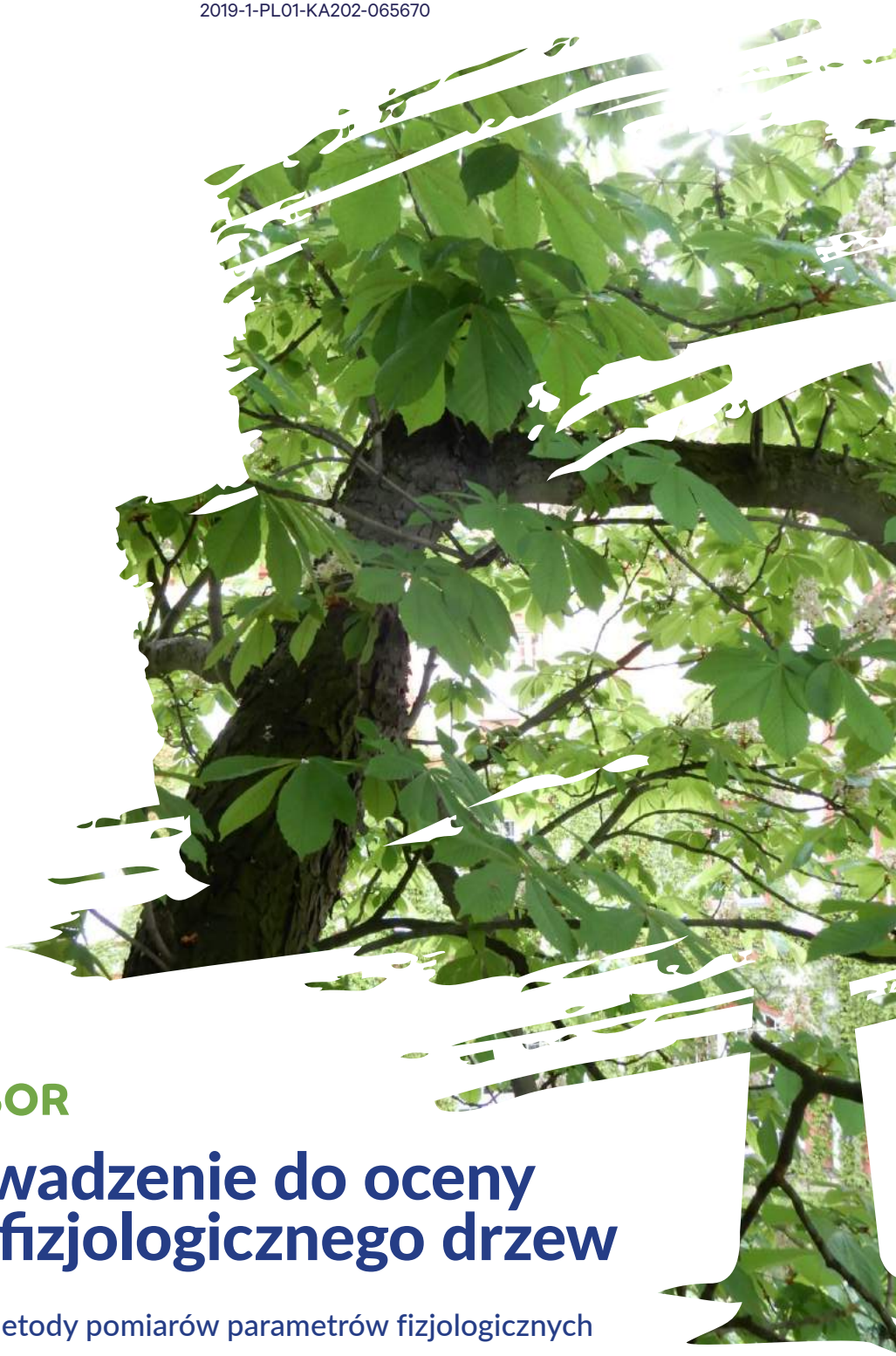
Partnerstwo na rzecz rozwoju standardów szkoleń diagnostów drzew w Europie środkowo-wschodniej.
2019-1-PL01-KA202-065670



TREE
ASSESSOR

Wprowadzenie do oceny stanu fizjologicznego drzew

Praktyczne metody pomiarów parametrów fizjologicznych

TREE
ASSESSOR

Wprowadzenie do oceny stanu fizjologicznego drzew

Praktyczne metody pomiarów parametrów fizjologicznych

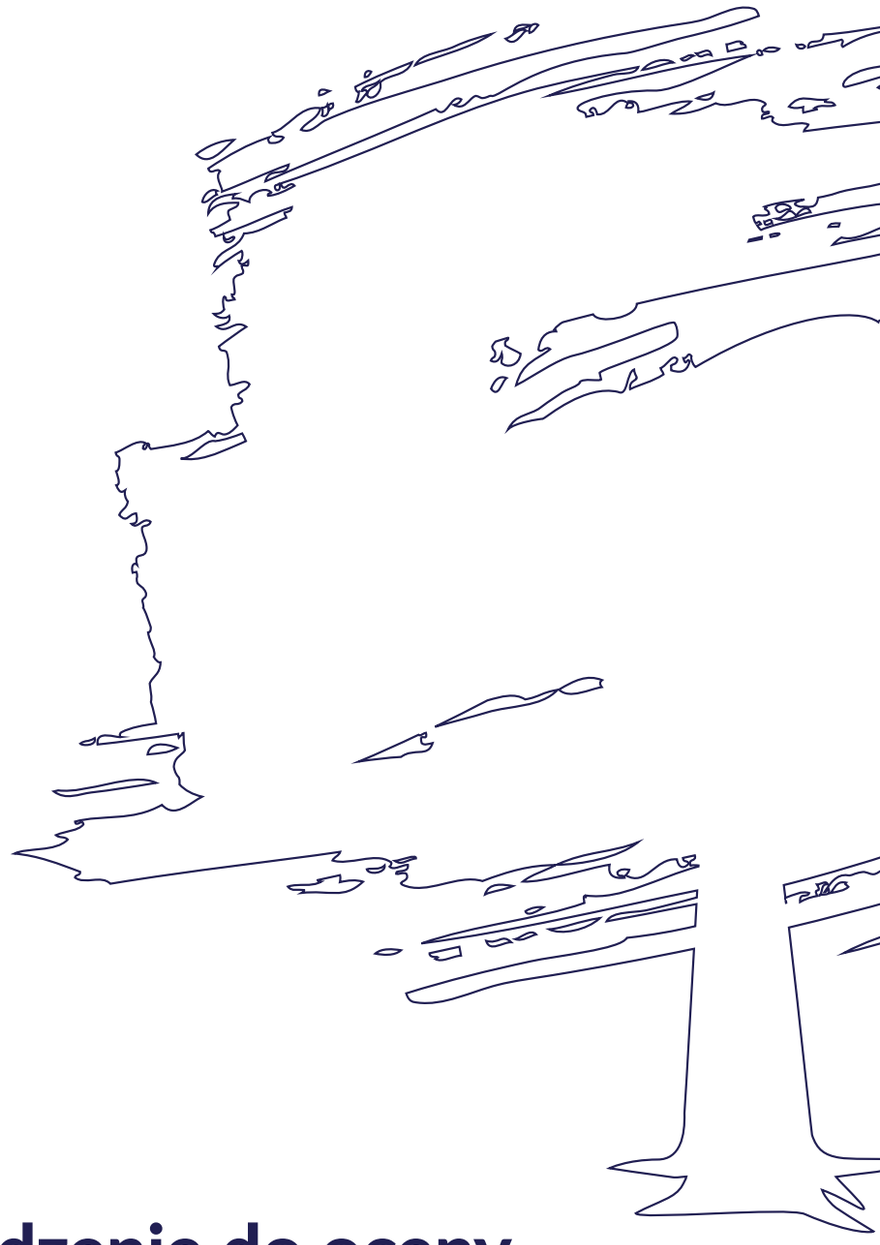
Autorzy: Tatiana Swoczyna, Piotr Tyszko-Chmielowiec
Zdjęcia: Piotr Tyszko-Chmielowiec (PTCh), Tatiana Swoczyna (TS)
Grafika i skład: Paulina Sanecka
Koordynacja redakcyjna serii: Beata Pachnowska
Projekt graficzny serii: Marta Płonka

INFORMACJE O PROJEKCIE:
Nazwa projektu i numer:
Partnerstwo na rzecz rozwoju standardów szkoleń diagnostów drzew w Europie środkowo - wschodniej 2019-1-PL01-KA202-065670
Czas trwania Projektu:
1.09.2019 – 31.12.2021
Lider Projektu:
Dobre Kadry Centrum badawczo-szkoleniowe Sp. z o.o. (Wrocław, Polska)
Partnerzy Projektu:
Instytut Drzewa sp. z o.o. (PL, replaced Firma Ekorozwoju sp. z o.o.),
Latvian Arboriculture Society (LV),
FAKOPP Enterprise Bt. (HU).

Publikacja powstała w wyniku projektu zrealizowanego przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach programu Erasmus+.
Publikacja odzwierciedla jedynie stanowisko autorów. Komisja Europejska ani Narodowa Agencja nie ponoszą odpowiedzialności za umieszczoną w niej zawartość merytoryczną ani za sposób wykorzystania zawartych w niej informacji.

Creative Commons License
© Copyright Instytut Drzewa sp. z o.o.

Wrocław 2021



TREE
ASSESSOR

Wprowadzenie do oceny stanu fizjologicznego drzew

Praktyczne metody pomiarów parametrów fizjologicznych

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

TREE ASSESSOR

Spis treści

WPROWADZENIE **7**
I. WZGLĘDNA ZAWARTOŚĆ CHLOROFILU **9**
II. FLUORESCENCJA CHLOROFILU **16**
III. WYMIANA GAZOWA (FOTOSYNTEZA NETTO, TRANSPIRACJA) **25**
IV. POTENCJAŁ WODNY **33**
LITERATURA **40**

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

Wprowadzenie

Drzewo jest złożonym organizmem, w którym stres środowiskowy objawia się zmianami w funkcjonowaniu wielu procesów fizjologicznych na poziomach od komórek poprzez tkanki do całego osobnika. Nie jest jednak łatwo pomierzyć te zmiany. W badaniach reakcji drzew na czynniki środowiska najczęściej stosuje się pomiary wymiany gazowej, zawartości i fluorescencji chlorofilu oraz potencjału wodnego liści, pędów, albo całego pnia. Należy jednak uwzględnić, że wyniki pomiarów na częściach drzewa nie muszą oddawać stanu procesów na poziomie całego organizmu. Nie zawsze jest możliwe stosowanie analogii do prostych, jednorocznych roślin zielnych, na których wykonano niezliczone prace badawcze w tym zakresie. Dodatkowo części drzewa posiadają pewną autonomię, a ich powiązania nie są dobrze znane. Także czasowa skala reakcji drzewa jest inna, niż w przypadku mniejszych, krótko żyjących roślin.
Pierwszą reakcją drzewa na stres jest adaptacja do niego, a następnie, w średnim terminie, wysiłek na rzecz jego skompensowania.

W odpowiedzi na suszę liście najpierw zamykają aparaty szparkowe, potem tracą turgor. W dalszej kolejności drzewo zrzuca część liści, czasem z całymi drobnymi gałązkami – w celu dalszego ograniczenia utraty wody. Obserwujemy więc przedwczesne przebarwianie i zrzucanie liści, a przy chronicznym niedoborze wody następuje zamieranie drzewa, zwykle od wierzchołka. Zamieranie zresztą może się ograniczyć do części wierzchołkowej, najtrudniejszej do zaopatrzenia w wodę – zwłaszcza u gatunków długowiecznych. Podobne do suszy objawy pociąga za sobą uszkodzenie korzeni na skutek ich przecięcia, nadsypania gleby, lub zagęszczenia gleby. Niedobór wody mobilizuje drzewo do silniejszego rozwoju systemu korzeniowego lub jego odtwarzania. W powiązaniu z mniejszą produkcją fotosyntetyczną (zamknięte szparki), prowadzi to do zmniejszenia przyrostu drzewa, zarówno pnia na grubość, jak i pędów na długość. Nowe liście zwykle mają mniejsze rozmiary i bywa, że mniejszą zawartość chlorofilu (są chlorotyczne). W przypadku wpływu szkodliwych substancji

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

(np. sól, pestycydy, solne aerosole, spaliny) mamy zwykle do czynienia także z widocznymi zmianami w aparacie asymilacyjnym.

