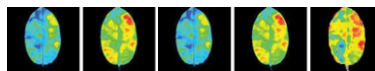


## Determinação da taxa fotossintética

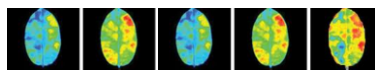
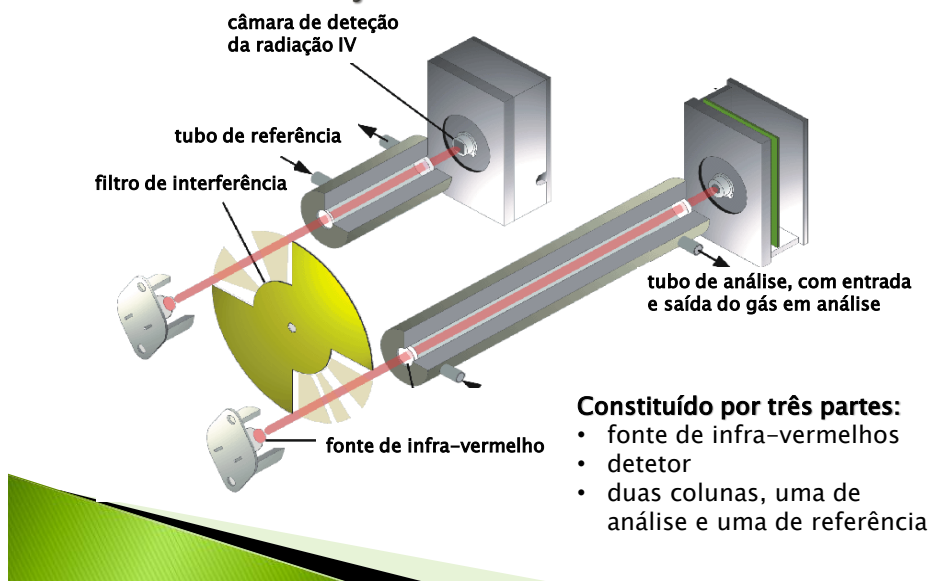
- Analisador de gás-por Infra vermelho (**infra-red gas analyzer, IRGA**)

Os IRGAs medem concentrações de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ). A taxa de absorção de  $\text{CO}_2$  por uma folha pode ser medida colocando a folha numa câmara transparente, fazendo passar ar sobre a folha e medindo com o IRGA a variação da concentração de  $\text{CO}_2$  após a passagem pela câmara.



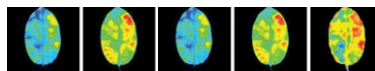


## Determinação da taxa fotossintética



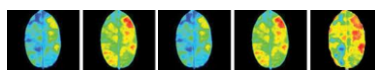
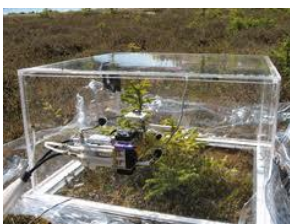
## Determinação da taxa fotossintética

- ▶ Quando a radiação atravessa qualquer dos tubos é absorvida proporcionalmente à concentração de  $\text{CO}_2$  que estiver presente.
- ▶ A medida da radiação transmitida é feita por um detetor colocado na extremidade inferior das colunas.
- ▶ O sinal eléctrico obtido permite-nos saber a diferença de concentração de  $\text{CO}_2$  entre os dois tubos, desde que se tenha realizado previamente a calibração do aparelho com gases de concentrações conhecidas de  $\text{CO}_2$ .
- ▶ Como o vapor de água também absorve radiação IV pode interferir nas medidas das trocas de  $\text{CO}_2$ , os aparelhos estão equipados com filtros especiais que apenas deixam passar os comprimentos de onda do IV que o  $\text{CO}_2$  absorve.



## Determinação da taxa fotossintética

- ▶ Atualmente a maioria dos sistemas de medida do CO<sub>2</sub> utilizam o IRGA num modo diferencial, o que permite detetar variações muito pequenas na concentração de CO<sub>2</sub>.
- ▶ O ar passa pela coluna de referência antes de entrar na câmara que contém a folha, seguindo depois para a coluna de análise. A diferença entre os valores das duas colunas dá-nos o CO<sub>2</sub> consumido em cada momento pelo tecido foliar.

