

Zaštita bilja
vol. 58 (1-4), No 259-262, 79-88, 2007, Beograd

UDK 582.96:581.132
Naučni rad

UTICAJ GODIŠNJIH PROMENA TEMPERATURE I SVETLOSTI (PAR) NA INDUKCIJU FLUORESCENCIJE CHLA IN SITU KOD *PLANTAGO LANCEOLATA* L.

BOGDAN NIKOLIĆ¹, ZORAN Milićević¹, DOBRIVOJ POŠTIĆ¹, DEJAN DODIG²,
VLADAN JOVANOVIĆ², VASKRSIJA JANJIĆ³

¹Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd

²Institut za kukuruz „Zemun-Polje“, Zemun, Beograd

³Institut za pesticide i zaštitu životne sredine, Zemun, Beograd

Fluorescencija Chla, kao pokazatelj fotosinteze, posebno je osetljiva na promene temperature i intenziteta svetlosti (PAR). To omogućava praćenje uticaja ovih ekofizioloških parametara na fotosintezu nativnih biljaka. U ovom radu dat je pregled uticaja godišnjih promena temperature i PAR na parametre fluorescencije Chla kod *Plantago lanceolata* (L.), biljne vrste zastupljene u toplijem delu godine. Sniženje temperature umanjuje kvantni prinos i usporava transport elektrona u PS₂, što dovodi do niskotemperaturne fotoinhicicije. Međutim, to se odvija jačanjem fotoprotективnih procesa i promenom redoks stanja pula plastohinonu u PS₂, pa pomenute procese možemo posmatrati kao aklimaciju na nisku temperaturu. Ipak, vremenom dolazi do gašenja fizioloških procesa i izumiranja nadzemnih organa ove vrste tokom zime. Ovi nalazi diskutuju se odnosno životne strategije druge simpatičke vrste roda *Plantago*.

Ključne reči: temperatura, PAR, fluorescencija Chla, godišnje promene, *Plantago lanceolata* (L.)

UVOD

Fotosinteza, kao proces pretvaranja energije, zavisi od intenziteta (PAR) i kvaliteta (R/FR aklimacija) svetlosti. PAR je najvažniji promenljivi faktor sredine koji deluje na biljke (Björkman, 1981). Taj faktor varira sezonski, dnevno

Skraćenice: PAR: fotosintetski aktivna radijacija (identična vidljivoj sunčevoj svetlosti); Chla: hlorofil a; PS₂: fotosistem 2; R/FR: odnos intenziteta crvene i tamnocrvene svetlosti; F₀: minimalna vrednost fluorescencije Chla; Fm: maksimalna vrednost fluorescencije Chla; Fv: Fm-F₀; Fv/Fm, Fv/F₀: potencijalni kvantni prinos fotosistema 2

i prostorno. Biljke sunca, generalno gledano, imaju intenzivniju fotosintezu pri većoj PAR, od biljke senke (Björkman, 1981).

Pored svetlosti i temperaturne deluje na fotosintezu, kao značajan ekofiziološki faktor (Berry i Björkman, 1980). Temperatura deluje na fotosintezu kao na niz enzimskih reakcija, saglasno Mihaelis-Mentenovoj kinetici (Edwards i Walker, 1983), što je slučaj sa fotosintetskim reakcijama u stromi („tamna faza fotosinteze“). Temperatura takođe deluje i na membranske fotosintetske reakcije („svetla faza fotosinteze“), što najviše zavisi od statusa lipida tilakoida (Lyons i sar., 1979; Nishida i Murata, 1996).