Opisane wyżej zmiany są zwykle rozciągnięte na przestrzeni kilku przynajmniej lat. Po pierwsze, większość procesów zachodzi u drzew powoli, w innej niż ludzka skali czasowej. Po drugie, zdrowe drzewa posiadają obfite rezerwy, pomagające przetrwać trudne chwile. Po trzecie, czynnik środowiskowy czasem uruchamia kaskadę efektów, z których dopiero dalsze wywierają na drzewo znaczący i widoczny wpływ. Przykładem tego jest uszkodzenie korzeni, które – jeśli nawet jest nieznaczne – może uruchomić proces rozkładu przez grzyby, prowadzący do osłabienia całego organizmu i jego śmierci lub upadku dobre kilka lat po wydarzeniu.
Współczesne metody badawcze pozwalają nam ocenić zakres reakcji drzewa na zaobserwowany stres, a także wykryć reakcję na stres już zanim pojawiły się spowodowane nim widoczne uszkodzenia. Każda metoda ma swoje plusy i minusy. Jako że drzewo stara się równoważyć procesy fizjologiczne w skali całego organizmu, jest możliwe, że wczesne objawy jego osłabienia nie zostaną wykryte przez konkretny pomiar. Ponadto, każda z metod może ujmować określony fizjologiczny problem, dlatego warto byś świadomym zarówno mocnych stron każdej stosowanej metody, jak jej ograniczeń. W istocie rzeczy połączenie różnych metod jest najlepszym sposobem na otrzymanie możliwie pełnego wglądu w stan zdrowia drzewa.
Autorzy pragną podziękować Panu prof. dr hab. Stefanowi Pietkiewiczowi oraz Panu dr Tomaszowi Horaczkowi za cenne uwagi do niniejszego rozdziału.

Fot 1 (po lewej): dr inż. Tatiana Swoczyna (fot. Jacek Mojski)
Fot 2 (po prawej): dr. inż. Piotr Tyszko-Chmielowiec (fot. Woong Lee)

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

I.

Względna zawartość chlorofilu

Produkcja cukrów przez rośliny możliwa jest dzięki cząsteczkom chlorofilu (Chl), zapewniającym zamianę energii światła w energię chemiczną. Dlatego zawartość chlorofilu w organach roślinnych, przede wszystkim w liściach, ma ogromne znaczenie. Obniżona zawartość chlorofilu może wprost ograniczać potencjał fotosyntetyczny i, w konsekwencji, produkcję biomasy. Ten fakt ma istotne znaczenie nie tylko dla wzrostu drzew, ale też dla ich potencjału do naprawy uszkodzeń wywołanych stresem.

W roślinach wyższych występują 2 typy cząsteczek chlorofilu: *a i b*, współpracując ze sobą w pozyskiwaniu energii światła. Zawartość chlorofilu w liściach (i proporcja cząsteczek *a/b*) zależy od warunków świetlnych, zwykle liście zacienione mają wyższą zawartość chlorofilu (Hatamian i in. 2014). Dostępność wody również wpływa na zawartość Chl. Liście roślin drzewiastych, które rozwinęły się w okresie suszy, mogą mieć mniejsze liście z gęściej upakowanymi komórkami miękiszu, zawierającego mniej przestworów komórkowych (Poorter i in. 2009), dlatego mogą wykazywać wyższe stężenia chlorofilu niż te, które wyrosły przy optymalnym dostępie do wody (Borowiak i Korszun 2011).

Ponieważ w liściach pewna część azotu (N) jest wbudowana w cząsteczki chlorofilu, zawartość Chl w znacznym stopniu zależy od odżywienia rośliny azotem (Percival i in. 2008). Dlatego w rolnictwie zapotrzebowanie roślin na azot jest często określane poprzez oznaczenie lub oszacowanie zawartości chlorofilu. Tym niemniej w naturalnych warunkach deficyt azotu w roślinach może być spowodowany nie tylko niedostatkiem tego pierwiastka w glebie. Mineralne formy azotu dostępne dla roślin, tzn. jony azotanowe i amonowe, uwalniane są z materii organicznej przez mikroorganizmy glebowe. Silna susza może ograniczyć aktywność tych mikroorganizmów i tym samym zaopatrzenie roślin w azot. Dla wielu gatunków roślin również silne zakwaszenie gleby (niskie pH) może zmniejszyć dostępność azotu.
Drzewa rosnące w warunkach ukształtowanych przez człowieka często doświadczają niekorzystnych warunków glebowych (Ryc.1).

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

Na terenach pokrytych nawierzchnią nieprzepuszczalną wzrost drzew jest zwykle determinowany przez ograniczoną objętość gleby w tzw. misach chodnikowych. Zwykle prowadzi to do wyczerpania składników pokarmowych, które nie są uzupełniane w procesie rozkładu materii organicznej. Brak materii organicznej i nieobecność destruentów, takich jak bezkręgowce i mikroorganizmy, przyczynia się do zagęszczenia gleby. Z kolei zagęszczona gleba jest uboga w tlen niezbędny do podtrzymania aktywności fauny i mikroorganizmów glebowych. W rezultacie proces degradacji gleby powoli postępuje. W przypadku drzew rosnących na glebach silnie zagęszczonych zawartość chlorofilu w ich liściach może rzeczywiście być ograniczona.

Bezpośrednia metoda oznaczania zawartości chlorofilów w tkankach liści wymaga ekstrakcji chlorofilu w określonym rozpuszczalniku, a następnie spektrofotometrycznej analizy roztworu. Wynikiem tej metody jest ilość chlorofilu w liściu wyrażona jako koncentracja chlorofilu w µg Chl na 1 g tkanki lub zawartość chlorofilu w µg Chl na 1 cm^2 tkanki. Stosunek zawartości chlorofilu *a* do chlorofilu *b* może dostarczyć informacji o oddziaływaniu stresu. Tym niemniej interpretacja tych wyników wymaga większej wiedzy. Ponadto konieczne jest pobranie próbek z terenu i dostarczenie do laboratorium, a laboratoryjne analizy są relatywnie czaso- i kosztochłonne.

Opracowane w ostatnich czasach metody optyczne pozwalają na szybkie i nieinwazyjne oznaczenie zawartości chlorofilu. Oparte są one na zjawisku absorbancji i/lub odbiciu światła przez żywy liść. Otrzymane wyniki nie przedstawiają zawartości chlorofilu w odniesieniu do powierzchni liścia ani jego koncentracji w tkance, wskazują jednak względną zawartość

Ryc. 1. Chloroza liści miłorzębu spowodowana zasoleniem gleby przyulicznej. (TS)

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

Ryc. 2. Zaburzone wybarwianie wiosennych liści u klonu polnego, związane z ubiciem gleby i suszą w kwietniu, Warszawa 2007. (TS)

chlorofilu, która w warunkach pracy terenowej zwykle wystarcza (Ryc.3). Obecne na rynku urządzenia są przenośne, niewielkich rozmiarów, zasilane bateriami, natychmiast wyświetlają wynik. Niektóre umożliwiają rejestrację wyników w pamięci urządzenia i przeniesienie ich na komputer.

Mierniki chlorofilu oparte na zasadzie absorbancji mierzą absorbancję liścia w odniesieniu do fal światła dwóch długości: 620-660 nm (światło czerwone, absorbowane przez chlorofil) oraz 930-960 nm jako promieniowanie referencyjne, służące dopasowaniu pomiaru do cech anatomicznych liścia. Dwie diody świetlne (LED) w emiterze wysyłają czerwone i podczerwone promieniowanie. Światło przechodzi przez blaszkę liściową i trafia na receptor, który zamienia sygnał świetlny na sygnał elektryczny (Ryc. 4).

Cząsteczki chlorofilu liścia pochłaniają w pewnej ilości czerwone promieniowanie, a obliczona różnica między niepochłoniętym czerwonym i podczerwonym promieniowaniem wyraża względną zawartość chlorofilu. Tak zwany wskaźnik zawartości chlorofilu, proporcjonalny do ilości Chl w próbce, daje szacunkową jego zawartość, potwierdzoną licznymi badaniami (Loh i in. 2002, Chang i Robison 2003, Torres-Netto i in. 2005).

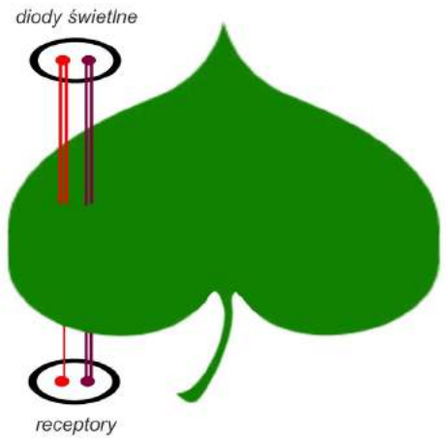
Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

Pierwszym tego typu urządzeniem dostępnym na rynku był miernik **SPAD-502** (firmy Konica-Minolta, Osaka, Japonia), początkowo zaprojektowany do diagnozowania zawartości azotu w liściach i określania potrzeb nawozowych w uprawie ryżu (Ryc.5). Nowsza wersja SPAD-502plus pozwala zapamiętać do 30 pomiarów i obliczyć średnią. Najnowsza wersja SPAD-502PDL posiada wbudowany rejestrator danych, umożliwiający transmisję do komputera, oraz możliwość podłączenia jednostki GPS. Kalibracja wykonywana jest po włączeniu miernika. Możliwe jest też ustawienie wartości kompensujących.

Ryc. 3. Stopniowy zanik chlorofilu można stwierdzić za pomocą chlorofilomierza zanim ujawnią się widoczne gołym okiem zmiany. (TS)

Chlorofilomierz CCM-200 plus (firmy OptiSciences, Tyngsboro, Massachusetts, USA) działa na podobnej zasadzie. Poza wyświetlaniem wyników na bieżąco, rejestrator danych i kabel USB umożliwiają transmisję danych na komputer. Funkcja obliczania średniej, zarówno z wielu pomiarów, jak i z 10-ciu do 30-tu, umożliwia eliminację wyników spoza zakresu dwukrotnego sigma (odchylenia standardowego). Urządzenie posiada port do przyłączenia zewnętrznej jednostki GPS.

Chlorofilomierz CL-01 (firmy Hansatech Instruments Ltd., Kings Lynn, Wielka Brytania) również należy do lekkich, niewielkich instrumentów, wykorzystujący absorbancję promieniowania o długości 620 i 940 nm. Pozwala wykonać do 60 pomiarów, nie umożliwia transmisji danych do komputera.



Ryc. 4. Zasada działania miernika chlorofilu opartego na absorbancji światła. (TS)

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

Ryc. 5. Pomiar względnej zawartości chlorofilu za pomocą miernika chlorofilu SPAD-502, firmy Konica-Minolta, Osaka, Japonia. (TS)

MultispeQ (firmy PhotosynQ Inc., East Lansing, Michigan, USA) to nowe, wielofunkcyjne urządzenie, pozwalające na pomiar licznych parametrów aktywności fotosyntetycznej liści. Jest ono wyposażone w LED-y o różnych długościach emitowanego światła i czujniki pozwalające na oszacowanie zawartości chlorofilu i antocyjanów. Miernik nie posiada ekranu, przeznaczony jest do współpracy ze smartfonem (opartym na systemie Android), tabletem, ewentualnie komputerem z systemem Windows, MacOS lub Linux, łącząc się przez Bluethooth lub mikro-USB. Ideą twórców było połączenie urządzenia z platformą PhotosynQ (https://photosynq.org), wspierającą otwartą naukę i łączącą szersze grono naukowców i praktyków, stosujących ten instrument (Kuhlgert 2016, MultispeQ 2020). To podejście pozwala na gromadzenie i analizę danych zbieranych przez grupy użytkowników, pracujących nad jednym zadaniem.

Zawartość chlorofilu może być również określana metodą pomiaru światła odbitego. Komórki liścia odbijają znaczną część promieniowania słonecznego w zakresie bliskiej podczerwieni (700-1100 nm), podczas gdy ich reemisja światła widzialnego (400-700 nm) jest stosunkowo niska w związku z pochłanianiem przez barwniki fotosyntetyczne. Różnica w odbijaniu światła widzialnego i bliskiej podczerwieni jest wykorzystywana do wyliczenia tzw. znormalizowanego różnicowego wskaźnika wegetacji (ang. *normalized difference vegetation index,* NDVI). Miernikiem skonstruowanym do pomiarów NDVI w liściach jest PlantPen NDVI (firmy Photon Systems Instruments, Drasov, Czechy).
Mierniki optyczne podają wyniki pomiarów w jednostkach względnych, ich wartości mogą różnić się znacznie między sobą. Dlatego przy podawaniu wyników zawsze należy podać typ urządzenia. Wiele artykułów naukowych przedstawia

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

i omawia wyniki uzyskane za pomocą opisanych wyżej mierników. Dzięki temu użytkownik może porównać swoje wyniki z danymi z publikacji i ocenić, czy są one wartościami optymalnymi, czy nie. Jednakże zachęcamy każdego właściciela urządzenia do przeprowadzenia własnych testów na licznych próbkach liści drzew różnych gatunków, rosnących w różnych warunkach środowiska, by samemu móc określić poziom wartości, które mogą być uznane za optymalne. Chociaż wyniki zawartości chlorofilu mierzone optycznie mają charakter uniwersalny, względna zawartość chlorofilu uzyskana u poszczególnych gatunków może do pewnego stopnia różnić się (Loh i in. 2002). Tym niemniej względna zawartość chlorofilu jest w większym stopniu zależna od warunków środowiskowych niż od cech gatunkowych większości rosnących u nas drzew. Trudno jest określić wartości optymalne dla poszczególnych gatunków. Co więcej, względna zawartość chlorofilu zależy też od wieku liścia.

