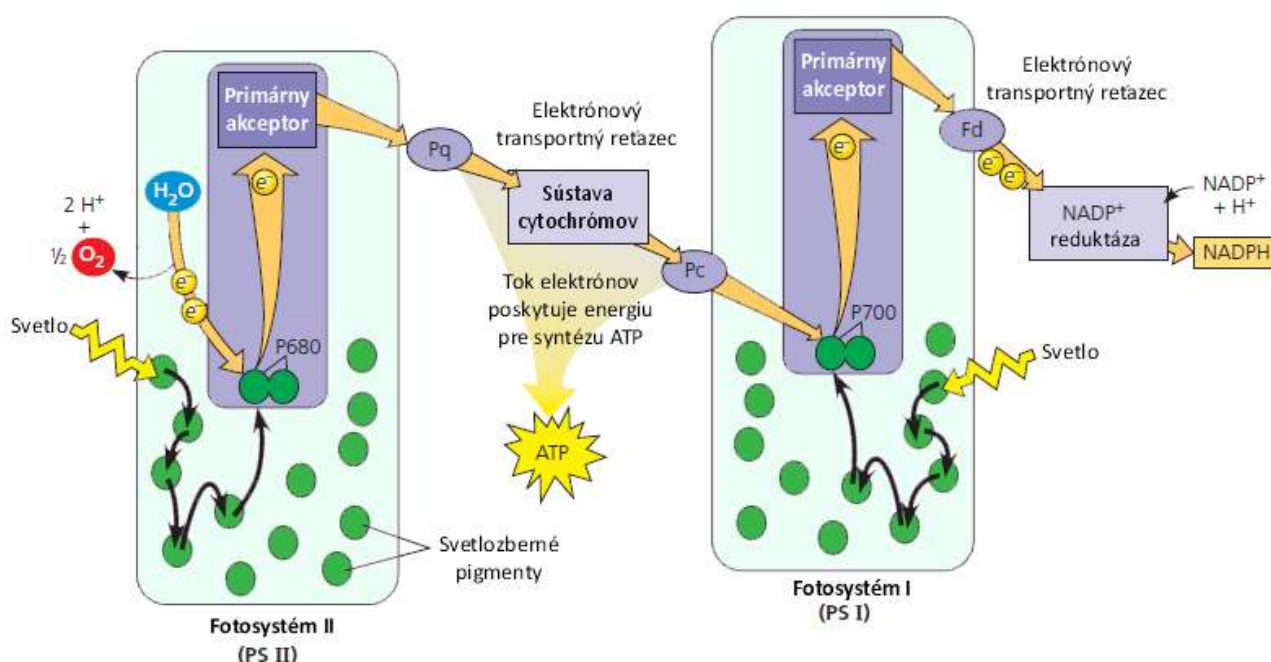


Téma: Fotosyntéza a anatómia C3 a C4 rastlín

Úvod:

Fotosyntéza sa dá s určitou istotou označiť za jednu z najdôležitejších reakcií v biosfére. Jedná sa o komplexný proces pozostávajúci z viacerých reakcií, ktoré sa dajú rozdeliť na svetlú fázu (primárne procesy fotosyntézy) a tmavú fázu (sekundárne procesy fotosyntézy). Počas svetlej fázy fotosyntézy dochádza k absorpcii svetelnej energie a jej premene na energiu chemických väzieb. Detailnejšie je táto fáza znázornená na nasledujúcej schéme.



