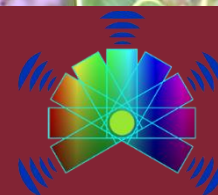


Facoltà di Scienze Matematiche, Fisiche e Naturali

Dipartimento di Biologia Ambientale



SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA



Piano Nazionale
Lauree Scientifiche

*Progetto
Scienze Naturali e Ambientali*

**MISURA DEGLI SCAMBI GASSOSI FOGLIARI PER IL
MONITORAGGIO DELLO STATO FUNZIONALE
DELLA VEGETAZIONE**

Docenti:

Fausto Manes

Lina Fusaro

Elisabetta Salvatori

14 marzo 2019

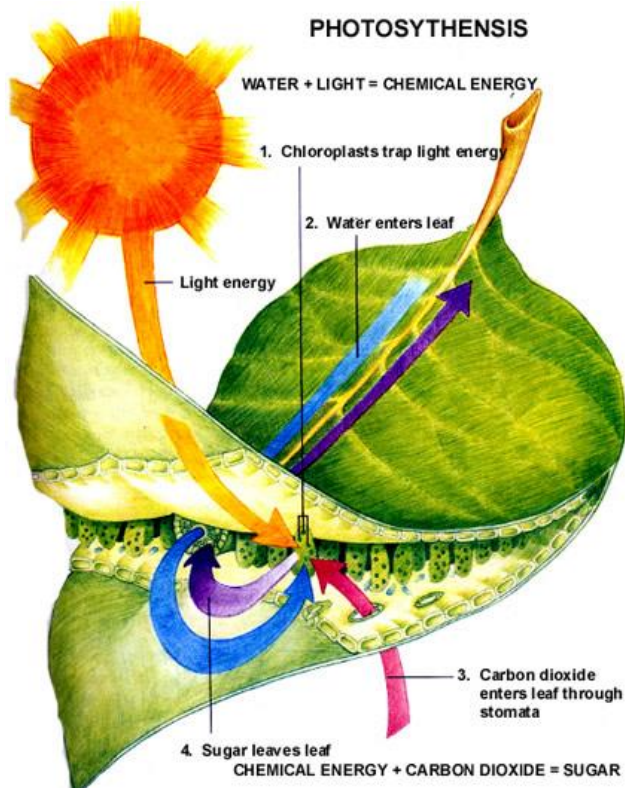
Corso di aggiornamento per insegnanti

In cosa consiste questa esercitazione?

○ Introduzione teorica:

- a) Brevi richiami sul processo di fotosintesi;
- b) Tecniche per la misura degli scambi gassosi fogliari e applicazioni per il monitoraggio dello stato funzionale della vegetazione in campo e in laboratorio;

LA FOTOSINTESI

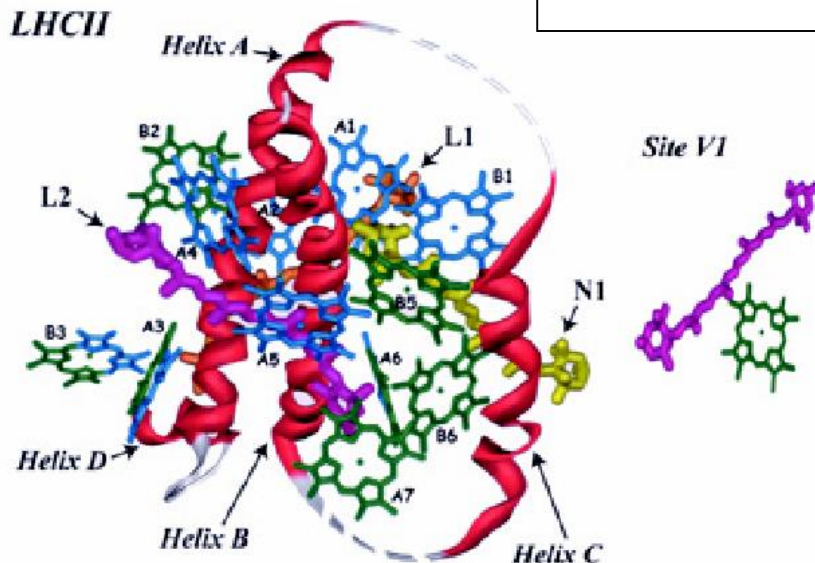
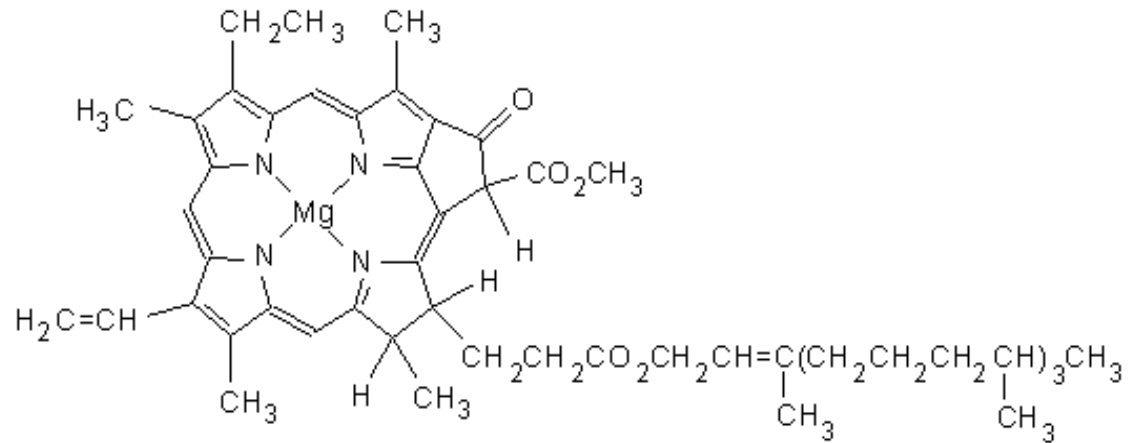


Tutta la vita sulla Terra dipende dalla fissazione dell'energia luminosa effettuata dalle piante nel processo di fotosintesi.