Doświadczony użytkownik będzie w stanie zinterpretować wyniki pod kątem odpowiednich warunków glebowych. Chociaż względna zawartość chlorofilu w badaniach roślin uprawnych wiązana jest ze stanem odżywienia roślin w azot, w przypadku drzew w krajobrazie powinna być traktowana jako ogólny wskaźnik lepszych lub gorszych warunków glebowych. W siedliskach naturalnych lub półnaturalnych dostępność azotu jest silnie związana z przemianą materii organicznej. Im więcej materii organicznej, tym więcej azotu jest uwalniane do roztworu glebowego. To samo odnosi się do pozostałych składników odżywczych, czyli potasu, fosforu, magnezu itd. Dłuższa susza przeważnie hamuje przemianę materii organicznej w glebie, ponieważ ogranicza dostępność wody dla mikroorganizmów glebowych. Również większe ubicie gleby ogranicza dostępność tlenu niezbędnego do oddychania dla mikroświata glebowego.

Dlatego nietypowe (niedostatecznie wysokie) wyniki względnej zawartości chlorofilu sugerują potrzebę poprawienia warunków glebowych w zasięgu systemu korzeniowego.

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

Mierniki chlorofilu nie mogą jednoznacznie wskazać obfitej dostępności azotu, lecz jedynie jego niedostatek, dzięki temu mogą stać się użytecznym narzędziem dla arborystów do wykrywania stresu u drzew, w szczególności młodych. Wymienione wyżej urządzenia są lekkie, przenośne, wygodne do trzymania w dłoni i łatwe w obsłudze, poza pojemnością pamięci wewnętrznej, nie mają ograniczeń w gromadzeniu danych z pomiarów, a poza ładowaniem baterii nie wymagają żadnych dodatkowych kosztów. Otrzymane wyniki pomiarów stosunkowo łatwo jest zinterpretować.

PODSUMOWANIE

1. Zawartość chlorofilu w liściach jest pośrednim wskaźnikiem zaopatrzenia rośliny w azot.

2. Niższa zawartość chlorofilu może wskazywać nie tylko niedostatek azotu w glebie, ale również niewłaściwy stan gleby.

3. W przypadku pracy w terenie względna zawartość chlorofilu jest dobrym wskaźnikiem niewłaściwych warunków glebowych dzięki nieinwazyjnej metodzie pomiarów i szybkim odczytom wyników przy posługiwaniu się przenośnym chlorofilomierzem.

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

II.

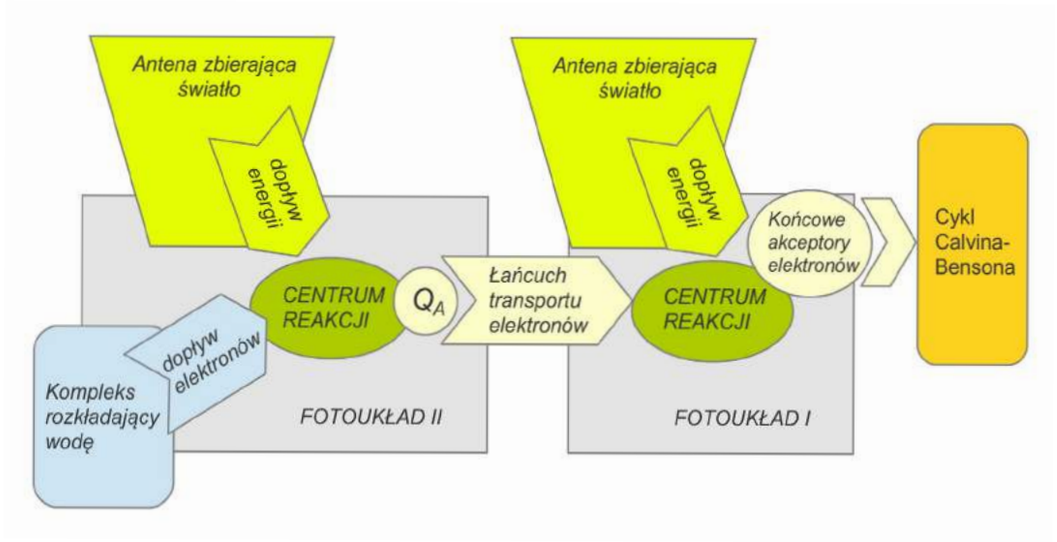
Fluorescencja chlorofilu

U roślin wyższych w procesie pochłaniania energii światła współpracują dwa typy cząsteczek chlorofilu: *a* i *b*, większość z nich zgromadzona jest w tzw. antenach pochłaniających energię światła. Barwniki antenowe gromadzą energię wzbudzenia i kierują ją do tzw. centrów reakcji (Strasser i in. 2004, Kalaji i Łoboda 2009). W błonach wewnętrznych chloroplastów występują dwa typy fotoukładów (ang. *photosystem*), PSII i PSI, każdy zawiera z nich zawiera dwie specyficzne cząsteczki chlorofilu *a*, działające razem jako centrum reakcji (uproszczony schemat powiązań między fotoukładem II i I przedstawiono na Ryc. 6, z zastrzeżeniem, że struktury uczestniczące w procesach fotochemicznych są znacznie bardziej skomplikowane i zróżnicowane).

Energia światła jest przekształcana w energię chemiczną, gdy jedna z cząsteczek chlorofilu w centrum reakcji utraci wzbudzony elektron, który zostanie przechwycony i przeniesiony na tzw. pierwszy akceptor elektronów. W fotoukładzie II jest to cząsteczka plastochinonu Q_A, z której następnie elektron jest przekazywany do kolejnych molekuł w tzw. łańcuchu transportu elektronów aż po centrum reakcji fotoukładu I. Utracony elektron z centrum reakcji PSII jest uzupełniany elektronem pochodzącym z reakcji rozkładu cząsteczki wody na elektrony, protony i atom tlenu, która zachodzi w tzw. kompleksie rozkładającym wodę (ang. *water splitting complex*) lub inaczej: kompleksie wydzielającym tlen (ang. *oxygen evolving complex,* OEC), na stronie donorowej fotoukładu II.

Jeśli energia wzbudzenia nie zostanie spożytkowana w reakcjach fotochemicznych, jest wydzielana w postaci ciepła i w pewnym stopniu jako promieniowanie świetlne, czyli fluorescencja. Reakcje fotochemiczne, rozpraszanie energii poprzez ciepło oraz fluorescencja są procesami konkurującymi ze sobą w utylizacji energii światła, dlatego pomiar fluorescencji metodami optycznymi można zastosować do oceny równowagi między reakcjami fotochemicznymi

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego



Ryc. 6. Uproszczony schemat fotosyntetycznego transportu elektronów. (TS)

a niefotochemicznym rozpraszaniem zaabsorbowanego światła (Kalaji i in. 2016). Stało się to możliwe dzięki rozwinięciu techniki i protokołów pomiarów. Wielkość fluorescencji i jej przebieg zależy od stanu oksydacji/redukcji centrów reakcji, donorów i akceptorów elektronów, od reakcji w łańcuchu transportu elektronów oraz od konfiguracji barwników zaangażowanych w fotosyntezę (Kalaji i Łoboda 2009).

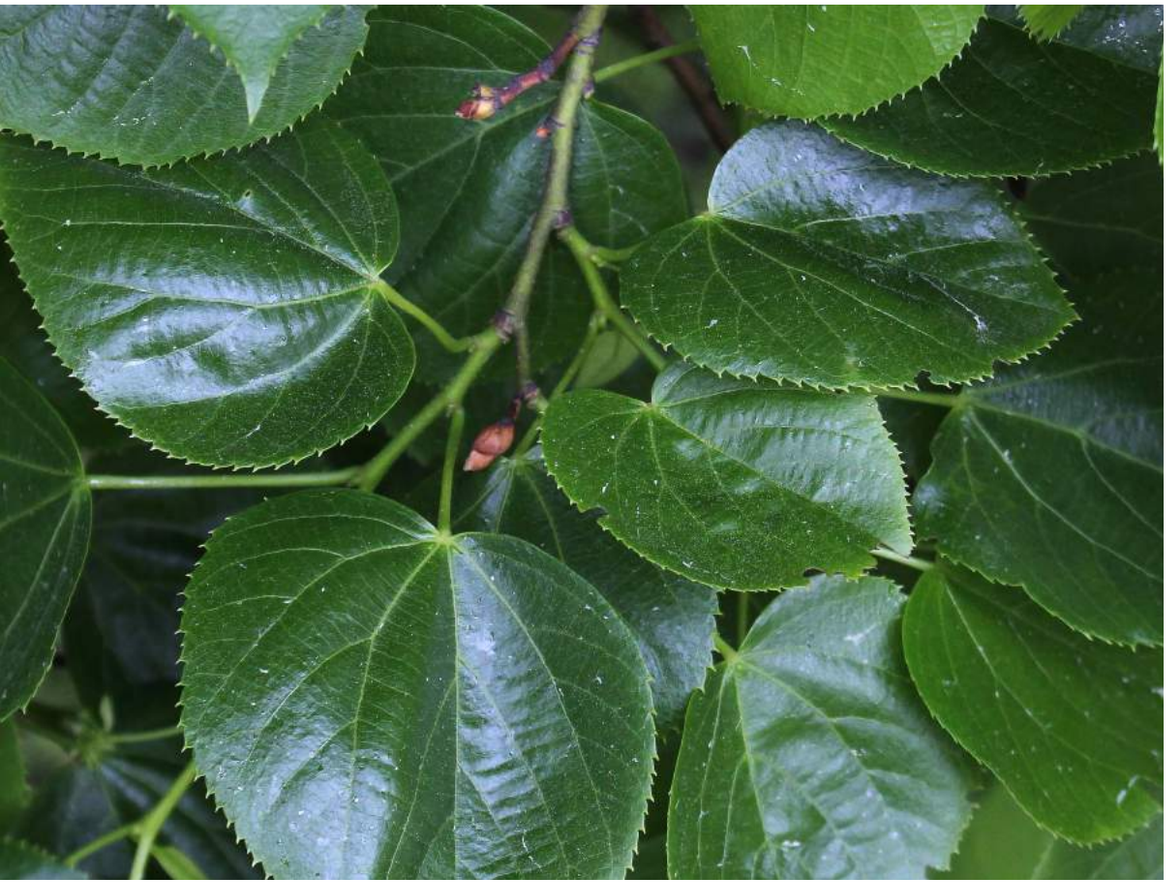
Analiza sygnału fluorescencji chlorofilu *a* z fotoukładu II stała się ostatnio popularną metodą badań, stosowaną do różnych celów, w tym do wczesnego wykrywania stanu stresu u roślin. W szerokiej praktyce wykorzystywane są dwie metody badania stresu środowiskowego. Pierwsza oparta jest na modulowanym pomiarze fluorescencji (ang. *pulse-amplitude-modulation,* PAM). Fluorymetry typu PAM stosują światło aktyniczne, tzn. wywołujące fotosyntezę (niebieskie lub czerwone) oraz dodatkowo emitowane światło pomiarowe, nie inicjujące reakcji fotochemicznych, a służące do oceny stanu próbki bez wywoływania tych reakcji (Kalaji i Łoboda 2009, Kalaji i in. 2014). Monitoring pulsów fluorescencji w odpowiedzi na pulsy światła pomiarowego i wysycające pulsy światła aktynicznego pozwala na tzw. analizę wygaszania fotochemicznego, związanego z fotochemicznym wykorzystaniem energii światła w centrach reakcji, oraz wygaszania niefotochemicznego, tzn. rozpraszania energii poprzez emisję ciepła (Schreiber 2004, Kalaji i Łoboda 2009).

Druga metoda polega na wykorzystaniu światła aktynicznego jako światła pomiarowego i została zastosowana we fluorymetrach typu Plant Efficiency Analyser (PEA). Zastosowanie diod świetlnych (LED) o odpowiedniej długości fal oraz detektora o wysokiej rozdzielczości pomiaru czasu pozwala na szybki i precyzyjny pomiar sygnału fluorescencji po jednorazowym naświetleniu próbki (Kalaji i Łoboda 2009, Kalaji i in. 2014). Stąd ta metoda umożliwia liczne, nie zabierające czasu pomiary w sytuacji, gdy konieczne jest zebranie dużej ich liczby

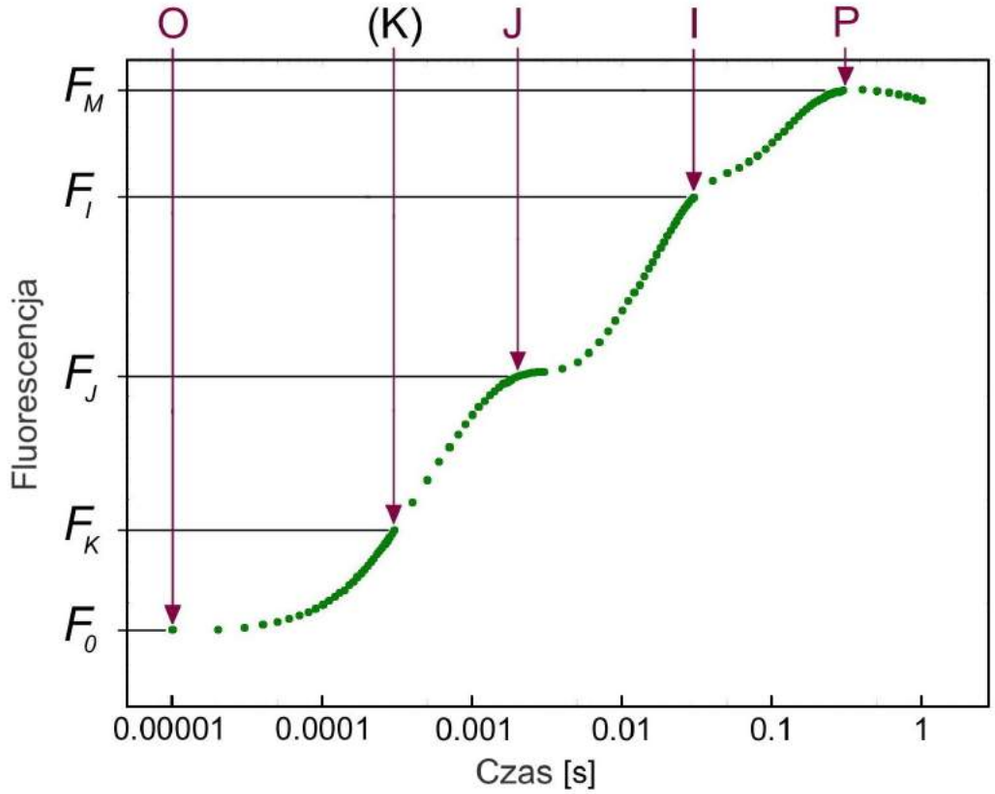
Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

w stosunkowo krótkim czasie (w tych samych warunkach temperatury, oświetlenia itp.) w badaniach terenowych.