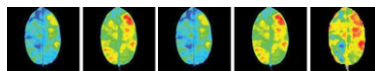


## Determinação da taxa fotossintética

- ▶ As taxas de fotossíntese são calculadas pela expressão:

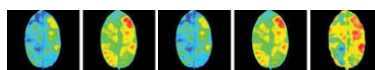
$$PN = \frac{f \Delta C}{A}$$

- ▶ Em que:
- ▶  $P_N$  a taxa de fotossíntese líquida
- ▶  $\Delta C$  a variação na concentração de CO<sub>2</sub> antes e depois de passar através da câmara
- ▶  $f$  a velocidade do ar no circuito
- ▶  $A$  a área do tecido foliar colocado na câmara.



## Outras determinações com o IRGA

- ▶ Os estomas são a principal resistência ao fluxo difusivo do vapor de água através das folhas.
- ▶ Medições da resistência estomática ( $r_s$ ) ou do seu inverso, a **condutância estomática** ( $g_s$ ), são assim importantes para estabelecer a influência dos estomas na transpiração e/ou na troca de outros gases entre os tecidos foliares e a atmosfera envolvente.



## Fotossíntese e transpiração a $\text{CO}_2$ ambiente com o sistema de medição do $\text{CO}_2/\text{H}_2\text{O}$ por infra/vermelho (Walz) em circuito aberto

Este sistema de medida é constituído essencialmente por três partes:

- ▶ – câmara de medida
- ▶ – analisador de gás em modo diferencial para o  $\text{CO}_2$  e para o vapor de água
- ▶ – unidade munida de um visor digital, que centraliza as informações recebidas do IRGA e dos sensores instalados na câmara e que contém ainda as bombas para a circulação de ar e os controladores de fluxo.





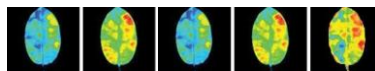
## Eléctrodo de oxigénio



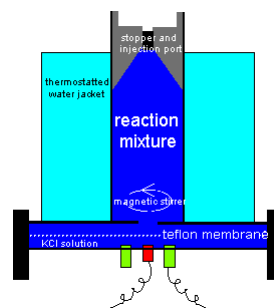
► O eléctrodo de oxigénio ou eléctrodo de Clark é um instrumento **polarográfico** que mede a libertação fotossintética de oxigénio em cloroplastos e mitocôndrias isolados e em discos foliares, medindo a percentagem de saturação de oxigénio numa mistura.

- O instrumento é calibrado com um tampão saturado de oxigénio (100%), e um tampão totalmente desprovido de oxigénio (0%) através de uma reacção com um agente redutor como o ditionito de sódio (hidrosulfito de sódio).
- A câmara de reacção é separada dos eléctrodos por uma membrana de teflon, que permite que o oxigénio se difunda do meio onde se encontra a amostra para a solução de cloreto de potássio onde se encontram os eléctrodos: um cátodo de platina e um ânodo de prata. É aplicada uma voltagem entre os 2 eléctrodos e a corrente daí resultante (cerca de 1  $\mu\text{A}$ ) é proporcional à concentração de oxigénio.

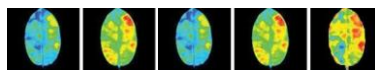
## Eléctrodo de oxigénio



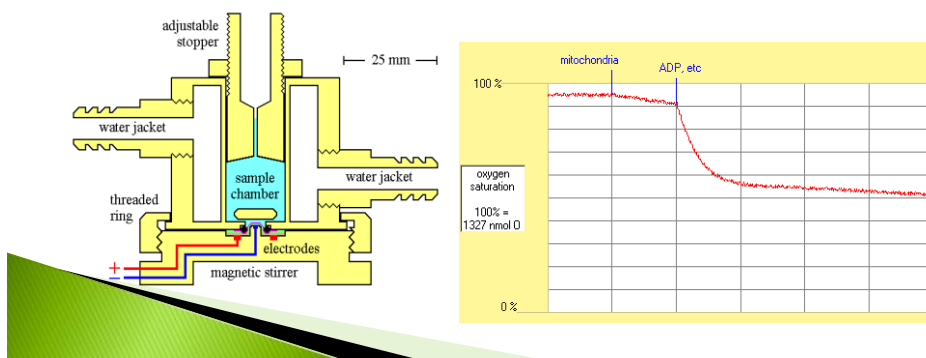
- ▶ A concentração de oxigénio é medida através da sua taxa de redução, proporcional ao patamar da corrente produzida.
- ▶ No cátodo o oxigénio é reduzido a água:
 