Membranske reakcije fotosinteze povezane su sa fotosintetskim procesima strome (Edwards i Walker, 1983; Geiger i Servaites, 1994; Long i sar., 1994), pa praćenjem „svetle faze“ možemo procenjivati ukupnu fotosintezu. Uobičajena tehnika za praćenje membranskih reakcija fotosinteze je fluorescencija Chla (Krause i Weis, 1991). Ovako procenjujemo „svetlu fazu“ i ukupnu fotosintezu u različitim ekofiziološkim situacijama (Björkman i Demmig, 1987; Genty i sar., 1989; Burke, 1990; Demmig-Adams i Adams, 1992; Oberhuber i Edwards, 1993). Ekofiziološke studije uticaja svetlosti i temperature na fotosintezu *in situ* obično uključuju PAM fluorimetriju (Maxwell i Johnson, 2000), dok se metoda nemodulisane fluorimetrije mnogo manje se primenjuje u ekofiziologiji.

MATERIJAL I METODE

Indukcija fluorescencije Chla praćena je *Handy-PEA* portabl fluorometrom (*Hansatech*, UK). Ovaj aparat ima softver za izračunavanje, numeričko predstavljanje i memorisanje parametara indukcije fluorescencije Chla. Tokom ogleda praćeni su sledeći parametri: F_0 , Fm, Fv/Fm, Fv/ F_0 (definisani saglasno: Krause i Weis (1991), Strasser i sar. (1995) i Maxwell i Johnson (2000)), kao i parametri Pindex (indeks relativne vitalnosti fotosinteze), Tfm (msec; vreme dostizanja Fm: pokazatelj brzine redukcije Q_A akceptora PS₂, tj. brzine transporta elektrona u PS₂) i A (area; bmS; površina iznad krive indukcije fluorescencije između F_0 i Fm: merilo veličine pula plastohinona u PS₂) (Strasser i sar., 1995). Fotosintetski aktivna radijacija (PAR; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) merena je *Li-1000* „svetlomerom“ (*Li-Cor*, USA), dok je temperatura vazduha u blizini biljaka merena *BIG DIGIT Dual Thermo* termometrom (opseg merenja: od -50 °C do +70 °C).

Pošto su PAR i temperatura merilo energije (svetlosne ili termalne) kojoj su biljke izložene, pre statističke obrade uradili smo tzv. Arrheniusovu transformaciju rezultata (Marković i sar., 1996).

Transformacija rezultata urađena je kod parametara koji nisu dati kao odnosi (F_0 , Fm, Tfm i A), tako što se oni logaritmuju prirodnim logaritmom, a PAR i

apsolutna temperatura ($T; {}^{\circ}\text{K}$) daju se kao recipročne vrednosti ($1/A$, $1/T$). Kod parametara datih kao odnosi (Fv/Fm , Fv/F_0 i Pindex) pomenuta transformacija se ne vrši. Statistička obrada rezultata (određivanje srednje vrednosti merenja, korelaciona i regresiona analiza odnosa parametri fluorescencije (transformisani ili netransformisani) vs. $1/\text{PAR}$ ili $1/T$) obavljena je u programskom paketu *Excel* (*Microsoft*, USA).

Merenja indukcije fluorescencije Chla vršena su na biljkama *Plantago lanceolata* (L.) („muška bokvica“) *in situ* u Zemunu (≈ 100 m n.v.). Merenja su vršena u periodu oktobar 2005-februar 2006 na svakih 15 dana, dok je od marta do oktobra 2006 to činjeno na otprilike 30 dana. Ta merenja se obavljaju po jednočasovnoj aklimamaciji delova listova na tamu (tzv. lisnom viljuškom) *in situ* u 4 ponavljanja. To je potrebno radi određivanja parametra F_0 .

REZULTATI

Zapažamo da tokom perioda oktobar 2005-oktobar 2006 parametar PAR statistički značajno raste (Tabela 1), međutim uzorkovanje nije bilo vremenski ravnomerno, pa rezultate regresione analize ne prikazujemo.