Aby zbadać funkcjonowanie fotoukładu II, konieczne jest wygaszenie wszystkich reakcji fotochemicznych w próbce. Robi się to przy pomocy zaciemniających klipsów, zakładanych na liść na 25-30 minut przed dokonaniem pomiaru. Po adaptacji próbki w ciemności naświetla się ją światłem o długości fali 660 nm i intensywności min. 3000 µmol $m^{-2}s^{-1}$. Pomiary sygnału fluorescencji, wykonywane początkowo co 10 µs, dostarczają danych do wykreślenia przebiegu jej wzrostu od momentu naświetlenia do osiągnięcia maksymalnej wartości, który analizowany jest w postaci wykresu krzywej indukcji fluorescencji, gdzie oś czasu przedstawiona jest w skali logarytmicznej. W literaturze anglojęzycznej takie zobrazowanie fluorescencji nazywane jest krzywą fluorescencji szybkiej (ang. *prompt fluorescence* lub *fast fluorescence*). Na takiej krzywej wskazać można 4 punkty, opisywane jako O, J, I oraz P (i czasem dodatkowy K), których analiza pozwala na wgląd w stan elementów fotoukładu II, odpowiedzialnych za przebieg poszczególnych procesów, obejmujących absorpcję energii światła i jej przemianę w energię chemiczną (Strasser i in. 2004, Ryc. 7).



Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego



Ryc. 7. Krzywa indukcji fluorescencji otrzymana z fluorymetru typu PEA, po adaptacji próbki w ciemności, a następnie naświetleniu silnym światłem aktynicznym. F_0 – fluorescencja minimalna w stanie zaadaptowania do ciemności, F_m –fluorescencja maksymalna w stanie zaadaptowania do ciemności, O(K)JIP – kolejne stopnie wyznaczone umownie na krzywej fluorescencji: O=F_0, K przy 300 µs, J przy 2 ms, I przy 30 ms, P=F_m. Wielkość fluorescencji podawana jest w jednostkach względnych, przyjętych przez producenta urządzenia. (TS)

W wielu badaniach stosowane są tylko podstawowe parametry fluorescencji chlorofilu *a*, służące do wykrycia stresu u roślin. Są to:

FLUORESCENCJA MINIMALNA
w stanie zaadaptowania do ciemności
– F_0,

FLUORESCENCJA MAKSYMALNA
w stanie zaadaptowania do ciemności
– F_m (lub F_M)

oraz

MAKSYMALNA WYDAJNOŚĆ KWANTOWA FOTOUKŁADU II
– F_v/F_m, policzona jako $(F_m - F_0)/F_m$.

Te parametry można otrzymać z fluorymetrów typu PEA, jak i PAM (Schreiber 2004, Kalaji i in. 2017).

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

W oparciu o analizę punktów O, J, I i P został opracowany tzw. test JIP (Strasser i in. 2004), który wprowadził liczne parametry opisujące przepływy energii wewnątrz i wokół centrów reakcji licznych fotoukładów II zlokalizowanych w błonach wewnętrznych chloroplastów. W tej analizie można ocenić wielkość przepływów energii na poziomie absorpcji fotonów (ABS), wychwytywania wzbudzonych elektronów (TR, od ang. *trapping*), rozpraszania energii w postaci ciepła (DI, od ang. *dissipation*), transportu elektronów ku fotoukładowi I (ET, od ang. *electron transport*) oraz redukcji końcowych akceptorów elektronów po stronie akceptorowej fotoukładu I (RE, od ang. *reduction*) (Ryc. 6). W szczególności warto przyjrzeć się parametrom opisującym maksymalną wydajność kwantową u początku reakcji fotochemicznych (czyli przy czasie t=0) – TR_0/ABS (oznaczaną też jako φ_{Po}), która jest równa F_v/F_m, oraz prawdopodobieństwo, że wychwycony elektron zostanie przekazany z plastochinonu Q_A do łańcucha transportu elektronów w kierunku fotoukładu I – ET_0/TR_0 (oznaczane też jako ψ_{Eo}) (Strasser i in. 2004). Na podstawie licznych eksperymentów laboratoryjnych prof. Reto Strasser wraz ze współpracownikami zaproponowali kolejne parametry, pozwalające na wgląd w kondycję fizjologiczną liści związaną z fotosyntezą, i pośrednio w kondycję roślin. Parametr RC/ABS odzwierciedla liczbę aktywnych (zdolnych do oddania elektronu) centrów reakcji w stosunku do uśrednionych rozmiarów anten. RC/CS_0 jest miarą gęstości aktywnych centrów reakcji w jednostce powierzchni próbki (przy czasie t=0). Stosunek ABS/CS_0, mierzony jako fluorescencja minimalna w stanie zaadaptowania do ciemności (F_0), gdy jest podwyższony, może odzwierciedlać trudności w wychwytywaniu elektronów w początkowej fazie przemiany energii świetlnej. Jako syntetyczny parametr, obrazujący ogólną kondycję aparatu fotosyntetycznego, został zaproponowany tzw. wskaźnik witalności, ang. *Performance Index,* PI_{ABS} (Strasser i in. 2004). Łączy on trzy czynniki wpływające na funkcjonowanie fotoukładu II: pulę aktywnych centrów reakcji w stosunku do sumy chlorofilu antenowego (RC/ABS), wydajność wychwytywania wzbudzonych elektronów z centrów reakcji ($TR_0/ABS=\varphi_{Po}$) oraz prawdopodobieństwo przekazywania wychwyconych elektronów do łańcucha transportu elektronów ($ET_0/TR_0=\psi_{Eo}$). Sposób obliczania PI_{ABS} przedstawiono poniżej:

Ryc. 8. Metoda fluorescencji chlorofilu a może być pomocna przy ocenie kondycji młodych drzew miejskich.(TS)

$$PI_{ABS} = RC/ABS \times \varphi_{Po}/(1-\varphi_{Po}) \times \psi_{Eo}/(1-\psi_{Eo})$$

Mnogość parametrów fluorescencji chlorofilu może dezorientować osoby nie posługujące się tą metodą na co dzień, dlatego warto wymienić i skomentować kilka parametrów, mogących dostarczyć przydatnych w praktyce informacji. Są to:

F_0 – fluorescencja minimalna po zaadaptowaniu próbki do ciemności, podwyższone wartości mogą wskazywać przedłużający się stres, między innymi suszy lub zasolenia (Percival 2005, Percival i in. 2006, Wang i in. 2012); otrzymane wielkości parametru zależą m. in. od rodzaju urządzenia; ponieważ fluorescencja mierzona jest w jednostkach względnych, zalecamy porównanie wyników pomiarów u egzemplarzy poddawanych ocenie z pomiarami u drzew lub roślin tego samego gatunku w dobrej kondycji, w tym samym stadium rozwoju i wieku oraz rosnących w optymalnych warunkach;

F_v/F_m – maksymalna wydajność kwantowa fotoukładu II (oznaczana również jako TR_0/ABS lub φ_{Po}), optymalne wartości to minimum 0,8 (Kalaji i in. 2014); w przypadku niezbyt wielkiego stresu może nie wykazać obniżonych wartości; tym niemniej niższe wartości niż optymalne mogą zwiastować problem suszy, zasolenia, stresu cieplnego lub choroby wiązek przewodzących;

ET_0/TR_0 (ψ_{Eo}) – prawdopodobieństwo, że wychwycony elektron zostanie przekazany z plastochinonu Q_A do łańcucha transportu elektronów w kierunku fotoukładu I; w przypadku przedłużającej się suszy, podwyższonych temperatur, nieznacznego zasolenia czy zanieczyszczenia gleby wartości tego parametru mogą być obniżone, nawet gdy F_v/F_m nie wykazuje zmniejszonych wartości;

RC/CS_0 – miara gęstości aktywnych centrów reakcji w jednostce powierzchni próbki (przy czasie t=0); ten parametr jest wrażliwy na niedostateczne odżywienie rośliny azotem oraz przedłużającą się suszę (Swoczyna i in. 2019), ale też w znacznym stopniu zależy od stadium rozwojowego liści (Lepeduš i in. 2010);

PI_{ABS} – syntetyczny parametr, bardzo wrażliwy na rozmaite czynniki stresowe; trudno jest interpretować zmierzone wartości bez odniesienia do wartości referencyjnych, ponieważ wartości PI_{ABS} mogą wahać się od części dziesiętnych do kilkunastu jednostek; tym niemniej przy porównaniu drzew tego samego gatunku, rosnących na tym samym siedlisku, np. wzdłuż tej samej ulicy, parametr ten może wskazać egzemplarze o najlepszej i najsłabszej kondycji (Hermans i in. 2003).

Przedstawione powyżej parametry mogą dostarczyć wiele pośredniej informacji o stanie fizjologicznym rośliny, jednak należy pamiętać, że rośliny wieloletnie, zwłaszcza drzewa, dążą do utrzymania pewnej równowagi w procesach fizjologicznych na poziomie całego organizmu. Dlatego w badaniach terenowych byłaby wskazana bardziej kompleksowa interpretacja wyników fluorescencji chlorofilu (Ugolini i in. 2012). Trzeba podkreślić, że aby właściwie zinterpretować wyniki, należy porównać wszystkie otrzymane wyniki roślin poddanych stresowi do wyników egzemplarzy referencyjnych (Kalaji i in. 2014). W warunkach terenowych na wyniki

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

fluorescencji chlorofilu wpływa wiele czynników środowiskowych, dlatego raczej trudno jest wskazać uniwersalne wartości referencyjne.

Bardzo ważna jest pora dnia. W słoneczne południe funkcjonowanie fotoukładu II zmienia się, dochodzi do tzw. fotoinhibicji, czyli obniżenia wydajności reakcji fotochemicznych (Kalaji i in. 2016, Mlinarić i in. 2017), dlatego odczyty fluorescencji mogą prowadzić do błędnych wniosków. Ponadto fotoinhibicję mogą wywoływać niskie temperatury w połączeniu z intensywnym światłem (np. o poranku). Dlatego należy unikać pomiarów w chłodne poranki, a z kolei w ciepłych okresach dla zachowania optymalnych warunków pomiaru należy zakończyć je około 11:00. Należy też wziąć pod uwagę położenie liścia. Liście dobrze naświetlone, po południowej stronie, nie mogą być porównywane z liśćmi zacienionymi. Na wyniki fluorescencji wpływa też wiek liścia, młodsze mogą dawać wyższe wartości fluorescencji niż starsze z powodu cieńszej skórki, łatwiej przepuszczającej sygnały świetlne, z drugiej strony bardzo młode liście bywają bardziej wrażliwe na fotoinhibicję. Problem wpływu tymczasowej fotoinhibicji (w godzinach południowych) można częściowo rozwiązać poprzez zbiór próbek liści, umieszczenie ich w odpowiedniej torebce, zabezpieczającej przed odwodnieniem i pozostawienie w temperaturze pokojowej na 4-5 godzin przed pomiarem (Pollastrini i in. 2016).