La misura dell'attività fotosintetica è perciò di fondamentale importanza per le Scienze della Vita

La fotosintesi è un processo estremamente sensibile alle variazioni dell'ambiente (es. luce, temperatura e umidità, disponibilità idrica per la pianta ma anche presenza di sostanze inquinanti ecc.), e risponde a queste variazioni attraverso una serie di modificazioni molto rapide.

Qual'è la molecola più importante sulla terra?



La clorofilla!

La fotosintesi è il più importante processo bioenergetico che avviene sul nostro pianeta, e permette l'esistenza della vita e della biosfera.

Il processo della fotosintesi nella piante



Il processo fotosintetico consiste nell'assorbimento, trasformazione e immagazzinamento dell'energia luminosa, ed è costituito da due fasi principali:

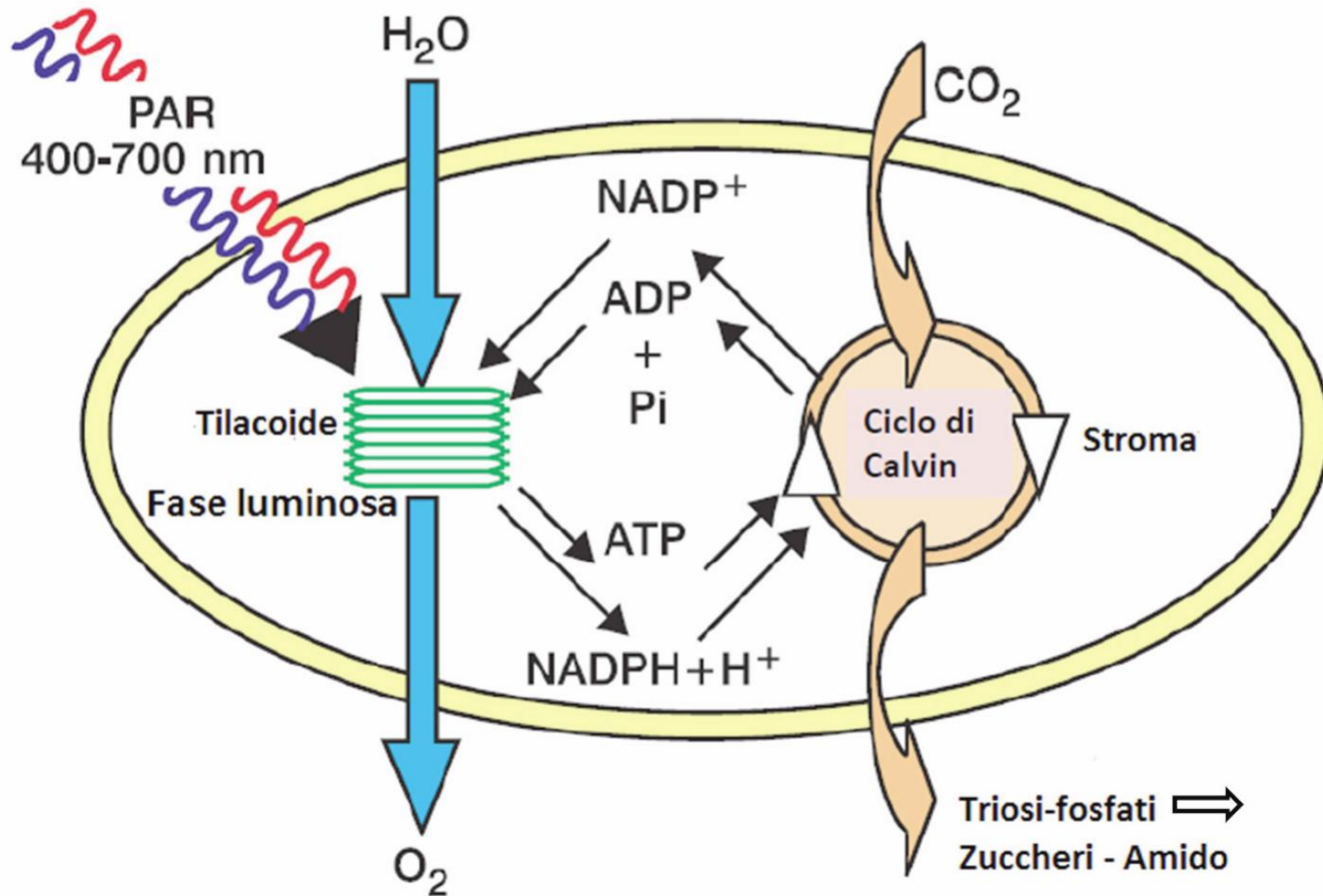
FASE “LUMINOSA” che comprende:

- l'assorbimento della luce da parte dei pigmenti antenna e trasferimento dell'energia verso i centri di reazione;
- il trasferimento dell'energia (sotto forma di elettroni e protoni) dai centri di reazione eccitati alla catena di trasporto elettronico, attraverso la riduzione del plastochinone (Q_A), che costituisce l'accettore primario;
- la trasformazione dell'energia degli elettroni eccitati e dei protoni nel corso di reazioni di ossidoriduzione (redox) e produzione di ATP e NADPH;