Kod *Plantago lanceolata* temperatura ima veliki uticaj na parametre indukcije fluorescencije Chla (Tabela 1). Tako, pri sniženju temperature (veće $1/T$ vrednosti!) dolazi do značajnog (0,001% prag značajnosti) porasta parametara $\ln F_0$ i $\ln F_{\text{fm}}$ (Tabela 1; Grafici 1 i 6), dok parametar $\ln F_m$ značajno (0,01% prag značajnosti) opada (Tabela 1; Grafik 2), kao i parametri Fv/Fm , Fv/F_0 i Pindex (0,001% prag značajnosti) (Tabela 1; Grafici 3, 4 i 5). Znači, usled sniženja temperature smanjuju se vrednosti varijabilne i ukupne fluorescencije, kvantnog prinosa PS_2 i ukupne fotosinteze (Tabela 1; Grafici 2, 3, 4, 5). Istovremeno dolazi do jačanja fotoprotективnih procesa (više vrednosti $\ln F_0$) i promene redoks stanja pulja plastohinona PS_2 (Tabela 1; Grafici 1, 6) u navedenim uslovima.

Tabela 1 – Korelacioni odnosi vremena merenja i parametara indukcije fluorescencije Chla prema recipročnim vrednostima apsolutne temperature ($1/T; {}^0\text{K}$) i fotosintetski aktivne radijacije ($1/\text{PAR}; \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) mereni kod *Plantago lanceolata* (L.).

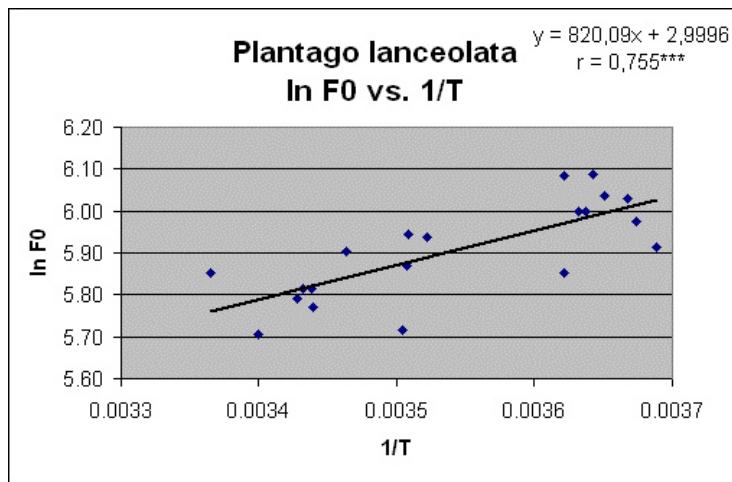
Table 1 – Corelative relationship between time of measurement and parameters of Chla fluorescence induction against reciprocal values of absolute temperature ($1/T; {}^0\text{K}$) and photosynthetic active radiation ($1/\text{PAR}; \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) measuring in *Plantago lanceolata* (L.).

Ukupno	Vreme	$\ln F_0$	$\ln Fm$	Fv/Fm	Fv/F_0	Pindex	$\ln Tfm; \text{mS}$	$\ln A; \text{bmS}$	$1/\text{PAR}; \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	$1/T; {}^0\text{K}$
Vreme	1.000									
$\ln F_0$	-0.627	1.000								
$\ln Fm$	-0.090	-0.191	1.000							
Fv/Fm	0.012	-0.301	0.985	1.000						
Fv/F_0	0.127	-0.513	0.932	0.941	1.000					
Pindex	0.239	-0.632	0.817	0.845	0.944	1.000				
$\ln Tfm; \text{mS}$	-0.591	0.814	-0.443	-0.531	-0.664	-0.757	1.000			
$\ln A; \text{bmS}$	-0.317	0.166	0.858	0.844	0.650	0.497	-0.109	1.000		
$1/\text{PAR}; \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	-0.457 ^a	0.186	0.215	0.158	0.137	-0.098	0.152	0.301	1.000	
$1/T; {}^0\text{K}$	-0.407	0.755 ^c	-0.645 ^b	-0.708 ^c	-0.824 ^c	-0.883 ^c	0.779 ^c	-0.300	0.177	1.000