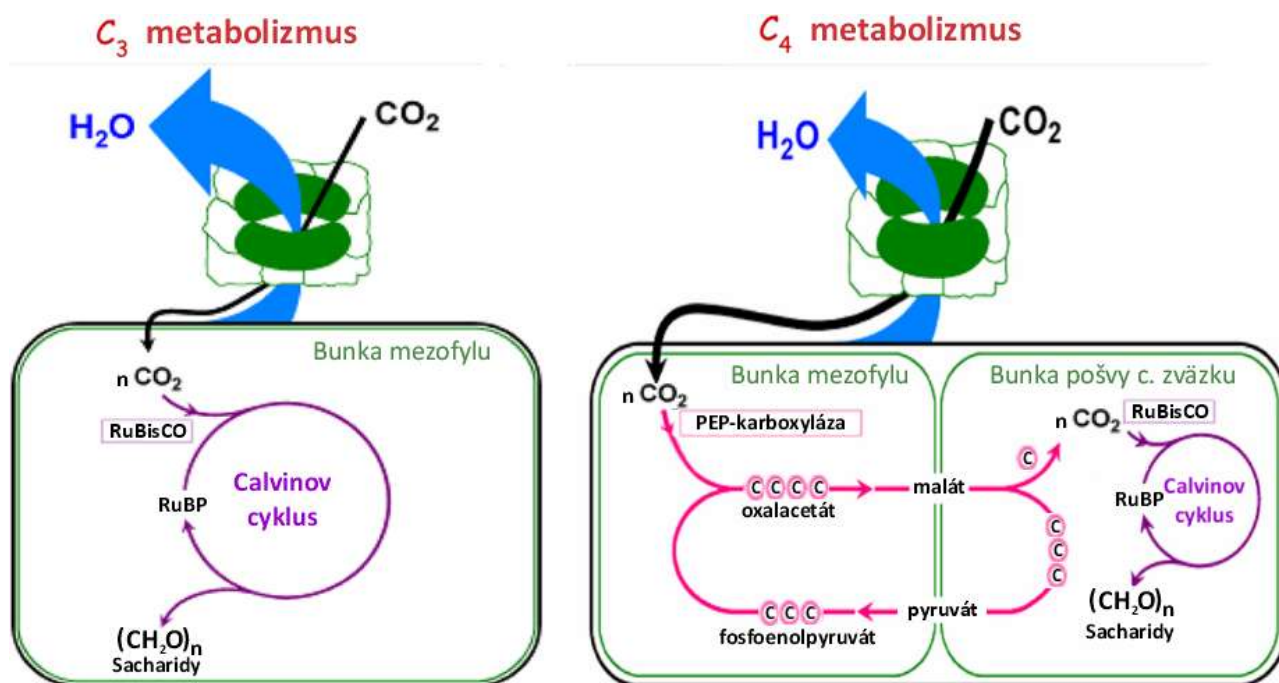
V priebehu tmavej fázy sa potom využije získané ATP na zabudovanie oxidu uhličitého do sacharidov. Samotnú karboxyláciu pritom zabezpečuje enzým RuBisCO – pravdepodobne najhojnejší enzým na Zemi. Jeho úlohu je naviazať molekulu CO_2 zo vzduchu na 5-uhlíkatý cukor ribulózu-1,6-bisfosfát (RuBP), pričom vznikne nestabilná 6-uhlíkatá zlúčenina, ktorá sa rozpadne na dve 3-uhlíkaté molekuly. Časť z nich sa potom použije na regeneráciu ribulózu-1,6-bisfosfátu a menšia časť sa môže využiť na syntézu sacharidov ako napr. glukózy či v iných metabolických dráhach. Tento mechanizmus je medzi rastlinami najrozšírenejší a tie, u ktorých sa vyskytuje sa označujú ako C3 rastliny.

RuBisCO však nevykazuje dostatočnú substrátovú špecifitu a pokiaľ je pomer koncentrácie kyslíka a oxidu uhličitého v bunke príliš vysoký, naväzuje tento enzým na ribulózu-1,6-bisfosfát molekulu kyslíka, za vzniku inej 5-uhlíkatej zlúčeniny, ktorá sa musí zložito spracovať. Tento proces sa označuje ako fotorespirácia a pre rastlinu je energeticky nevýhodný. Pri súčasnej koncentracii CO_2 a O_2 v atmosfére je pomer naviazaného CO_2 a O_2 priemerne približne 3:1. Významný problém je fotorespirácia hlavne u rastlín vyskytujúcich sa v suchých a teplých oblastiach kde je relatívne množstvo naviazaného kyslíka ešte výrazne vyššie.