$$\text{O}_2 + 4\text{e}^- \longrightarrow 2\text{H}_2\text{O}$$
- ▶ No ânodo a prata é oxidada a cloreto de prata:
 
$$4\text{Ag}^0 + 4\text{Cl}^- \longrightarrow 4\text{AgCl} + 4\text{e}^-$$
- ▶ É, portanto, a taxa da difusão do oxigénio para o cátodo que vai controlar a intensidade de corrente.

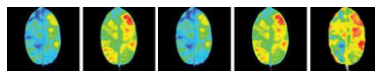


## Eléctrodo de oxigénio



- ▶ Após deixar o tampão e o substrato equilibrarem, adiciona-se a amostra (ex: preparação de mitocôndrias) e o consumo de oxigénio é medido por um curto período de tempo.
- ▶ Depois, é adicionado ADP e o consumo de oxigénio é medido até que a reação acabe.
- ▶ Um exemplo típico deste tipo de experiência é este:

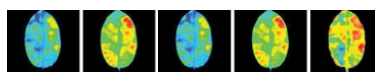




## Fatores que afetam a taxa de fotossíntese

Uma maneira simples de estimar o nível de atividade fotossintética numa planta verde é colocar a planta num recipiente fechado e medir a taxa de produção de oxigénio. Neste tipo de experiência percebe-se que aumentando a intensidade da luz a taxa de fotossíntese aumenta, mas só até determinado ponto, a partir do qual um aumento da intensidade luminosa já tem pouco (ou nenhum) efeito sobre a taxa de fotossíntese.

Pelo contrário, quando se reduz a intensidade da luz há uma diminuição da taxa fotossintética.



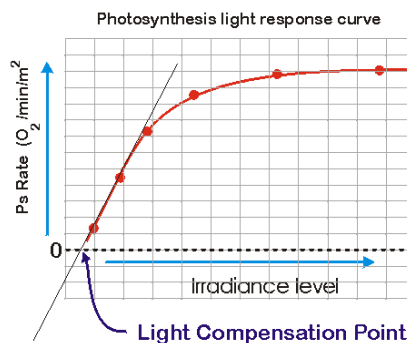
## Fatores que afetam a taxa de fotossíntese

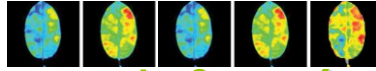
A intensidade luminosa na qual a quantidade de oxigénio produzido é igual a zero é o **ponto de compensação para a luz**.

Neste ponto o consumo de oxigénio pela planta devido à respiração celular é igual à taxa de produção de oxigénio pela fotossíntese.

O ponto de compensação para a luz varia com o tipo de planta mas é normalmente 40 a 60 W/m<sup>2</sup> de luz solar.

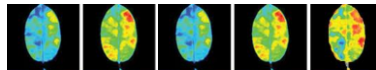
O ponto de compensação para a luz diminui quando a concentração de CO<sub>2</sub> disponível para a planta aumenta, o que lhe permite crescer em condições de intensidade luminosa mais baixa.





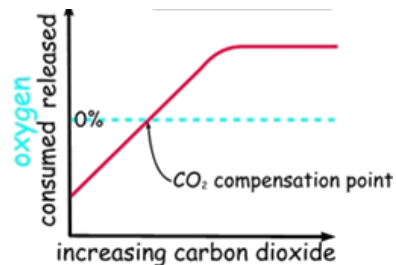
## Fatores que afetam a taxa de fotossíntese

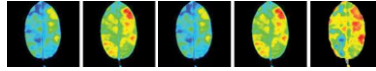
- Em condições de intensidade luminosa constante e uniforme a taxa de fotossíntese pode aumentar se aumentarmos a concentração de  $\text{CO}_2$  disponível para as plantas (a pressão atmosférica parcial).
- Tal como no exemplo anterior, pode-se medir a taxa de fotossíntese em função da pressão de  $\text{CO}_2$  ao colocar uma planta numa atmosfera selada e medindo a taxa a que o oxigénio é produzido.