a LSD_{0,05} = 0.444 ,

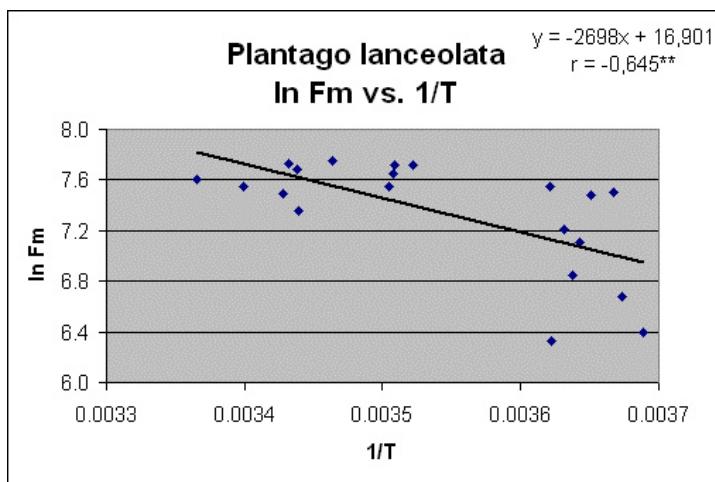
b LSD_{0,01} = 0.561 ,

c LSD_{0,001} = 0.679



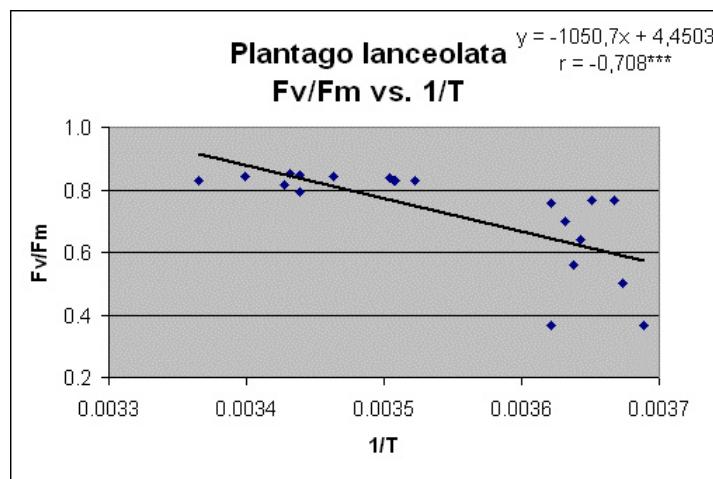
Grafik 1 – Regresioni odnos $\ln F_0$ parametra indukcije fluorescencije Chla prema recipročnim vrednostima apsolutne temperature ($1/T$; $^{\circ}\text{K}$). Mereno kod *Plantago lanceolata*.

Graph 1 – Regression relationship between $\ln F_0$ parameter of Chla fluorescence induction and reciprocal values of absolute temperature ($1/T$; $^{\circ}\text{K}$). Measured on a *Plantago lanceolata*.



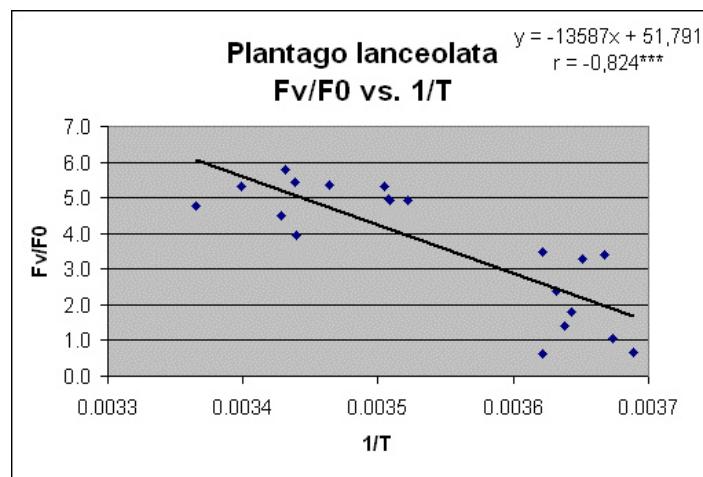
Grafik 2 – Regresioni odnos $\ln F_m$ parametra indukcije fluorescencije Chla prema recipročnim vrednostima apsolutne temperature ($1/T$; $^{\circ}\text{K}$). Mereno kod *Plantago lanceolata*.