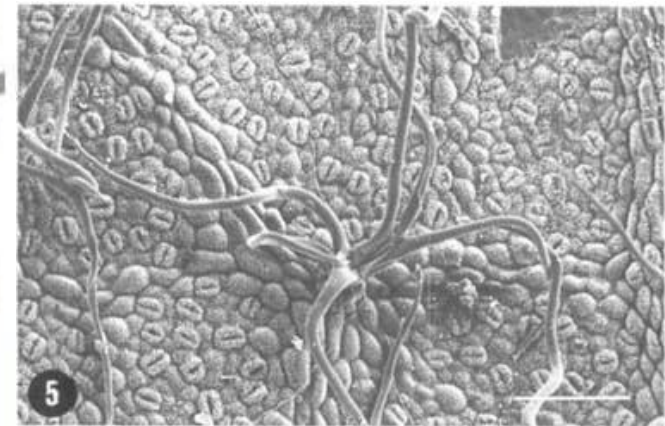
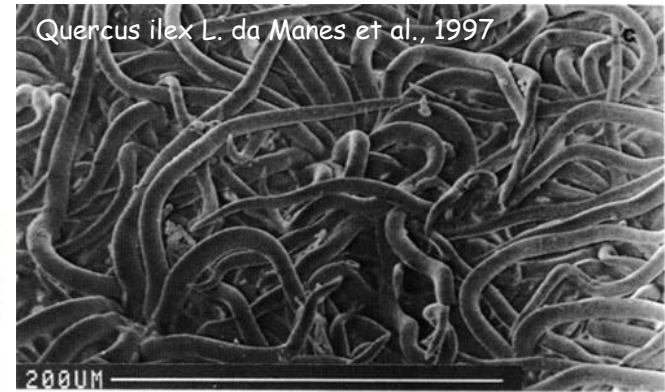
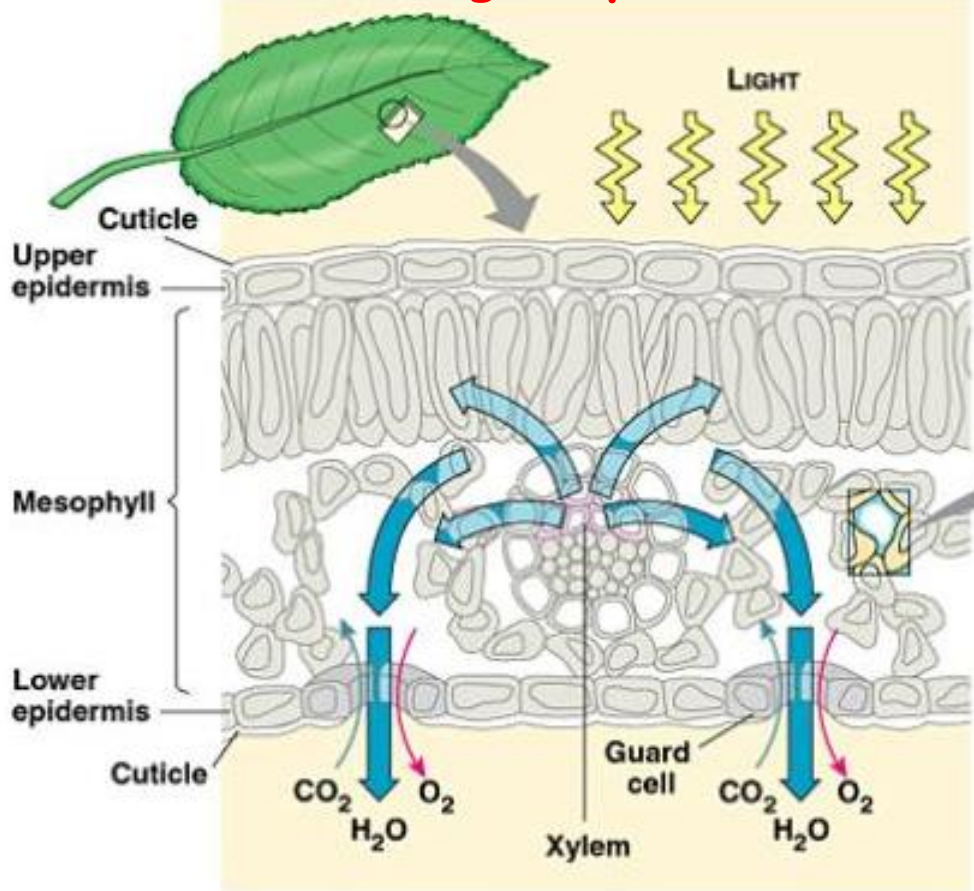
FASE “OSCURA” che comprende:

- l'utilizzo di ATP e NADPH per la sintesi dei prodotti finali della fotosintesi attraverso il Ciclo di Calvin-Benson.

Figura 1.1 – Le due fasi della fotosintesi e la loro interazione all'interno del cloroplasto. Gli eventi luce-dipendenti (fase luminosa) si verificano nella membrana dei tilacoidi e portano alla produzione di NADPH e ATP, utilizzati nel ciclo di Calvin, in cui si verifica l'organizzazione della CO_2 con la produzione di zuccheri (composti organici) (da <http://www.cartage.org.lb/en/themes/sciences/BotanicalSciences/Photosynthesis/Photosynthesis/psoverview.gif>. Ridisegnato da Janusz Golik)



Scambi Gassosi avvengono per diffusione della CO_2 attraverso gli stomi



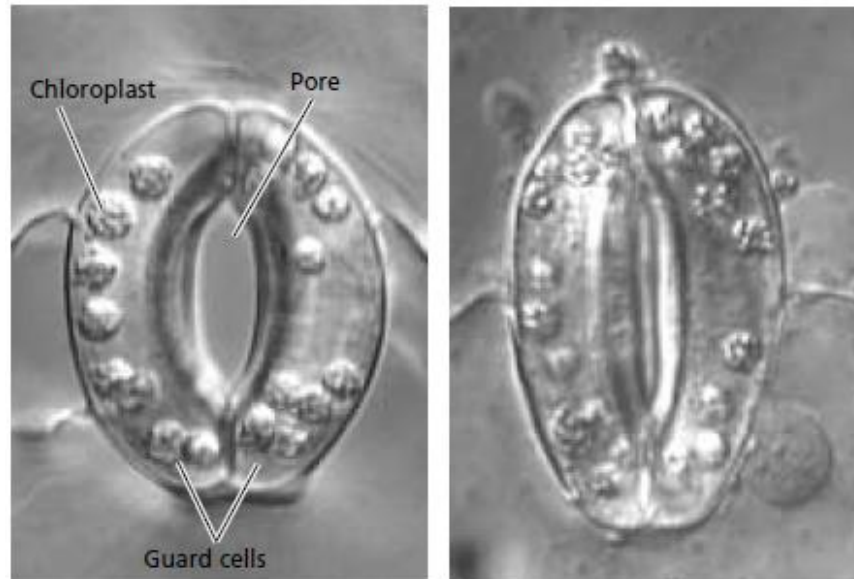
Quercus pubescens Willd. Da Bussotti and Grossoni 1996