## Fatores que afetam a taxa de fotossíntese

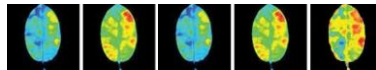
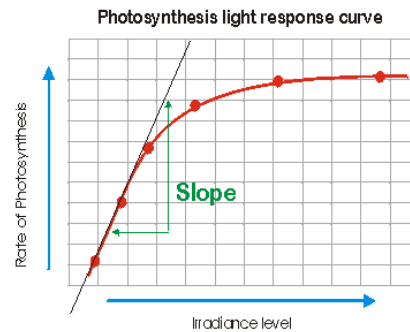
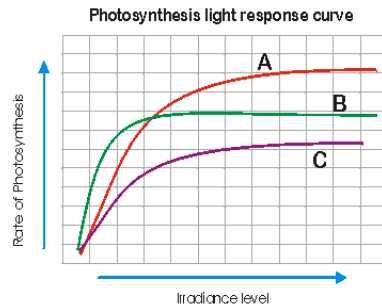
- À medida que a pressão parcial de  $\text{CO}_2$  aumenta, há um aumento quase linear da taxa de oxigénio produzido, o que leva a uma aumento igual na taxa de fotossíntese.
- Este aumento acaba por estabilizar, e aumentos subsequentes da concentração de  $\text{CO}_2$  já não têm efeito.
- Por outro lado, a diminuição da taxa de concentração de  $\text{CO}_2$  diminui a taxa de fotossíntese. O nível no qual a produção de oxigénio atinge zero é chamado o ponto de compensação para o  $\text{CO}_2$ .





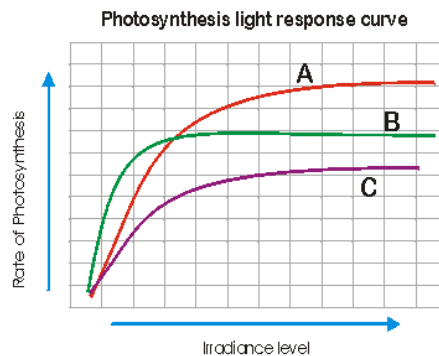
## Fatores que afetam a taxa de fotossíntese

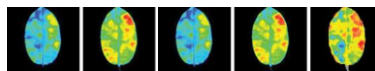
- ▶ O declive da fase linear da curva de resposta à luz é uma medida da eficiência fotossintética, ou seja, da eficiência com que a luz solar é convertida em energia química.



## Fatores que afetam a taxa de fotossíntese

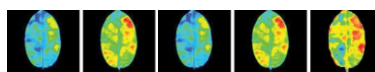
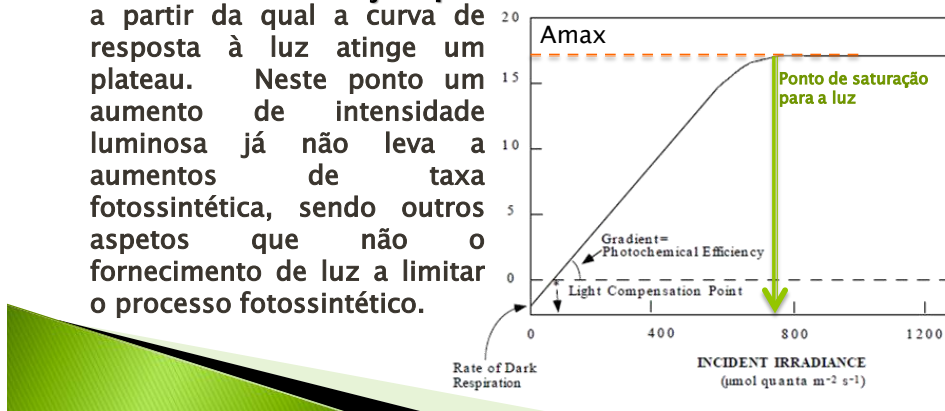
- ▶ A folha B tem a eficiência fotossintética mais alta porque o declive da curva de resposta à luz é maior que o das outras duas folhas, a intensidades luminosas baixas.
- ▶ A folha A tem uma eficiência baixa mas consegue atingir taxas de fotossíntese mais elevadas que a folha B, ou seja, tem uma taxa fotossintética máxima ( $A_{max}$ ) mais elevada.