Na rynku są obecne m.in. następujące fluorymetry, przenośne, małe i lekkie:

HandyPEA i PocketPEA (firmy Hansatech Instruments Ltd., Kings Lynn, Wielka Brytania) – to pierwsze mierniki z pomiarem światła o dużej częstotliwości pomiaru, pozwalające na zobrazowanie wykresu krzywej OJIP (Ryc. 10); pakiet zawiera oprogramowanie na system Windows pozwalające na transmisję danych na komputer oraz ich analizę;

FluorPen FP 110 (firmy Photon Systems Instruments, Drasov, Czechy) – to lekki, przenośny, zasilany bateriami fluorymetr typu PAM, umożliwiający również analizę OJIP; miernik i pakiet zawiera klips lub klipsy do adaptacji próbki w ciemności, zintegrowany moduł GPS, łącze USB i Bluetooth do transmisji danych oraz oprogramowanie do analiz;

MultispeQ (firmy PhotosynQ Inc., East Lansing, Michigan, USA) – ten miernik łączy funkcję fluorymetru PAM z pomiarem chlorofilu i funkcją spektrometru; urządzenie, wygodne do trzymania w dłoni, nie posiada ekranu lecz przeznaczone jest do współpracy z systemem Android na smartfonie lub tablecie ale też z systemami Windows, Mac OS i Linux na komputerze; łączy się przez Bluetooth lub mikro-USB.

Należy tu zaznaczyć, że w przypadku niektórych fluorymetrów adaptacja próbki do ciemności uzyskiwana jest dzięki specjalnym klipsom (Ryc. 9), które mogą nie wchodzić w skład pakietu urządzenia i muszą być zakupione oddzielnie. Odnosi się to do większości mierników umożliwiających analizę OJIP. W badaniach terenowych wygodniej jest używać większej liczby klipsów, by zaoszczędzić czas.

Wybierając urządzenie trzeba wziąć pod uwagę, które parametry będą nas interesować. Wiele fluorymetrów pozwala uzyskać tylko kilka parametrów, których interpretacja w badaniach terenowych może być niejednoznaczna. Co więcej, nawet gdy producent deklaruje możliwość pomiaru parametrów, dla których niezbędna jest adaptacja do ciemności (jak F_v/F_m), urządzenie może nie umożliwiać odpowiedniego zaciemnienia próbki i wówczas zebrane próbki trzeba dostarczyć do laboratorium z ciemniowym pomieszczeniem, co wyklucza szybkie pomiary w terenie. Dlatego przed zakupem urządzenia należy się upewnić, czy pozwala ono na adaptację liści do ciemności w warunkach terenowych.

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

Ryc. 9 (po lewej): Specjalny klips z zasuwką umieszczony na liściu w celu adaptacji do ciemności, producent: Hansatech Instruments Ltd., Kings Lynn, UK. (TS)
Ryc. 10 (po prawej): Pomiar fluorescencji chlorofilu a za pomocą fluorymetru HandyPEA firmy Hansatech Instruments Ltd., Kings Lynn, UK. (TS)

Ryc. 11. Metoda fluorescencji chlorofilu a może być pomocna przy ocenie reakcji drzew miejskich na presję warunków przyulicznych. (TS)

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

PODSUMOWANIE

1. Fluorescencja chlorofilu *a* umożliwia monitoring oddziaływania stresu środowiskowego na rośliny, reakcja stresowa badana jest poprzez badanie procesów fazy świetlnej fotosyntezy.

2. Dwa najczęściej stosowane protokoły analizy fluorescencji chlorofilu *a* to badanie typu PAM oraz analiza krzywej OJIP.

3. Spośród licznych parametrów fluorescencji niektóre mogą być źródłem konkretnych informacji, ale interpretacja wyników po winna obejmować jak najszerszy zakres parametrów.

4. Wyniki fluorescencji u roślin poddanych stresowi powinny być porównywane z podobnymi roślinami, które tych stresów nie doświadczyły.

5. Na rynku dostępne są małe, wygodne, przenośne fluorymetry, łatwe do obsługi w terenie, metoda ta nie wymaga żadnych odczynników chemicznych.

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

III.

Wymiana gazowa (fotosynteza netto, transpiracja)

Elektrony wychwycone w fazie świetlnej fotosyntezy są przekazywane na RUBISCO (karboksylazę/oksygenazę rybolozo-1,5-biforforanu), podstawowy enzym odpowiedzialny za wiązanie CO_2 w roślinach. Enzym ten katalizuje dwie odmienne reakcje: **karboksylację** (wiązanie CO_2 do 1,5-forforybulozy) oraz **utlenianie** (zużywanie O_2 do rozbijania cząsteczki 1,5-fosforybulozy). Ten ostatni proces nazywany jest **fotooddychaniem** i skutkuje wydzielaniem CO_2. W normalnych warunkach karboksylacja przeważa nad fotooddychaniem, w wyniku czego następuje wbudowywanie CO_2 i produkcja cukrów. Jednocześnie w mitochondriach zachodzi utlenianie i w konsekwencji wydzielanie CO_2 do przestworów międzykomórkowych (Kopcewicz i Lewak 2019).

Te trzy procesy:

- wiązanie CO_2,
- fotooddychanie
- oddychanie mitochondrialne

decydują o bilansie netto pobierania-wydzielania CO_2, który jest mierzony metodą wymiany gazowej.

Należy tu podkreślić, że metoda wymiany gazowej, oparta na wydzielaniu/pochłanianiu CO_2 przez aparaty szparkowe nie informuje o całkowitej wartości fotosyntezy u rośliny, a jedynie o asymilacji netto dwutlenku węgla (A_N).

Wymiana gazowa poprzez aparaty szparkowe dotyczy również transpiracji czyli wydzielania pary wodnej. Transpiracja jest ostatnim stadium przepływu wody od korzeni do szparek w liściach poprzez wiązki przewodzące i komórki miękiszu w liściach. Ten przepływ wody jest niezbędny do zapewnienia zaopatrzenia wszystkich tkanek rośliny w wodę oraz do transportu składników pokarmowych, biochemicznych sygnałów (hormonów) i innych substancji. Gdy korzenie sygnalizują stres wodny, aparaty szparkowe zaczynają się zamykać. Dlatego u większości roślin naszego klimatu asymilacja netto CO_2 jest powiązana z ubytkiem wody w procesie transpiracji (E).

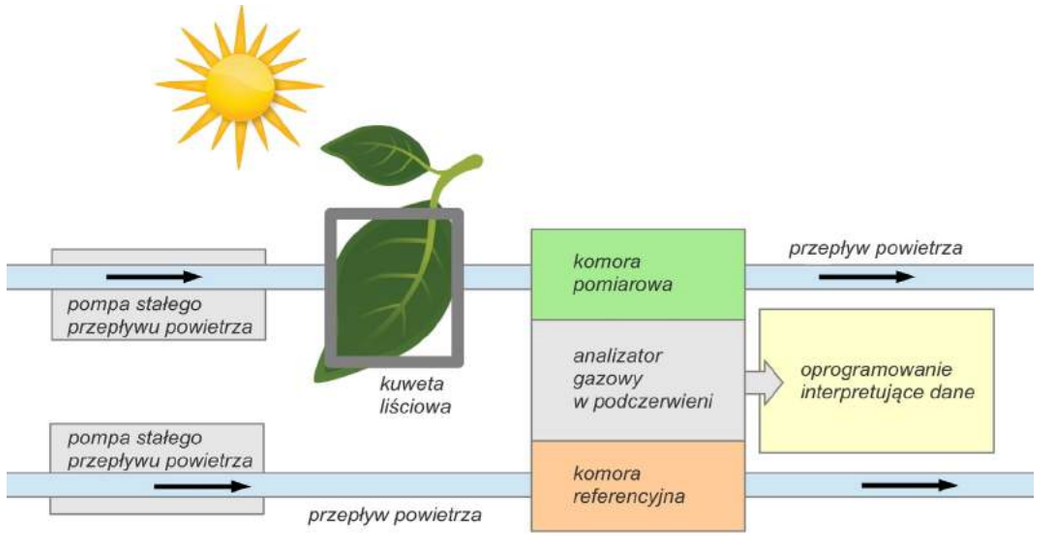
Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

Obydwa gazy: **dwutlenek węgla i para wodna** absorbują promieniowanie podczerwone, każdy z tych gazów we właściwym dla siebie zakresie. Analizator gazu w podczerwieni (ang. *infrared gas analyser,* IRGA) zawiera źródło promieniowania podczerwonego, komory do pomiaru gazu, filtry optyczne i detektor. Cząsteczki gazu obecne w komorze zmniejszają odbierane przez detektor promieniowanie, którego natężenie jest przeliczane na stężenie proporcjonalne do pochłoniętej części radiacji. Komory analizatora umożliwiają stały przepływ gazu, dzięki temu rejestrowany jest ciągły przepływ dwutlenku węgla i pary wodnej w ułamkach mola w czasie rzeczywistym. W typowym analizatorze gazów przeznaczonym do pomiaru asymilacji CO_2 występują dwie komory: pomiarowa i referencyjna. Do komory pomiarowej trafia powietrze przepływające uprzednio przez kuwetę, w której został umieszczony liść. Przez komorę referencyjną przepływa to samo powietrze, które dostarczane jest do kuwety liściowej. Na podstawie pomiarów detektora różnica w ilości promieniowania przechodzącego przez obie komory przliczana jest na stężenia pochłoniętego CO_2 i wydzielonej pary wodnej (Ryc. 12). Typowe urządzenie, tzw. system do pomiaru intensywności fotosyntezy, składa się z komory liściowej z oprzyrządowaniem oraz konsoli, zawierającej analizator gazowy, pompy, mierniki przepływu, klawiaturę, wyświetlacz, akumulator i pamięć do rejestracji danych.

Występują dwa typy pomiaru wymiany gazowej:

- **system zamknięty**, gdzie powietrze podlega recyrkulacji przez kuwetę liściową, i
- **system otwarty**, gdzie powietrze przechodzi przez kuwetę tylko raz.

W ostatnich latach nastąpił rozwój urządzeń systemu otwartego w związku z zaletami tego rozwiązania, a wiele z nich jest właśnie dedykowanych do prac terenowych (Long i in. 1996).



Ryc. 12. Schemat działania analizatora gazowego w podczerwieni, w tzw. systemie otwartym. (TS)

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

W systemie otwartym konsola zasila kuwetę liściową w powietrze o znanej zawartości CO_2 i pary wodnej oraz znanej prędkości przepływu. Po przejściu przez kuwetę stężenie CO_2 i pary wodnej jest ponownie mierzone. W związku z procesem fotosyntezy powietrze opuszczające kuwetę liściową będzie miało niższą zawartość dwutlenku węgla i wyższą – pary wodnej. Poza określeniem intensywności asymilacji CO_2, czyli fotosyntezy netto (A_N, dawniej P_N), oraz intensywności transpiracji (E), urządzenia te mogą obliczać takie parametry, jak przewodność szparkowa (g_s), międzykomórkowe stężenie CO_2 (c_i), współczynnik wykorzystania wody (ang. *water use efficiency*, WUE = A/E) i chwilowy współczynnik wykorzystania wody (ang. *intrinsic water use efficiency*, $WUE_i = A/g_s$).

Współczesne systemy mogą też mierzyć promieniowanie aktywne fotosyntetycznie (ang. *photosynthetically active radiation*, PAR), temperaturę powietrza w kuwecie i temperaturę liścia.

Systemy do pomiaru fotosyntezy mogą być również wyposażone w dodatkowe źródło światła aktywnego fotosyntetycznie o regulowanym natężeniu (dla pomiaru fotosyntezy np. w bardzo pochmurne dni) i pozwalające na pomiar fotosyntezy w odpowiedzi na różne natężenia światła (ang. *photosynthetic response to irradiance,* PRI). Zastosowanie sztucznego źródła światła o wysokim natężeniu PAR (np. 1500-2000 µmol m^{-2} s^{-1}) umożliwia pomiar asymilacji netto w warunkach wysycenia światłem (ang. l*ight-saturated net assimilation*, A_{max}). Dodatkowym wyposażeniem może być system kontrolowanego dostarczania CO_2 do układu, pozwalający na badanie asymilacji netto przy maksymalnym wysyceniu dwutlenkiem węgla.

Obecne na rynku systemy pomiaru fotosyntezy, przeznaczone do pracy w terenie, to m.in.:

LI-6800
(firmy LI-COR Inc., Lincoln, Nebraska, USA) konsola zawiera układ sterujący, system wymiany powietrza, wyświetlacz i zapis danych, lecz analizatory gazów są umieszczone wraz z dostawianą kuwetą liściową w panelu pomiarowym; masa: konsola 6,1 kg, panel pomiarowy 2,15 kg, kuwety liściowe 0,3-0,35 kg; pamięć: 512 MB RAM, 8 GB pamięci Flash; transmisja danych możliwa poprzez kopiowanie na nośnik USB lub bezpośrednio na komputer przez Ethernet; wg informacji producenta wbudowany fluorymetr mierzy sygnały fluorescencji modulowanej i stałej, oraz umożliwia analizę wykresu OJIP.

TARGAS-1
(firmy PP Systems Ltd., Amesbury, Massachusetts, USA) masa: konsola 2,1 kg, podstawowa kuweta liściowa (PLC) 0,7 kg; dane są rejestrowane i przechowywane na nośniku USB, dodatkowo w konsoli jest wyjście mini USB; ponadto można zamówić: nakładkę ze źródłem sztucznego światła, komorę do pomiaru respiracji gleby, miernik temperatury/PAR i sondę temperatury gleby. (Ryc. 13 i 14)

GFS-3000
(firmy Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Niemcy) przenośny system, składający się z konsoli (12,3 kg łącznie z akumulatorami) i panelu pomiarowego z zestawem kuwet do pomiaru różnych rozmiarów liści, opcjonalnie do iglastych i mchów (1,6 kg); gromadzenie danych na dysku SSD 32 GB, połączenie za pomocą USB 2.0; wersja zmodyfikowana GFS-3000FL zawiera fluorymetr typu PAM 3057-FL.