La diffusione all'interno della foglia della CO_2 dipende da due fattori:

- **Il gradiente di diffusione**, la differenza tra la concentrazioni di CO_2 nell'aria a ridosso della foglia e quella al suo interno. Le concentrazioni sono espresse in ppm.
- **La conduttanza stomatica**, proporzionale al flusso di CO_2 attraverso gli stomi che dipende dalla loro densità e dalla loro apertura, che è controllata da numerosi fattori ambientali (luce, RH) e biochimici (acido abscissico, attività dei canali di membrana delle cellule di guardia).

CONDUTTANZA STOMATICA

Possiamo definirla come l'inverso della resistenza offerta dagli stomi alla diffusione di H_2O e CO_2 nelle direzioni dei rispettivi gradienti di concentrazione (H_2O verso l'esterno, CO_2 verso l'interno).



Struttura degli stomi in Vicia Faba (da Taiz)

20 μm

- Le piante possono regolarla cambiando l'apertura delle rime stomatiche.
- Per ogni molecola di CO_2 assorbita c'è un dispendio di acqua da parte della foglia.

Possibili metodi di misura della fotosintesi *in vivo*:

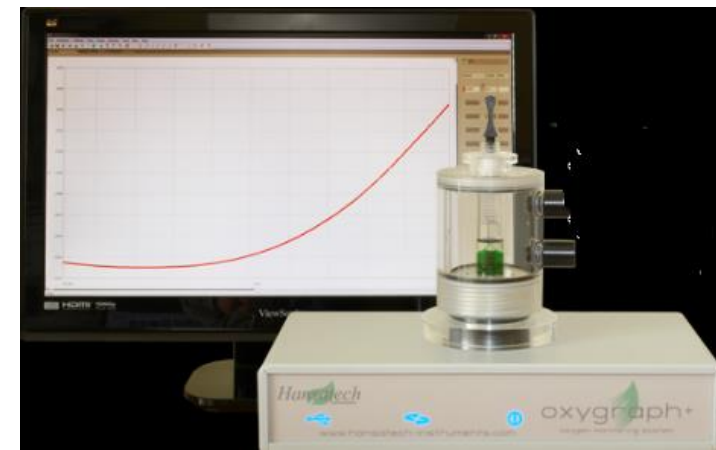
TASSO DI ASSORBIMENTO		TASSO DI PRODUZIONE
$6\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O} + \text{Light Energy}$	=	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{O}_2$
Carbon + Water + Energy	=	Glucose + Oxygen Dioxide

Per misurare la fotosintesi, possiamo misurare il tasso di assorbimento dei componenti sul lato sinistro dell'equazione, o viceversa il tasso di produzione di quelli sul lato destro della stessa.

Misura del tasso di produzione dell'ossigeno (O_2)

L' O_2 costituisce il 21% (210000 ppm) della nostra atmosfera, mentre la CO_2 soltanto lo 0,04% (400 ppm circa).

LA MISURA DEL TASSO DI PRODUZIONE DI O_2 PUO' ESSERE EFFETTUATA SOLO SU SOSPENSIONI DI CLOROPLASTI O PICCOLE PORZIONI DI FOGLIA IMMERSI IN ACQUA, SFRUTTANDO IL METODO DEGLI ELETTRODI.



ATTIVITÀ SPERIMENTALE

Porre alcuni fusticini di *Elodea canadensis* Michx. in due becher riempiti di acqua, e lasciare un becher alla luce (becher 1) e coprire l'altro (becher 2) con un rivestimento oscurante, lasciandoli così per qualche ora.

L'attività fotosintetica di *E. canadensis* sarà da subito evidente grazie alla produzione di ossigeno (O_2).

L'ossigeno prodotto sarà proporzionale al tasso di fotosintesi.

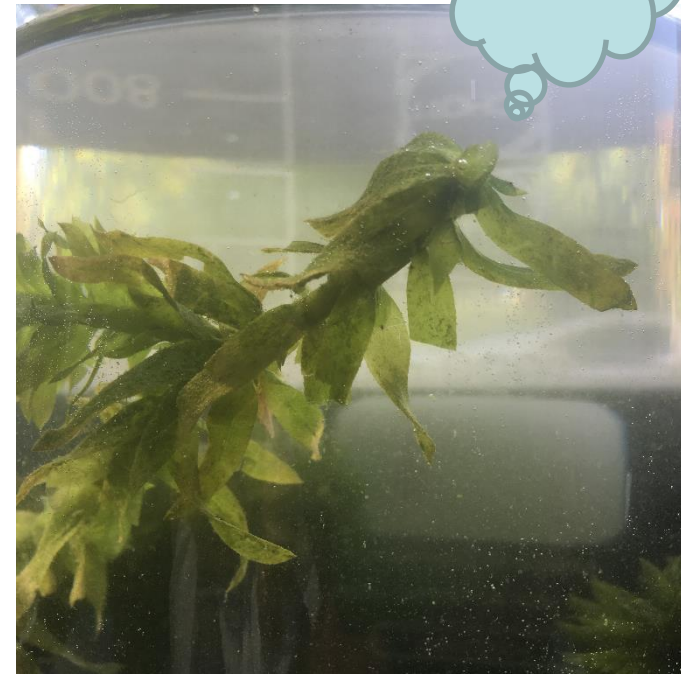
Osservazione dei due becher dopo due ore: becher 1 esposto alla luce; becher 2 mantenuto al buio. Si può apprezzare sulla superficie delle foglioline la produzione di bollicine di O_2 esclusivamente all'interno dei due becher 1.



bacher 1



bacher 2



Particolare del processo di evoluzione dell'ossigeno.