Graph 2 – Regression relationship between $\ln F_m$ parameter of Chla fluorescence induction and reciprocal values of absolute temperature ($1/T$; $^{\circ}\text{K}$). Measured on a *Plantago lanceolata*.



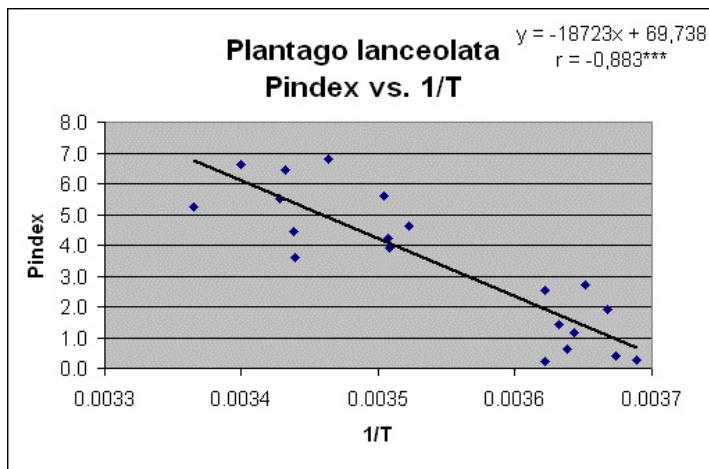
Grafik 3 – Regresioni odnos Fv/Fm parametra indukcije fluorescencije Chla prema recipročnim vrednostima apsolutne temperature (1/T; °K). Mereno kod *Plantago lanceolata*.

Graph 3 – Regression relationship between Fv/Fm parameter of Chla fluorescence induction and reciprocal values of absolute temperature (1/T; °K). Measured on a *Plantago lanceolata*.



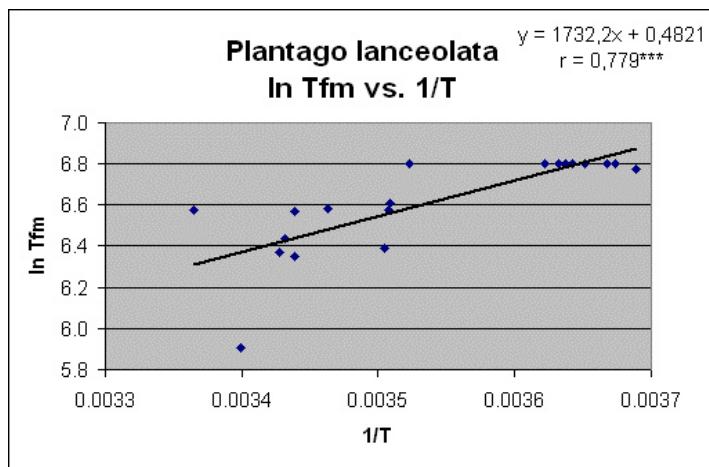
Grafik 4 – Regresioni odnos Fv/F₀ parametra indukcije fluorescencije Chla prema recipročnim vrednostima apsolutne temperature (1/T; °K). Mereno kod *Plantago lanceolata*.

Graph 4 – Regression relationship between Fv/F₀ parameter of Chla fluorescence induction and reciprocal values of absolute temperature (1/T; °K). Measured on a *Plantago lanceolata*.



Grafik 5 – Regresioni odnos Pindex parametra indukcije fluorescencije Chla prema recipročnim vrednostima apsolutne temperature ($1/T$; $^{\circ}\text{K}$). Mereno kod *Plantago lanceolata*.