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

Ryc. 13. Konsola analizatora gazowego w podczerwieni (IRGA) typu Targas-1 firmy PP Systems Ltd., Amesbury, Massachusetts, USA. (TS)

Ryc. 14. Pomiar intensywności fotosyntezy za pomocą kuwety liściowej systemu do pomiaru fotosyntezy Targas-1 firmy PP Systems Ltd., Amesbury, Massachusetts, USA. (TS)

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

LCI T
(firmy ADC BioScientific Ltd., Hoddesdon, Wielka Brytania) masa: konsola 2,4 kg, kuweta liściowa 0,6 kg; gromadzi dane do 1000 pomiarów na przenośnej karcie SD (maksymalny wspierany rozmiar karty – 32 GB); wyposażony w GPS; kuwety szeroka i wąska pasują do przenośnych fluorymetrów OS5p+ and OS1p, dostarczanych przez ADC, pomiary fluorescencji są rejestrowane jednocześnie z pomiarem wymiany gazowej.

CI-340
(firmy CID Bio-Science, Inc., Camas, Washington, USA)
jeden przenośny panel o masie 1,5 kg, łączący funkcję konsoli i podstawowe funkcje kuwety pomiarowej; gromadzenie danych: 4 MB wewnętrznej pamięci FLASH RAM; opcjonalnie dodatkowe moduły do pomiarów przy kontrolowanym natężeniu światła, CO_2, H_2O, temperatury, z możliwością pomiaru fluorescencji chlorofilu; 10 różnych typów kuwet pomiarowych dla różnych rozmiarów liści, w tym iglastych I kaktusów; podstawowe funkcje są wbudowane w panel, bezpośrednie połączenie kuwet liściowych z analizatorem CO_2/H_2O zmniejsza opóźnienia w pomiarach.

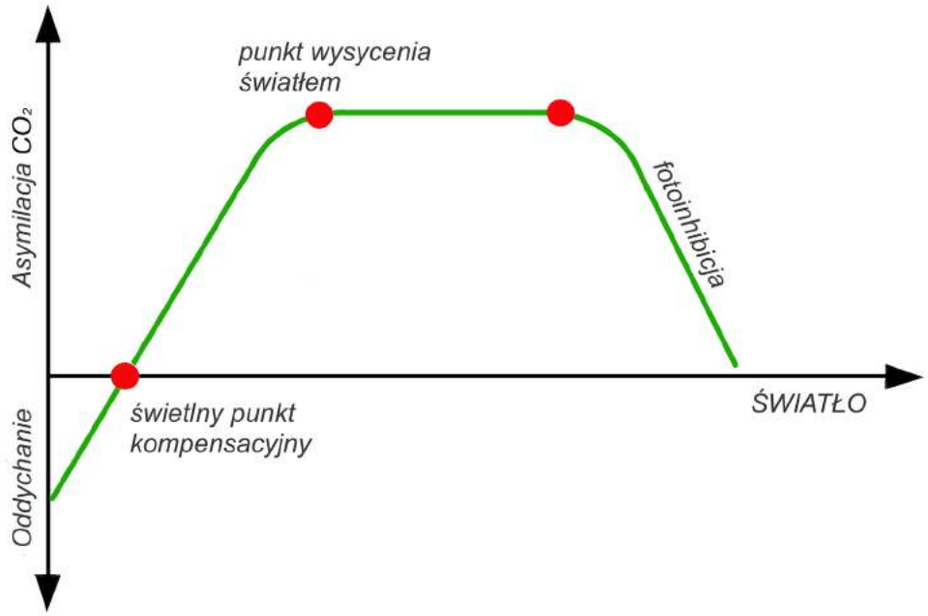
Przed zakupem analizatora gazowego należy zadecydować, jakiego rodzaju kuweta będzie potrzebna do pomiarów. Ponieważ wielkość wymiany gazowej jest mierzona w odniesieniu do powierzchni liścia, najkorzystniej jest, gdy blaszka liściowa wypełnia całą kuwetę. Jeśli tak nie jest, należy zwrócić uwagę na interpretację danych, np. w przypadku zróżnicowanego kształtu liścia konieczne będzie obliczenie pola jego powierzchni i odpowiednie przeliczenie wyniku wymiany gazowej. Współcześnie wiele urządzeń oferuje zestaw kuwet umożliwiających pomiary typowych liści roślin dwuliściennych, traw, pędów roślin iglastych oraz bardzo małych liści.

Intensywność fotosyntezy zależy od różnych czynników środowiska. W warunkach naturalnych najważniejszym czynnikiem ograniczającym jest dostęp do światła, a po nim niedostatek wody, lecz temperatura i dostęp do składników pokarmowych też ma znaczenie. Inne czynniki stresowe, takie jak niedotlenienie w strefie korzeniowej i zwięzłość gleby, mogą również w sposób pośredni wpłynąć na fotosyntezę. Użytkownik, podejmując badania, może być zainteresowany samą rośliną lub wpływem aktualnych warunków otoczenia na jej stan. Dlatego podejmując określony sposób badania należy uwzględnić jego cel.

Większość badań wykorzystujących metodę wymiany gazowej bada asymilację CO_2 przy świetle wysycającym (A_{max}). W warunkach terenowych światło (promieniowanie) jest najbardziej niestabilnym czynnikiem, zależnym od chociażby zachmurzenia. Żeby ocenić wydajność asymilacji danej rośliny, należy zmierzyć jej reakcję na różne natężenia światła (PRI). Miarą promieniowania (irradiancji) wykorzystywanego w procesie fotosyntezy jest gęstość przepływu fotonów fotosyntetycznych (ang. p*hotosynthetic photon flux density,* PPFD), definiowana jako liczba fotosyntetycznie aktywnych fotonów w przeliczeniu na jednostkę powierzchni próbki i jednostkę czasu (µmol m^{-2} s^{-1}). Na przykład w miejscach oświetlonych na otwartej przestrzeni PPFD może sięgać 1300 µmoli fotonów m^{-2} s^{-1}, podczas gdy w głębi lasu 50 µmoli m^{-2} s^{-1} (Abrams i Mostoller 1995). Zastosowanie nakładki ze źródłem sztucznego światła pozwala ujednolicić warunki świetlne w zróżnicowanym pod tym względem miejscu badań. Z drugiej strony należy pamiętać, że liście przystosowują się do stałych, jak i chwilowych warunków świetlnych. Dlatego przy badaniu wpływu innych czynników niż światło, np. zanieczyszczeń powietrza, stres suszy itd., pomiar wymiany gazowej powinien być przeprowadzany na liściach o takich samych

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

warunkach naświetlenia. Należy zaznaczyć, że w przypadku niedostatecznej ilości światła (lub przy innym poważnym stresie), A_N może wskazywać wartości poniżej zera. Przy słabym świetle wartości ujemne wskazują, że natężenie światła nie przekroczyło tzw. punktu kompensacji, od którego efektywność wiązania CO_2 przewyższa fotooddychanie i oddychanie mitochondrialne (Rys. 15).



Ryc. 15. Zależność fotosyntezy od natężenia światła. (TS)

Za pomocą analizatora gazowego można również zbadać potencjał rośliny do wiązania dwutlenku węgla przy wysycającym stężeniu tego gazu. Wiele analizatorów ma odpowiednie przystosowanie i umożliwia zamontowanie określonego pojemnika (naboju) z CO_2.
Każdy analizator gazowy jest wyposażony w trzy kolumny absorbentów. Pierwszy, tzw. Auto-zero (MolecularSieve), to osuszacz molekularny, usuwający CO_2 i H_2O ze strumienia powietrza, zapewnia stabilność i dokładność pomiarów. Drugi zawiera wodorotlenek wapnia, usuwa CO_2, nie może być regenerowany. Trzeci to osuszacz, usuwa parę wodną, można go regenerować w piekarniku wg instrukcji. Absorbenty wymagają regularnego sprawdzania (zmieniają barwę, gdy tracą swoje właściwości) oraz wymiany.

Przed rozpoczęciem pomiarów urządzenie musi rozgrzać się, gdyż przepływ gazów jest analizowany przy temperaturze ok. 55 °C. W analizatorach przeznaczonych do prac terenowych do pomiaru referencyjnego pobierane jest powietrze atmosferyczne z otoczenia. Dlatego końcówka pobierająca to powietrze powinna być umieszczona z dala od źródeł dodatkowego CO_2, np. ludzi (oddychających), systemów wentylacyjnych, pracujących silników samochodów

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

itp. Zazwyczaj końcówka do pobierania powietrza jest w zestawie. Po umieszczeniu liścia w kuwecie należy obserwować wartości CO_2 lub wartość A przez ok. 60 sekund, aż wynik się ustabilizuje, wówczas można go zapisać. Faktycznie pomiar asymilacji CO_2 zajmuje około 20-30 minut ze względu na konieczność rozgrzania urządzenia, a następnie zebranie kilku-kilkunastu pomiarów na danym stanowisku.
Jak już wspomniano, wielkość asymilacji zależy od dostępu do światła. Aby porównać asymilację różnych egzemplarzy, badane liście powinny funkcjonować w tych samych warunkach oświetlenia. Jeśli nie wszystkie badane rośliny rosną w warunkach pełnego słońca, należy wybrać do badań liście zacienione. Należy unikać ekstremów: silnego naświetlenia, jak i głębokiego cienia. Wysoka wilgotność powietrza również może wpływać na wyniki. Asymilacja zachodzi tylko w liściach rosnących na roślinie, jeśli liść straci połączenie z pędem, to – w przeciwieństwie do fluorescencji chlorofilu – nie jest dalej możliwe badanie wymiany gazowej. Asymilacja netto zależy od charakterystyki gatunku. Abrams i Mostoller (1995) stwierdzili, że gatunki drzew wczesnej sukcesji wykazują wyższą A_N niż gatunki późnej sukcesji. Z kolei gatunki drzew o pośrednich cechach wykazują dużą plastyczność w tolerancji suszy. Wobec powyższego trudno jest wskazać wartości asymilacji, które mogłyby służyć jako referencyjne, ale można przedstawić pewne zakresy. Wg Abramsa i Mostollera (1995) u zacienionych liści A_N może osiągać średnio do 0,45 µmol m^{-2} s^{-1}, podczas gdy asymilacja nasłonecznionych liści mieści się średnio w zakresie 4-7 µmol m^{-2} s^{-1}.
Intensywność transpiracji E można analizować jako samodzielny parametr lub w kombinacji

Ryc. 16. Zaburzenia intensywności fotosyntezy mogą być m.in. skutkiem niekorzystnych warunków otoczenia dla funkcjonowania młodych drzew. (TS)

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

z A_N. Stosunek A_N do E daje tzw. współczynnik wykorzystania wody (ang. *water use efficiency,* WUE). Korzysta się z niego przy ocenie funkcjonowania w środowisku i porównywania różnych odmian i gatunków. Wskaźnik ten pozwala klasyfikować odmiany lub gatunki na podstawie ich zdolności do zatrzymywania wody w tkankach, może również dostarczać informacji o zdolności roślin do dostosowania się do trudnych warunków środowiska.

Przewodność szparkowa (g_s), obliczana i podawana przez analizator gazowy, mówi o aktualnym stanie otwartych lub zamkniętych aparatów szparkowych. W odniesieniu do danych warunków środowiska g_s informuje o reakcji rośliny na deficyt pary wodnej w powietrzu i deficyt wody w glebie. Typowo wartości przewodności szparkowej mieszczą się w zakresie 50-500 mmol.

PODSUMOWANIE

1. Wymiana gazowa dostarcza informacji o aktywności fotosyntetycznej w momencie pomiarów. Na podstawie tych wyników można wnioskować, czy roślina podlega stresowi czy nie, zakładając, że porównujemy rośliny w różnych warunkach wzrostu, w tym optymalnych.
Można też badać wydajność fotosyntetyczną wbranych egzemplarzy, stosując dodatkowo nakładkę ze źródłem sztucznego światła.

2. Pomiary w terenie powinny być przeprowadzone przed południem, ponieważ w południe zwykle aparaty szparkowe mogą się zamykać i wymiana gazowa może nie mieć miejsca.

3. Każde pomiary za pomocą analizatora gazowego wymagają na wstępie kilkunastu minut dla rozgrzania urządzenia, a następnie kilku minut dla każdego odczytu, dlatego metoda ta jest dość czasochłonna.

4. Urządzenia IRGA są dość kosztowne i wymagają regularnej wymiany absorbentów, które należy nabywać co jakiś czas, w zależności od intensywności używania sprzętu.

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

IV.