Aumentando o diminuendo la quantità di radiazione luminosa incidente sul bacher posto alla luce, si possono apprezzare variazioni nella evoluzione dell' O_2 dalle foglioline e dai fusticini, che corrispondono all'aumento o alla diminuzione del tasso di fotosintesi.

Misura del tasso di assorbimento dell'anidride carbonica

È IL METODO PIU' FACILE E PIU' UTILIZZATO PER LA MISURA DELLA FOTOSINTESI!

Usando un **analizzatore di gas all'infrarosso** possiamo **rapidamente** misurare concentrazioni di CO_2 fino ad 1ppm, **con misure istantanee**, sfruttando la proprietà dei gas formati da molecole diatomiche - CO_2 e H_2O - di assorbire la luce nella regione dell'infrarosso.

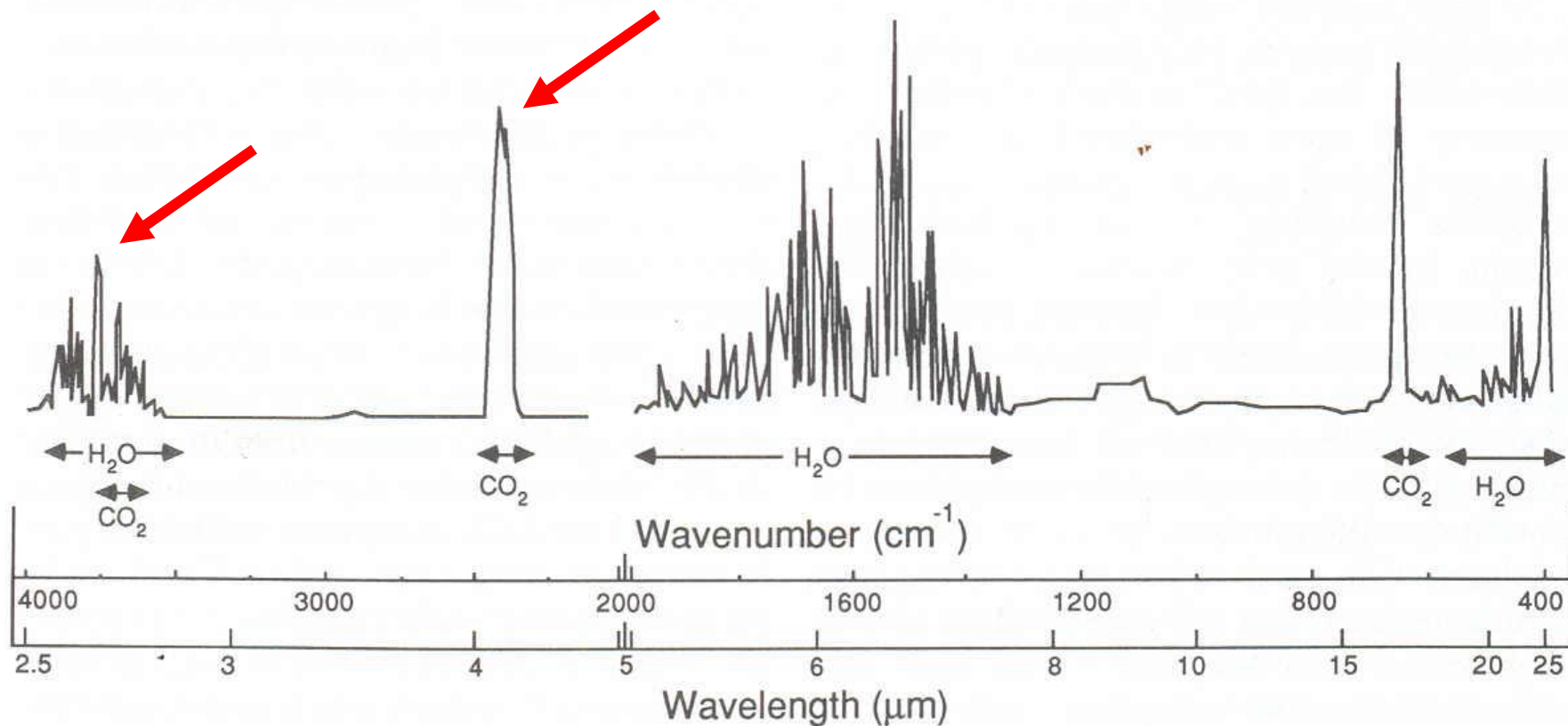


Fig. 11.2 Infrared absorption spectra of CO₂ and H₂O (modified from Sesták *et al.* (1971).

H₂O e CO₂ hanno diversi spettri di assorbimento. In particolare per distinguere le due molecole vengono considerati i picchi a 2.6 e 4.26 μm, per H₂O e CO₂ rispettivamente

UN PO' DI STORIA...