Graph 5 – Regression relationship between Pindex parameter of Chla fluorescence induction and reciprocal values of absolute temperature ($1/T$; $^{\circ}\text{K}$). Measured on a *Plantago lanceolata*.



Grafik 6 – Regresioni odnos ln Tfm (mS) parametra indukcije fluorescencije Chla prema recipročnim vrednostima apsolutne temperature ($1/T$; $^{\circ}\text{K}$). Mereno kod *Plantago lanceolata*.

Graph 6 – Regression relationship between ln Tfm (mS) parameter of Chla fluorescence induction and reciprocal values of absolute temperature ($1/T$; $^{\circ}\text{K}$). Measured on a *Plantago lanceolata*.

DISKUSIJA

Izneti rezultati mogu da objasne nešto veću otpornost *Plantago lanceolata* na niske temperature odnosno *Plantago maior* (Nikolić i sar., 2008). Povišenje F_0 (Tabela 1; Grafik 1), kao merilo fotoprotективnih procesa u PS₂ (Krause i Weis, 1991), ukazuje na dinamičku fotoinhibiciju fotosinteze (Demmig-Adams i Adams, 1992; Osmond, 1994), kao kontrolisano, aklimaciono sniženje fotosintetske aktivnosti, uz delimično očuvanje fotosintetskih funkcija.

Sve to ipak ne „spašava“ *Plantago lanceolata* od sniženja fotosintetske aktivnosti (Tabela 1; Grafici 2, 3, 4 i 5) i razvoja procesa senescencije listova uslovljeno niskim temperaturama. To je u skladu sa životnom strategijom *Plantago lanceolata*, kao vrste koja napreduje tokom toplijeg dela godine, a preživljava hladniji deo sezone preko podzemnih organa (Sagar i Harper, 1964). Da li ova nešto veća otpornost fotosinteze *Plantago lanceolata* (Tabela 1; Grafici 1 i 6) prema niskim temperaturama, u odnosu na npr. *Plantago maior* (Nikolić i sar., 2008), pruža neke kompetitivne prednosti (npr. duža vegetaciona sezona sa većom produkcijom rezervne organske materije i semena), nije jasno i može biti predmet daljih istraživanja.

LITERATURA

- Berry, J. i O. Björkman (1980) Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. Annual Revue of Plant Physiology, 31: 491-543.
- Björkman, O. (1981) Responses to Different Quantum Flux Densities. in: Encyclopedia of Plant Physiology Vol. 12A: 57-107.
- Björkman, O. i B. Demmig (1987) Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77K among vascular plants of diverse origins. Planta, 170: 489-504.
- Burke, J.J. (1990) Variation among species in the temperature dependence of the reappearance of variable fluorescence following illumination. Plant Physiology, 93: 652-656.
- Demmig-Adams, B. i W.W. III Adams (1992) Photoprotection and other Responses of Plants to High Light Stress. Annual Revue of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 43: 599-626.
- Edwards, G. i D. Walker (1983) C₃, C₄: Mechanisms, and cellular and environmental regulation of photosynthesis. Blackwell, Oxford, UK.
- Geiger, D.R. i J.C. Servaites (1994) Diurnal regulation of photosynthetic carbon metabolism in C₃ plants. Annual Revue of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 44: 235-256.
- Genty, B., Briantais, J.-M. i N.R. Baker (1989) The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. Biochimica et Biophysica Acta, 990: 87-92.