Jedným z riešení tohto problému môžeme nájsť u C4 rastlín. Tie CO_2 zo vzduchu najskôr

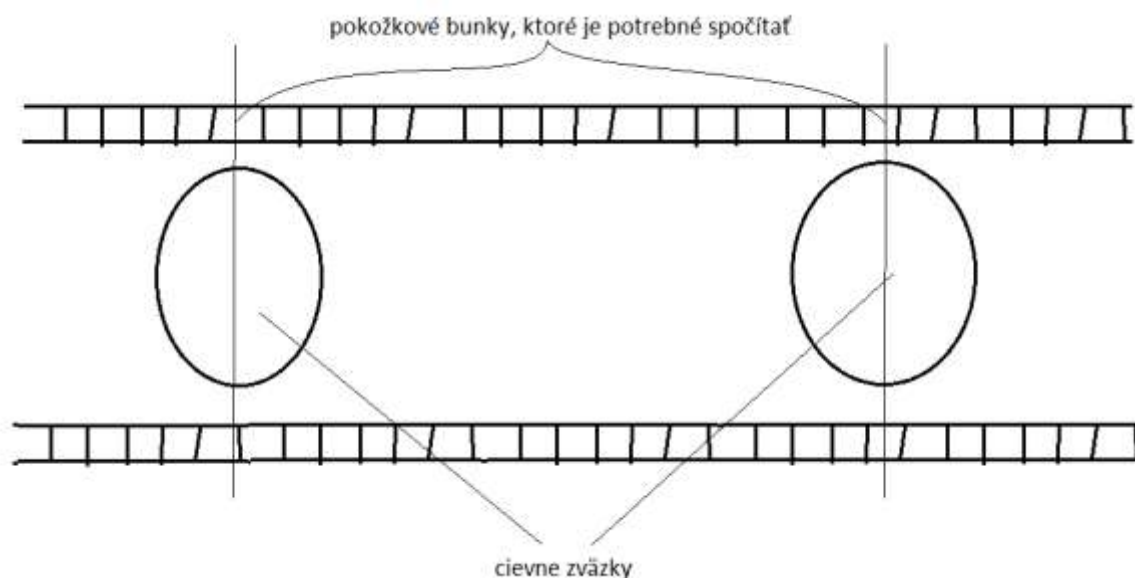
fixujú odlišným, pre CO₂ špecifickejšim enzýmom – PEP-karboxylázou, pričom vzniká 4-uhlíkatý oxalacetát, ktorý sa mení na malát transportovaný do špecializovaných buniek pošvy cievneho zväzku. V nich sa z malátu uvoľní CO₂, ktorý je podobne ako u C₃ rastlín naviazaný rubiscom na ribulózu-1,6-bisfosfát (RuBP). Na rozdiel od C₃ rastlín sú však bunky, v ktorých táto reakcia prebieha, už izolované od kyslíka z vonkajšieho prostredia a ani pri fotosyntéze sa v nich kyslík neuvolňuje. U C₄ rastlín tak vďaka tomuto priestorovému oddeleniu fixácie CO₂ zo vzduchu a zabudovávania CO₂ do ribulózu-1,6-bisfosfátu takmer vôbec nedochádza k fotorespirácii a následným energetickým stratám.

Spôsob fixácie uhlíka u C₄ rastlín je spojený aj s viacerými zmenami v anatómii ich listov. U C₃ rastlín nachádzame iba jeden typ buniek s chloroplastami – bunky mezofylu. U C₄ rastlín však okrem buniek mezofylu nachádzame na obvode cievnych zväzkov veľké bunky – bunky pošvy cievneho zväzku, s chloroplastami usporiadanými na okraji bunky smerom od stredu cievneho zväzku (centrifugálne). Cievne zväzky sú navyše u C₄ rastlín usporiadané výrazne bližšie k sebe a žiadna z buniek mezofylu obvykle nie je od bunky pošvy cievneho zväzku vzdialená viac ako tri bunky. Zjednodušene máte porovnanie sekundárnych procesov fotosyntézy C₃ a C₄ rastlín znázornené aj v nasledujúcej schéme.



Pozorovanie anatómie C₃ a C₄ rastlín:

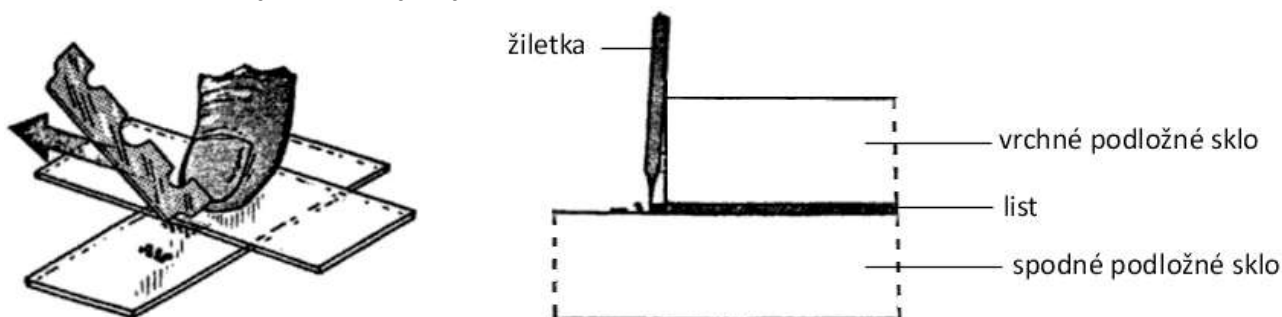
Vašou úlohou bude určiť, ktoré z troch rastlín, ktoré máte pred sebou patria medzi C₃, a ktoré medzi C₄ rastliny. Pripravíte si priečne rezy ich listov a budete pozorovať ich anatómickú stavbu a sledovať vzdialenosť cievnych zväzkov. Vzdialenosť cievnych zväzkov je možné určiť s pomocou mikrometra, nepriamo sa však dá u príbuzných druhov porovnať aj na základe počtu buniek medzi nimi. Bunky mezofylu však nemusia byť usporiadané veľmi pravidelne a pri hrubšom reze by nemuselo byť možné presne odlíšiť jednotlivé bunky. V tejto úlohe preto budete počítat bunky vrchnej pokožky nachádzajúce sa medzi dvoma cievnymi zväzkami.



Pomôcky: mikroskop, žiletka, podložné sklá, krycie sklíčka, kvapkadlo, voda, pinzeta, preparačná ihla, rastlina č.1, č.2 a č.3

Postup:

1. Odtrhnite jeden list rastliny č.1 a položte ho na podložné sklo.
2. Položte na spodnú časť listu druhé podložné sklo tak, aby spod neho ešte kúsok spodnej časti listu prečnieval.
3. Stabilizujte si list miernym pritlačením prstom na vrchné podložné sklo, opatrne si oň opríte žiletku a odrežte prečnievajúcu časť listu.
4. Veľmi jemne rovnomerne vysuňte list tak, aby s pod skla vyčnieval len asi o 0,2 - 0,5 mm.
5. Opäť si podložné sklo stabilizujte, opríte oň žiletku a spravte tenký priečny rez listom, tak ako to vidíte znázornené aj v nasledujúcej schéme.



6. Na iné podložné sklíčko si pripravte kvapku vody.
7. Preneste rez listom do kvapky vody na podložnom skle a správne ho naorientujte.
8. Opäť list mierne vysuňte a podobne si pripravte niekoľko, čo možno najtenších rezov.
9. Zakryte si preparát krycím sklíčkom a pozorujte ho pod mikroskopom pri 100 alebo 400 násobnom zväčšení. Dávajte pozor aby vám počas pozorovania preparát nevysychal (priečne rezy listov majú tendenciu sa pri vysychaní preparátu prevracať a deformovať).
11. Zakreslite a popíšte priečny rez listom, tak aby vždy boli na nákrese zachytené aspoň dva cievné zväzky.
12. Spočítajte pokožkové bunky na vrchnej strane listu na troch rôznych úsekoch rezu (prípadne viacerých rezov) a hodnoty zapíšte do tabuľky. Pokožkové bunky nachádzajúce sa nad stredom cievného zväzku započítajte, pokiaľ sú aspoň z polovice v meranom úseku. Prieduchy vzhľadom na ich veľkosť a pre zjednodušenie počítajte ako jednu bunku.
13. Postup opakujte u rastliny č.2 a č.3.

Vyhodnotenie:

1) Nákresy

Rastlina č.1:

Rastlina č.2:

Rastlina č.3:

2) Do tejto tabuľky zapíšte počty pokožkových buniek medzi cievnymi zväzkami u jednotlivých rastlín. Zo zistených hodnôt vypočítajte aritmetický priemer.

Úsek	Rastlina č.1	Rastlina č.2	Rastlina č.3
1			
2			
3			
Aritmetický priemer			

3) Na základe stavby listu a vzdialenosti cievnych zväzkov rozhodnite a zdôvodnite, ktoré z rastlín patria medzi C3 a ktoré medzi C4 rastliny.