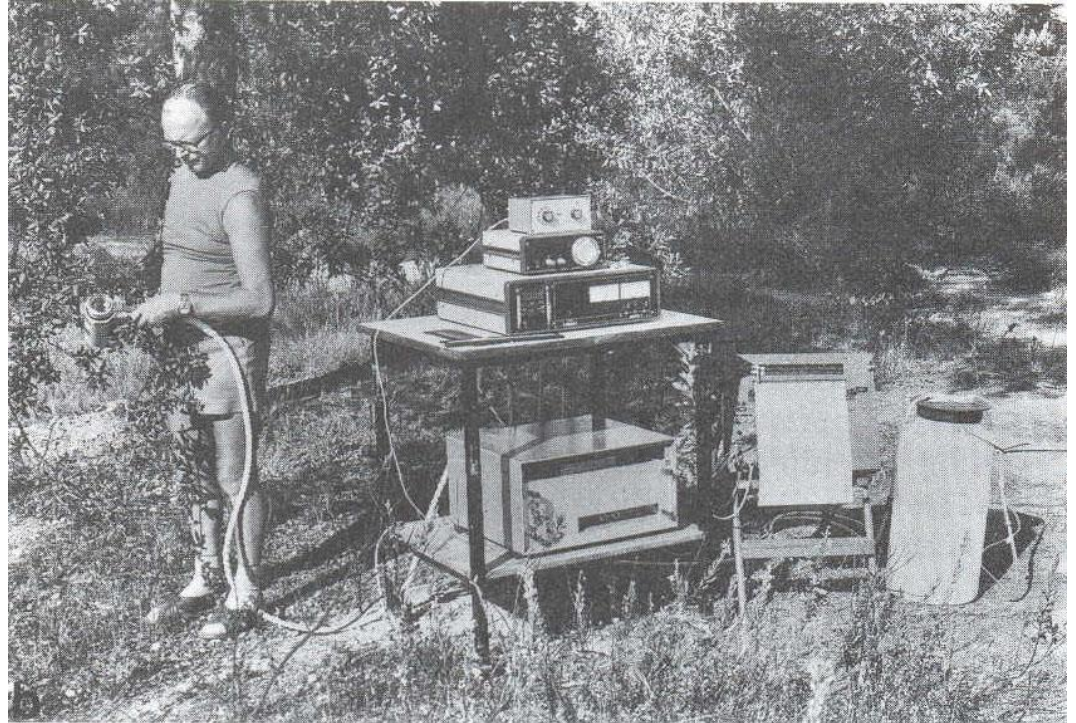


Fig. 11.10 Photographs of four gas-exchange systems operating under field conditions. (a) LI-6200 manufactured by LI-COR (photograph courtesy of LI-COR). (b) The differential system of Schulze *et al.* (1982) in ambient-sampling mode (photograph by Dr W. Beyschlag).

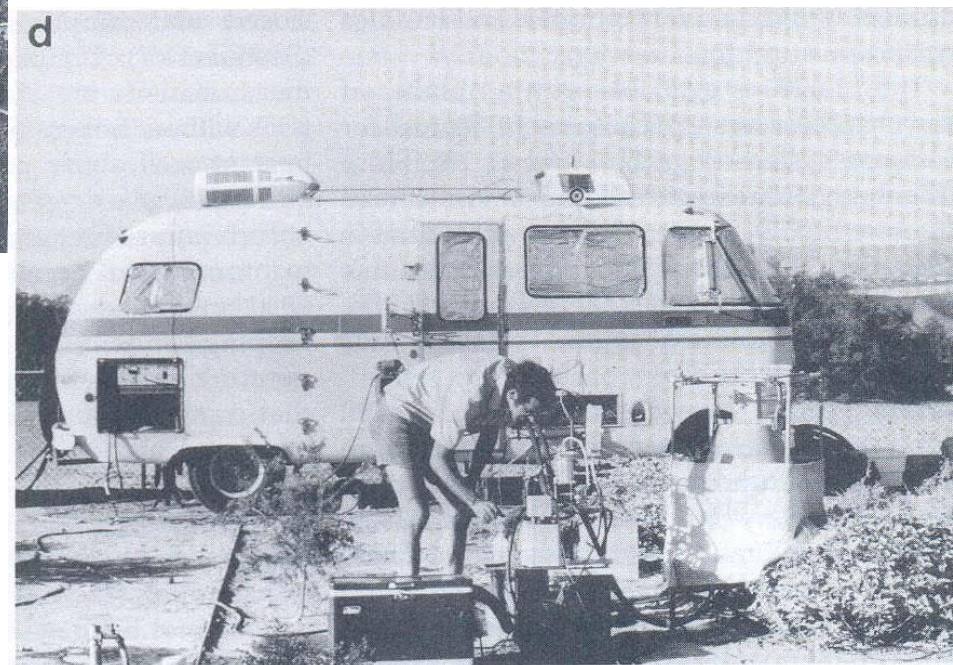
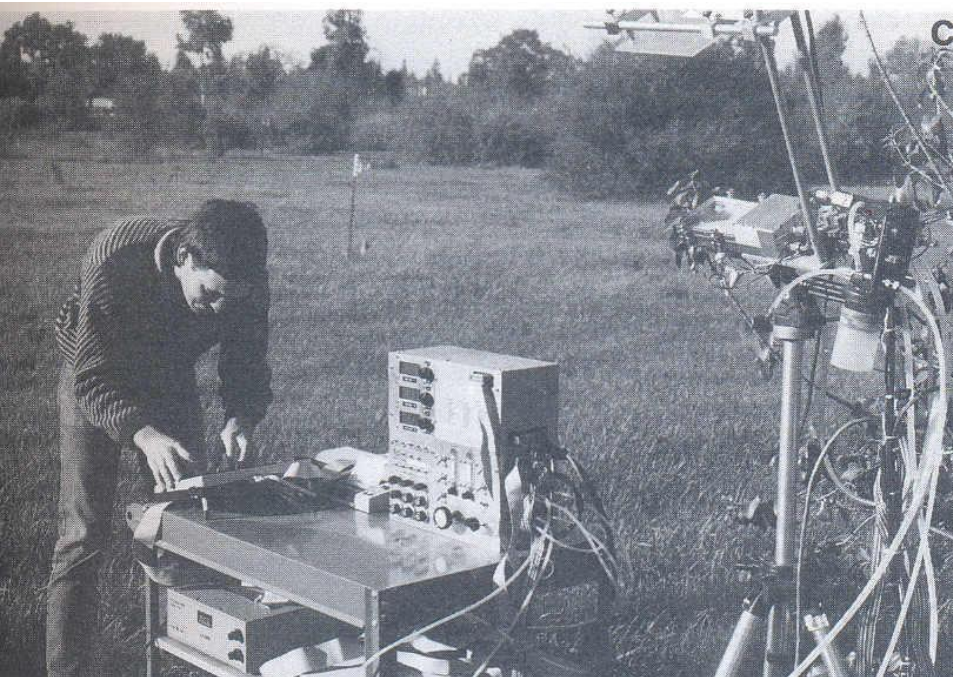