## Fatores que afetam a taxa de fotossíntese

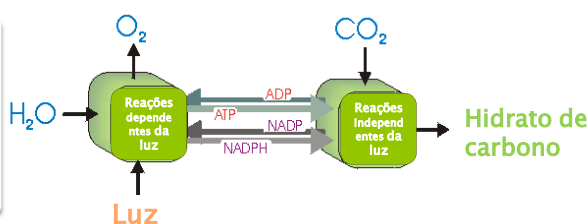
- ▶ **Taxa de respiração às escuras:** Se a parte linear da curva de resposta à luz for extrapolada para interceptar o eixo dos YY na intensidade luminosa zero, esse ponto dá-nos uma estimativa da taxa de respiração às escuras.
- ▶ **Ponto de saturação para a luz:** a intensidade luminosa a partir da qual a curva de resposta à luz atinge um plateau. Neste ponto um aumento de intensidade luminosa já não leva a aumentos de taxa fotossintética, sendo outros aspetos que não o fornecimento de luz a limitar o processo fotossintético.



## Fatores que afetam a taxa de fotossíntese

Tanto em plantas C3 como em plantas C4 as reações dependentes da luz e as independentes da luz ocorrem ao mesmo tempo.

Então, é a taxa da reação mais "lenta" que vai determinar a taxa de fotossíntese.



### Quais são os fatores determinantes?

Os processos físicos (atividade enzimática e taxa de transporte de eletrões)  
Concentrações dos reagentes (água, luz, O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, ATP, ADP, NADP, NADPH, ...)

## Fatores que afetam a taxa de fotossíntese

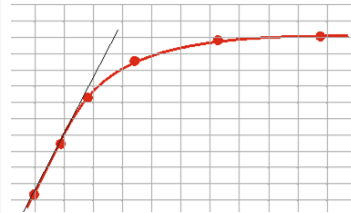
### Luz:

A baixas intensidades luminosas a luz disponível não é suficiente para manter a taxa máxima das reações luminosas, sendo ela a determinar a taxa de fotossíntese.

À medida que aumenta a luz disponível, aumenta a quantidade de ATP e NADPH disponíveis e a taxa de fotossíntese vai aumentando até que outro fator se torne limitante.

Isto é o que ocorre no ponto de saturação para a luz.

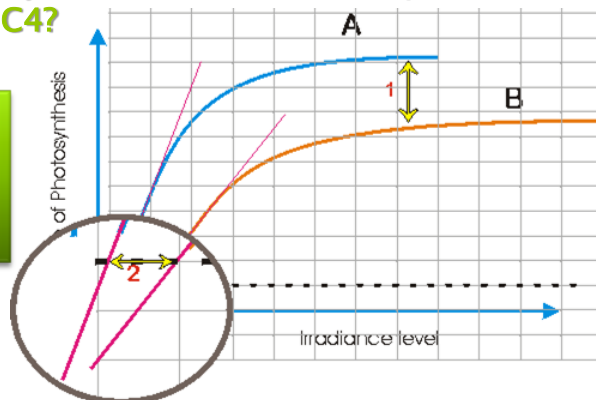
Photosynthesis light response curve



### Qual a diferença entre as curvas de resposta à luz de plantas C3 e C4?

Curva A:  
planta C4

Curva B:  
planta C3

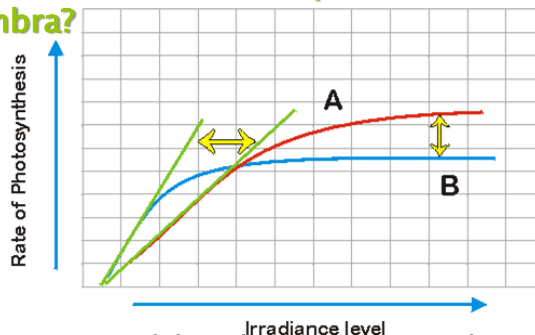


- As plantas que fazem fotossíntese C4 têm uma forma mais eficiente de fazer fotossíntese.
- As principais diferenças são que em plantas C4 o ponto de saturação para a luz é mais alto e o ponto de compensação para a luz é mais baixo. Estas características têm a ver com o modo como as plantas C4 fixam o  $\text{CO}_2$  para o ciclo de Calvin-Benson.