4) V tejto úlohe ste porovnávali vzdialenosť cievnych zväzkov na základe počtu pokožkových buniek medzi nimi. Tieto údaje však nemusia byť priamo úmerné skutočnej vzdialenosti cievnych zväzkov. Napíšte, aspoň dve veci, ktoré by mohli skresľovať informatívnosť vami získanej hodnoty.

Doplňujúce otázky:

1) Do akej čeľade patria rastliny, ktoré ste sledovali?

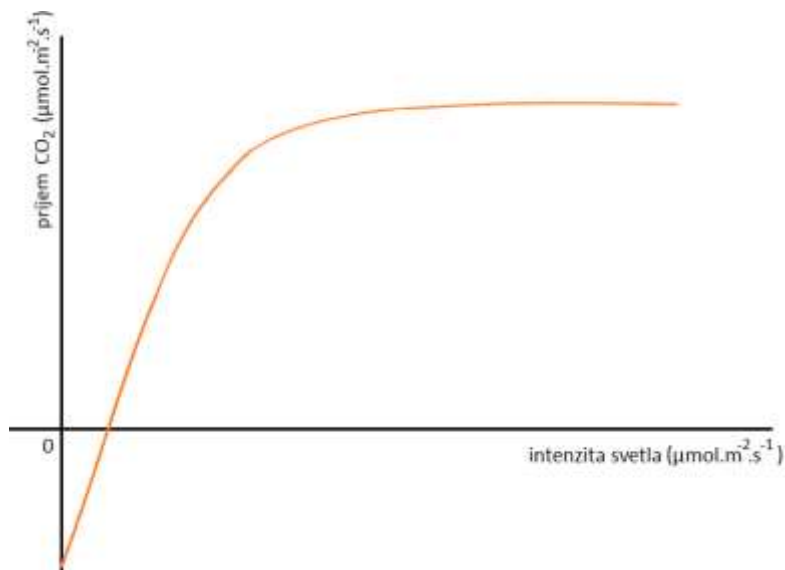
2) Napíšte a vyčíslite základnú rovnicu fotosyntézy.

3) Pokúste sa zdôvodniť, prečo je pre C4 rastliny výhodné mať cievne zväzky usporiadané v listoch tak nahusto.

4) Na tylakoidoch chloroplastov sa okrem iného nachádzajú aj dva veľké proteínové komplexy – fotosystém I a II. V bunkách pošvy cievného zväzku, kde dochádza k fixácii CO_2 , je však z určitého dôvodu jeden z nich inaktivovaný vysvetlite ktorý a prečo (procesy prebiehajúce na jednotlivých fotosystémoch si môžete všimnúť v schéme v úvode tejto úlohy).

5) Transport plynov (ako napr. CO_2 a O_2) medzi vonkajším prostredím a listom zabezpečujú prieduchy. Rastlina ich však často nemôže mať otvorené po celý deň, pretože prostredníctvom nich môže prichádzať o množstvo cennej vody. V akom prostredí a prečo by sme mohli očakávať výrazne častejší výskyt C_4 rastlín v porovnaní s C_3 rastlinami.

6) Nasledujúci graf predstavuje svetelnú krivku fotosyntézy C_3 rastliny. Meria sa na živom liste a zobrazuje závislosť príjmu CO_2 na intenzite svetla. Je zrejme že s rastúcou intenzitou svetla rastie rýchlosť fotosyntézy a fixácie CO_2 zo vzduchu. Kvôli čomu však príjem oxidu uhličitého nadobúda pri nízkej intenzite svetla záporné hodnoty a dochádza vlastne k jeho uvoľňovaniu z listu do prostredia?



7) Vysoká koncentrácia kyslíka v bunkách kvôli fotosyntéze nepredstavuje problém len pri fixácii oxidu uhličitého. Ďalším procesom ktorý nemôže za prítomnosti väčšieho množstva kyslíka správne fungovať je aj fixácia vzdušného dusíka. Napriek tomu však veľké množstvo rôznych druhov siníc (Cyanobacteria) vzdušný N_2 viazať dokáže. Pokúste sa vysvetliť, ako by sinice mohli tento problém s O_2 riešiť.

Autor: Lukáš Janošík
Recenzia: Bc. Jaroslav Ferenc
Redakčná úprava: doc. Mgr. Miroslava Slaninová, PhD.
Slovenská komisia Biologickej olympiády
Vydal: IUVENTA Slovenský inštitút mládeže, Bratislava 2016