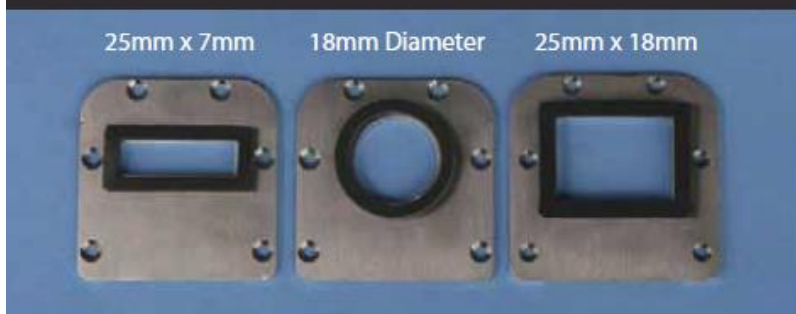
fig. 11.10 (cont) (c) The controlled-environment, compensating system of Field *et al.* (1982). (d) The controlled-environment mobile laboratory of Mooney *et al.* (1971). Each of the systems makes measurements on approximately the same amount of leaf area.

...FINO AI GIORNI NOSTRI: **CIRAS 2** (PP SYSTEMS, UK)





PLC6 (U) Automatic Universal Leaf Cuvette



The PLC6 (U) is supplied with 3 bead plates for different sized leaves.

**Cuvetta universale PLC 6,
con adattatori per
differenti tipologie fogliari**

Ciras 2 (PP Systems, UK)

- il **CIRAS** è un sistema aperto nel quale l'aria viene prelevata dall'esterno e ivi riemessa dopo essere passata nella camera in cui è posta la foglia
- la **fotosintesi netta** (A , $\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2\text{s}$) viene valutata sulle foglie *in vivo* attraverso l'analisi della differenza di concentrazione di CO_2 tra l'aria che entra e quella che fuoriesce dalla camera. Tale differenza viene misurata da un analizzatore all'infrarosso (IRGA), che sfrutta la proprietà della CO_2 di assorbire nell'infrarosso.
- la **traspirazione** (E , $\text{mmol H}_2\text{O}/\text{m}^2\text{s}$) è valutata attraverso la differenza di concentrazione di H_2O tra l'aria in entrata e quella in uscita
- la **conduttanza stomatica** (g_s , $\text{mmol H}_2\text{O}/\text{m}^2\text{s}$) viene calcolata dallo strumento a partire dalla traspirazione (questa dipende dalla resistenza dello stato limite e dalla resistenza stomatica, conoscendo la prima si può ottenere la seconda)
- Durante la misura, lo strumento registra anche i **parametri microclimatici**

Riassumendo, lo strumento calcola sulla base delle equazioni di Farquhar (Farquhar *et al.*, 1980) i seguenti parametri:

Parametri Fisiologici:

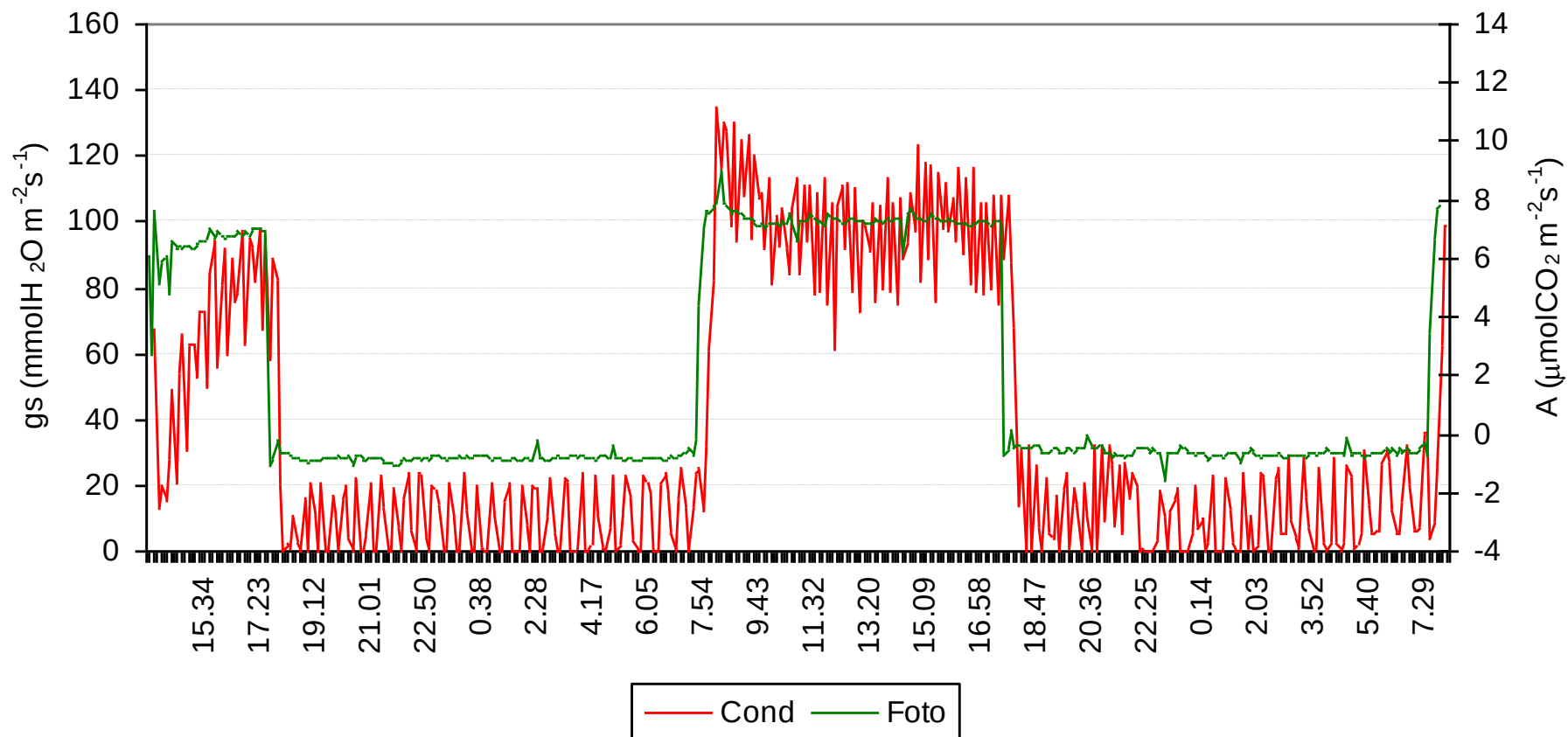
- 1) tasso di fotosintesi netta: A ($\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
- 2) traspirazione: E ($\text{mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
- 3) conduttanza stomatica: g_s ($\text{mmolH}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
- 4) temperatura fogliare: T_{leaf} ($^{\circ}\text{C}$)
- 5) pCO_2 sottostomatica: C_i (ppm).