Potencjał wodny

Komórki roślinne muszą być mniej lub bardziej wysycone wodą, ponieważ woda jest istotnym składnikiem tkanek. Działa jako rozpuszczalnik, bierze udział w wielu reakcjach chemicznych, zapewnia transport składników pokarmowych, cukrów i hormonów, nadaje kształt tkankom niezdrewniałym dzięki utrzymywaniu turgoru, decyduje o podziale komórek i wzroście organów, zapewnia stabilność termiczną. Woda, pobierana przez korzenie, jest transportowana przez wiązki przewodzące, mianowicie przez drewno (ksylem), ku liściom, skąd jest uwalniana do atmosfery w postaci pary wodnej przez aparaty szparkowe. Szacuje się, że tylko ok. 1% wody pobranej przez korzenie zatrzymywany jest w tkankach. Transport wody w roślinie opisuje teoria „układu gleba-roślina-atmosfera" (*Soil-Plant-Atmosphere Continuum*), gdzie różnica potencjału wodnego (Ψ) pomiędzy glebą, tkankami roślinnymi i atmosferą jest siłą warunkującą przepływ wody (Tabela 1). Potencjał wodny (Ψ) jest wyrażany w liczbach ujemnych, im większa bezwzględna wartość tych liczb, tym niższy potencjał (Taiz i in. 2015, Kopcewicz i Lewak 2019).

Rosnąc w naturalnym środowisku rośliny często doświadczają niedostatecznego dostępu wody, co powoduje trudność w zaopatrzeniu w wodę całej rośliny i swobodny jej przepływ przez ksylem. Z drugiej strony deficyt pary wodnej w powietrzu pobudza transpirację poprzez aparaty szparkowe. Im wyższy deficyt pary wodnej w powietrzu, tym wyższa różnica potencjału między atmosferą a tkankami liści, a to zwiększa transpirację. Szybsza utrata wody poprzez szparki powoduje obniżenie potencjału w tkankach liści, a to z kolei, intensyfikując przepływ wody, obniża potencjał wody w pędach i pniu.

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

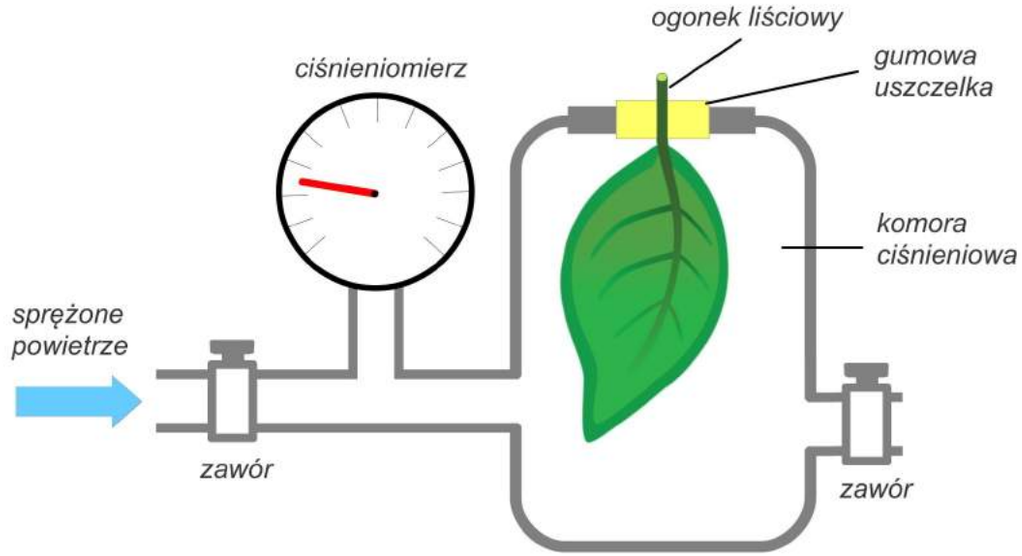
Tabela 1. Potencjał wodny (Ψ) w kontinuum gleba-roślina-atmosfera.

Tkanki roślin/środowisko	Potencjał wodny [MPa]
Atmosfera	- 30,0 lub mniej
Miękisz liścia	ok. - 1,2
Ksylem	ok. - 0,7
Powierzchnia korzenia	ok. - 0,3
Gleba	0 (czysta woda) do - 0,15

W latach sześćdziesiątych Per Fredrik Scholander wraz z kolegami opracował metodę komory ciśnieniowej do mierzenia stosunków wodnych w drzewach i krzewach, a w szczególności potencjału wodnego w pędach i liściach. Komora ciśnieniowa zawiera pojemnik aluminiowy, stalowy lub ze stali nierdzewnej, mogący wytrzymać ciśnienie do 10 MPa, połączony z dozownikiem obojętnego gazu (zwykle azotu) lub powietrza poprzez zawór redukujący i zawór pomiarowy, wraz z ciśnieniomierzem. Pojemnik z gazem posiada wieczko z otworem i zestawem uszczelek, które można dopasować do mierzonych ogonków liściowych o różnych rozmiarach (Turner 1988). Sprężony gaz lub powietrze jest wtłaczane do komory, wewnątrz której znajduje się liść lub pęd, podczas gdy ogonek liściowy lub ucięty koniec pędu wystaje na zewnątrz poprzez uszczelnienie w wieczku (Ryc. 17). Wzrastające w komorze ciśnienie powoduje wydzielanie się soku z ksylemu na powierzchni cięcia ogonka (pędu). Wielkość ciśnienia wywołującego wypływanie wody (soku) z ksylemu odzwierciedla potencjał wodny. Najczęściej wyraża się wielkość potencjał wodnego w megapaskalach (MPa) lub w barach: 1 bar = 0,1 MPa.

Zależnie od tego, w jakim czasie oraz w jaki sposób będzie wykonany pomiar, wynik będzie dotyczył określonej części rośliny (drzewa). Pomiar potencjału wodny sprzed świtu (ang. *predawn*) Ψ_{PD} odnosi się potencjału wodnego przy zerowym przepływie wody w roślinie i informuje o wyrównaniu potencjału wodnego w roślinie w ciągu nocy (Fulton i in. 2001). Potencjał wodny liścia Ψ_{LEAF}, mierzony na konkretnym liściu w danych warunkach, odzwierciedla kombinację wielu czynników: miejscowe zapotrzebowanie tkanek liścia na wodę (wynikające z deficytu pary wodnej w powietrzu, pochłoniętego przez liść promieniowania, również cieplnego), dostępność wody w glebie, przewodność hydrauliczną ksylemu i pracę aparatów szparkowych (otwieranie lub zamykanie). Potencjał wodny pnia (lub: łodygi, ang. *stem*) Ψ_{STEM} wynika zarówno z wielkości transpiracji, jak i z przewodności hydraulicznej pomiędzy glebą i systemem korzeniowym. Zatem wskazuje zdolność rośliny do przewodzenia wody z gleby do atmosfery. Liczne doniesienia przekonują, że Ψ_{STEM} jest dobrym wskaźnikiem niedoboru wody w roślinie i jako taki jest z powodzeniem stosowany przy kontroli nawadniania sadów (Fulton i in. 2001, 2018).

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego



Ryc. 17. Schemat działania komory ciśnieniowej Scholandera. (TS)

Aby określić Ψ_{PD}, pomiary powinny być dokonane po ciemku, przed wschodem słońca. Alternatywą jest owinięcie liści na noc hermetycznym, nieprzepuszczającym światła tworzywem i przeprowadzenie pomiarów wcześnie rano. Potencjał wodny liścia mierzony jest na liściu w pełni transpirującym, zebranym w południe lub wczesnym popołudniem, gdy aktywność fotosyntetyczna i zapotrzebowanie na wodę jest najwyższe. Potencjał wodny pnia mierzy się na liściu nietranspirującym pomiędzy 12:00 a 16:00 (Fulton i in. 2014). W tym ostatnim przypadku przed dokonaniem pomiaru konieczne jest umieszczenie liścia w odpowiedniej hermetycznej torebce z tworzywa (zapobiegającej transpiracji), pokrytej warstwą aluminiową (by uniknąć skutków naświetlenia) (Fulton i in. 2001). Przygotowany liść (lub w przypadku roślin iglastych pęd) należy odciąć ostrym nożykiem, umieścić w otworze wieczka komory ciśnieniowej ogonkiem na zewnątrz. Blaszka liściowa powinna znaleźć się wewnątrz komory. Po szczelnym zamknięciu komory napełnia się ją sprężonym gazem lub powietrzem, kontrolując wzrost ciśnienia w komorze. Pomiar polega na ciągłej obserwacji uciętej powierzchni ogonka liściowego lub pędu za pomocą szkła powiększającego. Gdy na powierzchni cięcia ukaże się kropla roztworu wodnego z wiązek przewodzących, należy natychmiast odczytać wartość ciśnienia wskazanego przez ciśnieniomierz, które odpowiada wartości potencjału wodnego. Istotą dokładnego określenia potencjału wodnego jest wyznaczenie punktu granicznego pojawienia się roztworu na powierzchni cięcia. Przegapienie tego momentu może prowadzić do błędu przeszacowania wartości potencjału (Model 3115 Portable Plant Water Status Console, Operating Instructions, 2017).

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

Ryc. 18. Zestaw komory ciśnieniowej, Model 615 firmy PMS Instrument Company, Albany, Oregon, USA jako przykład zestawu do pomiaru potencjału wodnego. Dzięki uprzejmości PMS Instrument Company, USA.

Współczesne urządzenia są wbudowane w futerał w kształcie walizki i łatwe do transportu (Ryc. 18). Można kupić taki zestaw z pojemnikiem na gaz lub bez niego. W tym ostatnim przypadku należy pojemnik na gaz nabyć osobno. Komory ciśnieniowe Scholandera są produkowane np. przez firmę PMS Instrument Company (Albany, Oregon, USA) oraz firmę Soil Moisture Equipment Corp. (Santa Barbara, California, USA).

Jak przedstawiono w Tabeli 1, typowe wartości Ψ_{STEM} oscylują wokół -0,7 MPa, u drzew owocowych, doświadczających stresu suszy, Ψ_{STEM} może obniżyć się do -1,4 MPa lub nawet -1,8 MPa (Naor 1998, Williams i Araujo 2002). Zmienność wartości Ψ_{LEAF}, notowanych w ciągu dnia, zależy od warunków pogodowych, stąd może wahać się w zakresie od -1,19 do -2,3 MPa. U drzew doświadczających suszy Ψ_{LEAF} obniża się do -2,3 MPa lub nawet -3,4 MPa (Naor 1998, Williams i Araujo 2002). Dlatego, by z większą precyzją określić rozmiar stresu suszy, zaleca się badanie raczej Ψ_{STEM} niż Ψ_{LEAF}.

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

W trakcie badań terenowych należy przestrzegać kilku zasad:

1. Zaleca się wybrać do pomiarów dobrze rozwinięte liście z głębi korony od północnej strony, zwłaszcza gdy pomiar dotyczy Ψ_{PD} lub Ψ_{STEM};
2. Nie należy ucinać ogonka liściowego powtórnie, gdyż może to prowadzić do błędnych wyników;
3. Należy starannie określić punkt początku wydzielania się roztworu z ksylemu;
4. ZASADY BEZPIECZEŃSTWA: należy mieć na uwadze dużą energię sprężonego gazu, gromadzonego w komorze ciśnieniowej, powierzchnię cięcia ogonka liściowego należy obserwować z boku, nie z góry bezpośrednio nad urządzeniem, zalecane są gogle ochronne.

Ryc. 19. Młode drzewa z niedostatecznie wykształconym systemem korzeniowym są szczególnie podatne na niedostatek wody w glebie, zbyt mały rozmiar mis chodnikowych i zagęszczona gleba z reguły pogłębiają ten problem. (TS)

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

Metoda komory ciśnieniowej jest bardzo przydatna w określaniu stresu wodnego u drzew, w szczególności gdy przedmiotem badania jest potencjał wodny pnia. Jest dość wygodna, gdyż w warunkach terenowych pozwala wykonać wiele pomiarów w ciągu dnia. Niedogodności tej metody związane są z dużą masą typowego zestawu: waga prostszego urządzenia bez pojemnika z gazem (który musi być niesiony osobno) wynosi ok. 7 kg, podczas gdy zestaw wraz z pojemnikiem może ważyć ok. 20 kg. Korzystanie z urządzenia wymaga regularnego uzupełniania pojemnika z gazem (powietrzem). Specjalne hermetyczne torebki z tworzywa, pokryte folią aluminiową (niezbędne do wyznaczenia Ψ_{STEM}) mogą być zawarte w zestawie lub dokupione osobno.

PODSUMOWANIE

1. Pomiar potencjału wodnego pnia w godzinach południowych umożliwia stwierdzenie deficytu wodnego, którego doświadcza całe drzewo (roślina).

2. Oceny potencjału wodnego rośliny w warunkach terenowych można dokonać za pomocą metody komory ciśnieniowej.

3. Zestaw pomiarowy z komorą ciśnieniową i pojemnikiem na sprężony gaz (powietrze) jest stosunkowo ciężki, a pojemnik wymaga okresowego dopełniania.