## Qual a diferença entre as curvas de resposta à luz de folhas de sol e sombra?

Curva A:  
folha de sol

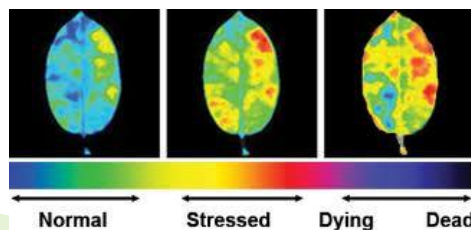
Curva B:  
folha de sombra

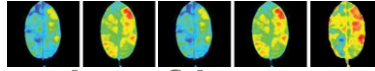


- As plantas adaptam-se ao crescimento sob luz solar direta ou em condições de sombra. Numa mesma planta, as folhas que se desenvolvem à sombra de outras são anatomicamente e metabolicamente diferentes das que crescem expostas à luz.
- Folhas de sombra normalmente são mais finas, têm maior área e contêm mais clorofila que as folhas de sol. Como resultado, as folhas de sombra são normalmente mais eficientes a captar a luz a intensidades mais baixas (maior eficiência fotossintética), mas as folhas de sol apresentam pontos de saturação para a luz mais altos e taxa máxima de fotossíntese mais alta.

## Fluorescência da clorofila

- As moléculas de clorofila têm capacidade de reemitir, na forma de **fluorescência**, uma parte da luz absorvida que não é convertida em energia química.
- Assim, a intensidade da fluorescência pode ser correlacionada com a actividade do transporte fotossintético de eletrões.
- Uma modificação no estado funcional das membranas tilacoidais induzida por um stresse traduz-se em alterações na fluorescência da clorofila, sendo possível utilizá-la para medir precoce e rapidamente as respostas das plantas ao stresse.

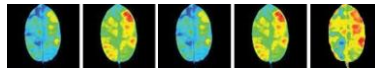
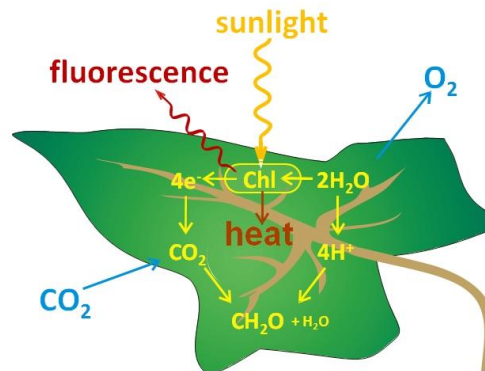




## Fluorescência da clorofila

- ▶ A energia luminosa absorvida pelos pigmentos antena do complexo LHC é transferida para o fotossistema II (PSII), responsável pela oxidação da água na fotossíntese.

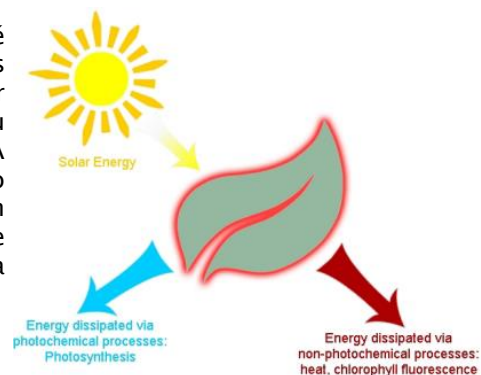
Quando as plantas são submetidas a stresse ambiental há um excesso de energia de excitação ao nível dos pigmentos antena dos fotossistemas.