Parametri Ambientali misurati:

- 1) temperatura dell'aria ($^{\circ}\text{C}$)
- 2) pCO_2 dell'aria (ppm)
- 3) pH_2O dell'aria (mbar)
- 4) intensità della luce fotosinteticamente attiva (tra 400 e 700nm):
PAR ($\mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
- 6) pressione atmosferica (mbar)



Giono notte I sett. fum (11-12-13 feb)



CIRAS-2

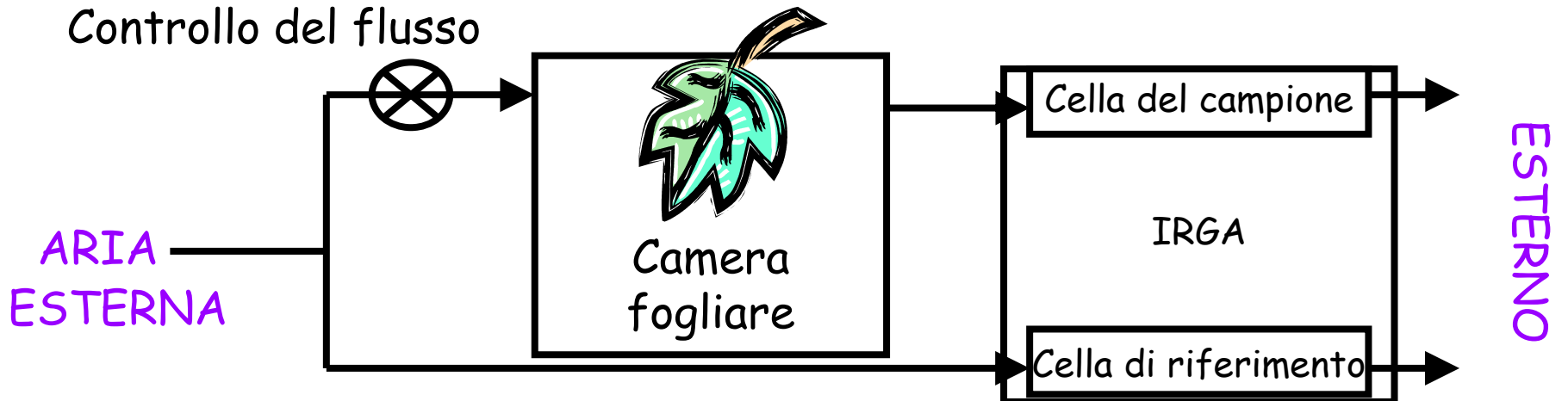
console

(comprende l'IRGA, alcuni dei sensori microclimatici e il computer interno)



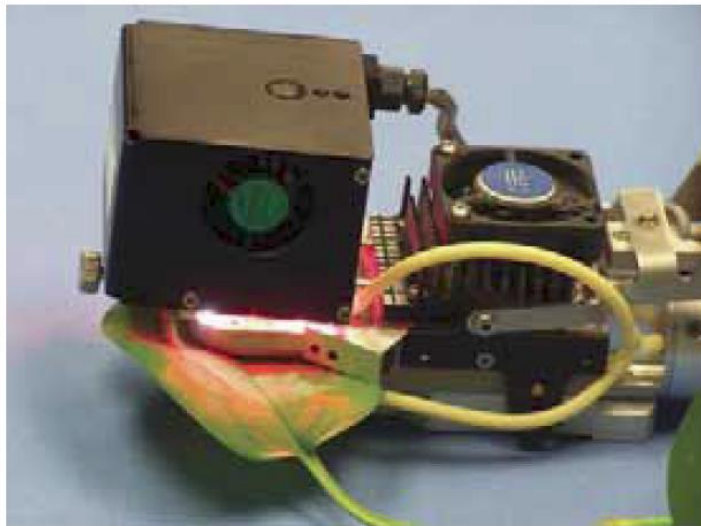
cuvetta (comprende la camera fogliare e il sensore per la misura della radiazione luminosa)

Controllo del flusso



Utilizzo del CIRAS 2 in campo, in camera di crescita...





LED light unit fitted to the PLC6 (U).

...o in laboratorio, con
l'aggiunta dell'unità di luce
supplementare