- Krause, G.H. i E. Weis (1991) Chlorophyll fluorescence: The Basics. Annual Revue of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 42: 313-349.
- Long S.P., Humphries S. i P.G. Falkowski (1994) Photoinhibition of Photosynthesis in Nature. Annual Revue of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 45: 633-662.
- Lyons, J.M., Graham D. i J.K. Raison (eds.) (1979) Low temperature stress in crop plants. Academic Press, New York.
- Marković, D., Jeremić, M. i Č. Radenović (1996) Savremena Biofizika. 4. Zakasnela Fluorescencija Hlorofila. Velarta, Beograd, ISBN 86-7138-015-7.
- Maxwell, K. i G.N. Johnson (2000) Chlorophyll fluorescence-a practical guide. Journal of Experimental Botany, 51 (345): 659-668.
- Nikolić, B., Dodig, D., Jovanović, V., Janjić, V. i Z. Milićević (2008) Uticaj godišnjih promena temperature i svetlosti (PAR) na indukciju fluorescencije Chla *in situ* kod *Stellaria media* (L.) i *Plantago maior* (L.). Acta herbologica, Vol. 17, No. 1: 147-153.
- Nishida, I. i N. Murata (1996) Chilling sensitivity in plants and cyanobacteria: the crucial contribution of membrane lipids. Annual Revue of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 47: 541-568.
- Oberhuber, W. i G.E. Edwards (1993) Temperature Dependence of the Linkage of Quantum Yield of Photosystem II to CO₂ Fixation in C₄ and C₃ Plants. Plant Physiology, 101: 507-512.
- Osmond C.B. (1994) What is photoinhibition? Some insight from comparisons of shade and sun plants. in: PHOTOTOINHIBITION OF PHOTOSYNTHESIS: from molecular mechanisms to the field (eds. Baker N.R. and Bowyer J.R.), pp. 1-24; BIOS, Oxford, UK
- Sagar G.R. i J.L. Harper (1964) Biological flora of British Isles: *Plantago maior* L., *Plantago media* L. and *Plantago lanceolata* L. Journal of Ecology, 52: 189-221.
- Strasser, R., Srivastava, A. i Govindjee (1995) Polyphasic chlorophyll a fluorescence transient in plants and cyanobacteria. Photochemistry and Photobiology, 61: 32-34.

(Primljeno: 03.12.2008.)
(Prihvaćeno: 26.02.2009.)

ZAHVALNICA

Zahvaljujemo se kolegama iz Instituta za poljoprivredna i tehnološka istraživanja iz Zaječara, koji su nam pozajmili Handy-PEA fluorometar. Rad je finansiran sredstvima sa projekata Ministarstva nauke Republike Srbije.

INFLUENCE OF ANNUAL CHANGES OF TEMPERATURE AND LIGHT (PAR) ON INDUCTION OF CHLA FLUORESCENCE *IN SITU* IN *PLANTAGO LANCEOLATA* (L)

BOGDAN NIKOLIĆ¹, ZORAN Milićević¹, DOBRIVOJ Poštić¹, DEJAN DODIG²,
VLADAN JOVANOVIĆ², VASKRSIJA JANJIĆ³

¹Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade

²Maize Research Institute „Zemun-Polje“ Zemun, Belgrade

³Pesticides and Environment Protection Institute, Zemun, Belgrade

SUMMARY

Chla fluorescence, as a mode of estimation of photosynthesis, especially are sensitive to changes of temperature and intensity of light (PAR). This enable to follow influence of this ecophysiological parameters of native plants photosynthesis. In this article we investigated influence of annual changes of temperature and PAR on parameters of induction of Chla fluorescence in *Plantago lanceolata* (L.), plant species more represented in warmer part of year. Lowering of temperature reduces quantum efficacy and electron transport in PS₂ and induced low-temperature photoinhibition of photosynthesis. But, this is because of stronger photoprotective processes and changes of redox state of plastoquinone pool in PS₂. Because that this processes we viewed as a acclimation to low temperatures. But with prolonged low- temperature exposure all physiological processes quenched and all aboveground parts delayed in that species. If we compare some different acclimation to low temperatures *Plantago lanceolata* and *Plantago maior*, species which settled in very neighbouring sites, the conclusion of that discussion is question: „Is it different acclimative responses of this species in condition of low temperatures, reason for possible competitive advantage one of them?“ This is object of future investigation.

(Received: 03.12.2008.)
(Accepted: 26.02.2009.)