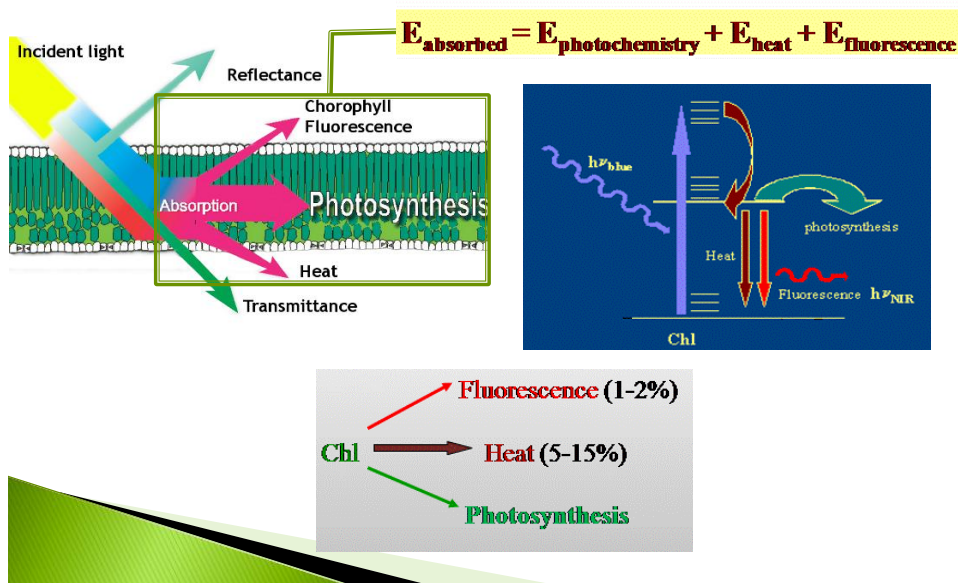
## Fluorescência da clorofila

- ▶ Uma das primeiras defesas das plantas nestas circunstâncias é a dissipação de parte dessa energia por processos não-radiativos, isto é, libertação de **calor**.
- ▶ Este mecanismo ocorre no PSII e é um ajustamento negativo (*down-regulation*) que tem como consequência um decréscimo na eficiência da utilização da luz.

Quando este mecanismo não é suficiente há danos nos fotossistemas que podem ser reversíveis (**fotoinibição**) ou irreversíveis (**fotooxidação**). A fotoinibição é a inibição do transporte de eletrões com efeitos sobre a separação de cargas associada à oxidação da água.

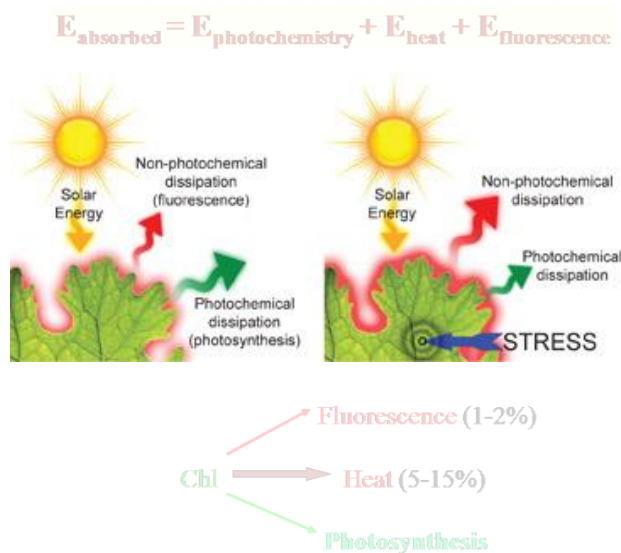


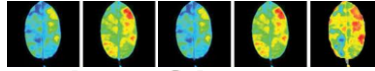
## Fluorescência da clorofila



## Fluorescência da clorofila

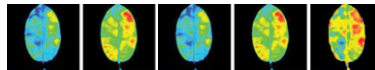
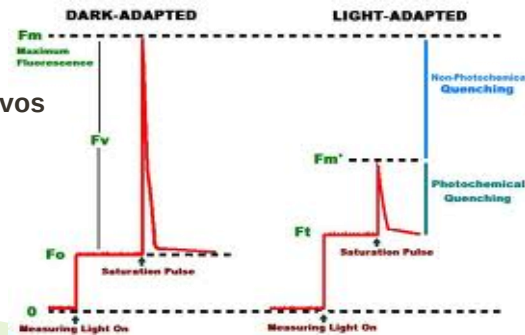
A medição da fluorescência da clorofila, emitida pelo PSII, permite estudar os destinos da energia de excitação no aparelho fotossintético porque a luz emitida através de fluorescência **compete com os processos fotoquímicos** (i.é. a fotossíntese) e com os processos de dissipação térmica, pela energia de excitação disponível.