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

TREE ASSESSOR

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

Literatura:

1. Abrams M. D., Mostoller S. A. 1995. Gas exchange, leaf structure and nitrogen in contrasting successional tree species growing in open and understory sites during a drought. Tree Physiology 15(6): 361-370.
2. Borowiak K., Korszun S. 2011. Wstępne badania aktywności fotosyntezy jednorocznych roślin wybranych odmian winorośli. Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin 259: 179-191.
3. Brestic M., Zivcak M. 2013. PSII fluorescence techniques for measurement of drought and high temperature stress signal in crop plants: protocols and applications. W: Rout G.R., Das A.B. (Red.): Molecular stress physiology of plants. Springer, Dordrecht: 87-131
4. Bussotti F., Desotgiu R., Pollastrini M., Cascio C. 2010. The JIP test: a tool to screen the capacity of plant adaptation to climate change. Scandinavian Journal of Forest Research 25 (Suppl 8): 43-50.
5. Chang S.X., Robison D.J. 2003. Noncestructive and rapid estimation of hardwood foliar nitrogen status using the SPAD-502 chlorophyll meter. Forest Ecology and Management 181: 331-338.
6. Christen D., Schönmann S., Jermini M., Strasser R. J., Défago G. 2007. Characterization and early detection of grapevine (*Vitis vinifera*) stress responses to esca disease by in situ chlorophyll fluorescence and comparison with drought stress. Environmental and Experimental Botany 60: 504-514.
7. Douthe C., Gago J., Ribas-Carbó M., Núñez R., Pedrol N., Flexas J. 2018. Measuring Photosynthesis and Respiration with Infrared Gas Analysers. W: Sánchez-Moreiras A., Reigosa M. (Red.) Advances in Plant Ecophysiology Techniques (Vol. 497). Springer International Publishing, Berlin: 51-75.
8. Fulton A. 2018. Purchsing a pressure chamber and preparing to monitor. Sacramento Valley Orchard Source, University of California, Agriculture and Natural Resources. http://www.sacvalleyorchards.com/manuals/stem-water-potential/purchasing-pressure-chamber-preparing-to-monitor/ [dostęp 17.05.2021]
9. Fulton A., Buchner R., Olson B., Schwankl L., Gilles C., Bertagna N., Walton J., Shackel K. 2001. Rapid equilibration of leaf and stem water potential under field conditions in almonds, walnuts, and prunes. HortTechnology 11(4): 609-615.
10. Fulton A, Grant J, Buchner R, Connell J. 2014. Using the pressure chamber for irrigation management in walnut, almond, and prune. Oakland: University of California Division of Agriculture and Natural Resources Publication 8503. UC ANR Communication Services website, http://anrcatalog.ucdavis.edu/Details.aspx?itemNo=8503
11. Hatamian M., Arab M., Roozban M. R. 2014. Photosynthetic and non-photosynthetic pigments of two rose cultivars under different light intensities. Journal of Crops Improvement 16(2): 259-270.
12. Hermans C., Smeyers M., Rodriguez R.M., Eyletters M., Strasser R.J., Delhaye J.P. 2003. Quality assessment of urban trees: A comparative study of physiological characterisation, airborne imaging and on site fluorescence monitoring by the OJIP-test. Journal of Plant Physiology 160: 81-90.
13. Kalaji M. H., Goltsev V. N., Żuk-Gołaszewska K., Zivcak M., Brestic M. 2017. Chlorophyll fluorescence: understanding crop performance - basics and applications. CRC Press. 236 ss.
14. Kalaji M.H., Łoboda T. 2009. Fluorescencja chlorofilu w badaniach stanu fizjologicznego roślin. Wydawnictwo SGGW, Warszawa, 118 ss.
15. Kalaji H. M., Schansker, G., Brestic, M. i in. 2017. Frequently asked questions about chlorophyll fluorescence, the sequel. Photosynthesis Research, 132(1): 13-66.
16. Kalaji H.M., Schansker G., Ladle R.J. i in. 2014. Frequently asked questions about in vivo chlorophyll fluorescence: practical issues. Photosynthesis Research 122(2): 121-158.
17. Kopcewicz J., Lewak S. 2019. Fizjologia roślin. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 812 ss.
18. Kuhlgert S., Austic G., Zegarac R. i in. 2016. MultispeQ Beta: a tool for large-scale plant phenotyping connected to the open PhotosynQ network. Royal Society Open Science 3(10): 160592.
19. Loh F. C., Grabosky J. C., Bassuk N. L. 2002. Using the SPAD 502 meter to assess chlorophyll and nitrogen content of benjamin fig and cottonwood leaves. HortTechnology 12(4): 682-686.
20. Long S. P., Farage P. K., Garcia R. L. 1996. Measurement of leaf and canopy photosynthetic CO2 exchange in the field. Journal of Experimental Botany 47(11): 1629-1642.
21. Measuring Stem Water Potential (SWP), 2021. PMS Instrument Company. https://www.pmsinstrument.com/resources/measuring-stem-water-potential-swp/ [dostęp 2.09.2021]
22. Mlinarić S., Dunić J.A., Babojelić M.S., Cesar V., Lepeduš H. 2017. Differential accumulation of photosynthetic proteins regulates diurnal photochemical adjustments of PSII in common fig (*Ficus carica* L.) leaves. Journal of Plant Physiology 209: 1-10.
23. Model 3115 Portable Plant Water Status Console, Operating Instructions, 2017. Soil Moisture Equipment Corp. (Santa Barbara, California, USA).
24. MultispeQ. 2020. https://help.photosynq.com/instruments/multispeq-v2.0.html#getting-started [dostęp 28.02.2021]
25. Naor A. 1998. Relations between leaf and stem water potentials and stomatal conductance in three field-grown woody species. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology 73(4): 431-436.
26. Percival G.C., 2005. The use of chlorophyll fluorescence to identify chemical and environmental stress in leaf tissue of three oak (*Quercus*) species. Journal of Arboriculture 31: 215-227.
27. Percival G.C., Keary I.P., Al-Habsi S. 2006. An assessment of the drought tolerance of *Fraxinus* genotypes for urban landscape plantings. Urban Forestry & Urban Greening 5: 17-27.
28. Percival G.C., Keary I.P., Noviss K. 2008. The potential of a chlorophyll content SPAD meter to quantify nutrient stress in foliar tissue of Sycamore (*Acer pseudoplatanus*), English Oak, (*Quercus robur*), and European Beech (*Fagus sylvatica*). Arboriculture and Urban Forestry 34(2): 89.
29. Pollastrini M., Holland V., Brüggemann W., Bussotti F. 2016. Chlorophyll a fluorescence analysis in forests. Annali di Botanica 6: 23-37.

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

TREE ASSESSOR

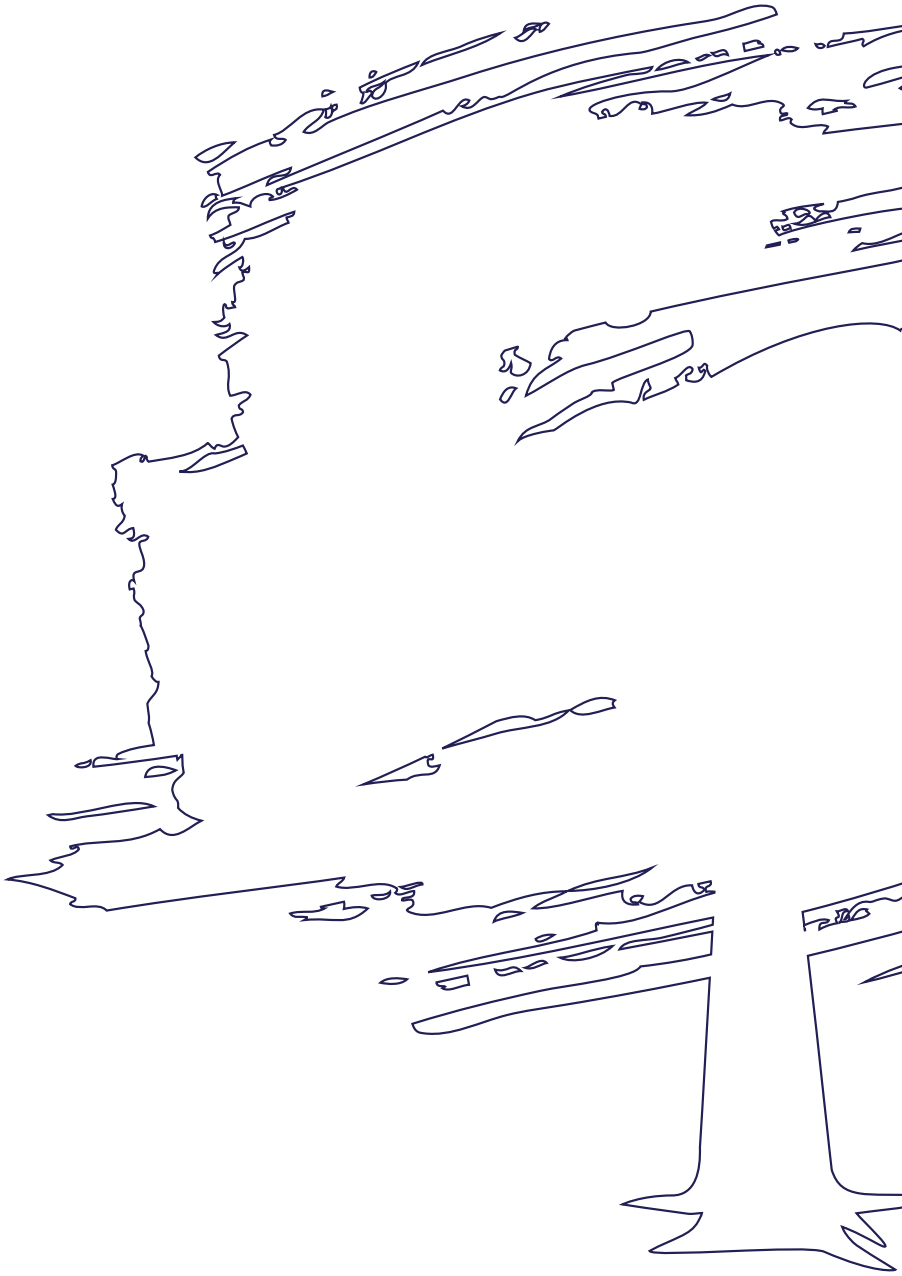
Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

30. Poorter H., Niinemets Ü., Poorter L., Wright I.J., Villar R. 2009. Causes and consequences of variation in leaf mass per area (LMA): a meta-analysis. New Phytologist 182(3): 565-588.
31. Schreiber U. 2004. Pulse-Amplitude-Modulation (PAM) Fluorometry and Saturation Pulse Method: An Overview. W: Papageorgiou G.C., Govindjee (Red.) Chlorophyll a Fluorescence. Advances in Photosynthesis and Respiration, vol 19. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3218-9_11
32. Strasser R.J., Tsimilli-Michael M., Srivastava A., 2004. Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. W: Papageorgiou, G.C., Govindjee (Red.), Chlorophyll a Fluorescence: A Signature of Photosynthesis, Advances in Photosynthesis and Respiration, vol 19. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3218-9_12
33. Swoczyna T., Kalaji H.M., Pietkiewicz S., Borowski J. 2015. Ability of various tree species to acclimation in urban environments probed with the JIP-test. Urban Forestry & Urban Greening 14: 544-553.
34. Swoczyna T., Łata B., Stasiak A., Stefaniak J., Latocha P. 2019. JIP-test in assessing sensitivity to nitrogen deficiency in two cultivars of *Actinidia arguta* (Siebold et Zucc.) Planch. ex Miq. Photosynthetica 57(2): 646-658.
35. Taiz L. Zeiger E., Møller I.M., Murphy A. 2015. Plant physiology and development. No. Ed. 6. Sinauer Associates Incorporated, Sunderland, USA, 761 ss.
36. Torres Netto A., Campostrini E., Gonçalves De Oliveira J., Bressan-Smith R.E, 2005. Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll a fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. Scientia Horticulturae 104: 199-209.
37. Turner N.C. 1988. Measurement of plant water status by the pressure chamber technique. Irrigation Science 9: 289–308. https://doi.org/10.1007/BF00296704
38. Ugolini F., Bussotti F., Lanini G.M., Raschi A., Tani C., Tognetti R. 2012. Leaf gas exchanges and photosystem efficiency of the holm oak in urban green areas of Florence, Italy. Urban Forestry & Urban Greening 11: 313-319.
39. Wang Z.X., Chen L., Ai J., Qin H.Y., Liu Y.X., Xu P.L., Jiao Z.Q., Zhao Y., Zhang Q.T. 2012. Photosynthesis and activity of photosystem II in response to drought stress in Amur Grape (*Vitis amurensis* Rupr.). Photosynthetica 50(2): 189-196.
40. Williams L.E., Araujo F.J. 2002. Correlations among predawn leaf, midday leaf, and midday stem water potential and their correlations with other measures of soil and plant water status in *Vitis vinifera*. Journal of the American Society for Horticultural Science 127(3): 448-454.

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego

TREE ASSESSOR

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego



Instytut Drzewa Sp. z o.o.
www.instytut-drzewa.pl
tel.: 789-032-424, e-mail: biuro@instytut-drzewa.pl

© Copyright Instytut Drzewa Sp. z o.o.
Wrocław 2021

Projekt realizowany przy wsparciu finansowym Komisji Europejskiej w ramach Programu Erasmus+:
Partnerstwa strategiczne w obszarze edukacji i kształcenia zawodowego