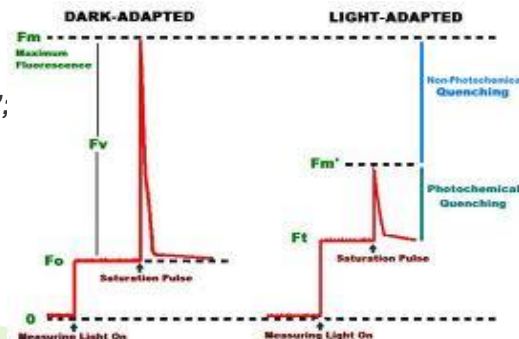
## Fluorescência da clorofila

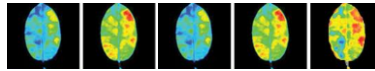
- ▶  $F_0$ , valor de fluorescência quando todos os centros ativos do PSII estão abertos em folhas adaptadas ao escuro;
- ▶  $F_m$ , valor de fluorescência quando todos os centros ativos do PSII estão fechados em folhas adaptadas ao escuro;
- ▶  $F_v/F_m$ , eficiência máxima da fotoquímica do PSII quando todos os centros ativos do PSII estão fechados;
- ▶  $F_0'$ , valor de fluorescência quando todos os centros ativos do PSII estão abertos em folhas adaptadas à luz;
- ▶  $F_m'$ , valor de fluorescência quando todos os centros ativos do PSII estão fechados em folhas adaptadas à luz;



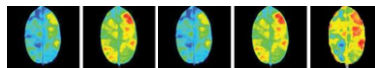
## Fluorescência da clorofila

- ▶  $F_q'$ , a diferença entre  $F_m'$  e  $F'$  medida imediatamente antes da aplicação de um pulso de luz para medir  $F_m'$ ;
- ▶  $F_v'/F_m'$ , eficiência máxima da fotoquímica do PSII quando todos os centros ativos do PSII estão abertos;
- ▶ NPQ, energia luminosa não usada na fotossíntese;
- ▶  $F_q'/F_v'$  (qp), fator que relaciona as eficiências operacional e máxima da fotoquímica do PSII (energia luminosa usada na fotossíntese);
- ▶  $F'$ , valor de fluorescência em folhas adaptadas à luz, em qualquer ponto entre  $F_0'$  e  $F_m'$ ;
- ▶  $F_q'/F_m'$  ( $\Phi_e$ ), eficiência operacional da fotoquímica do PSII (corresponde ao rendimento quântico da fotossíntese).

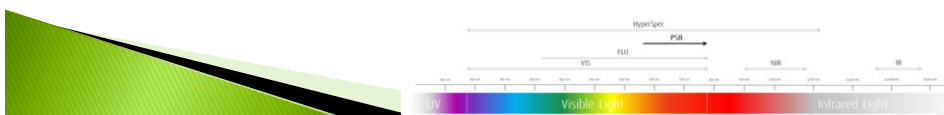
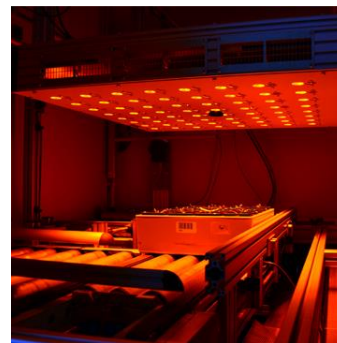
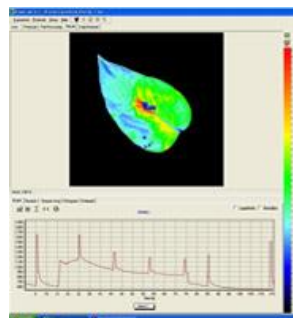
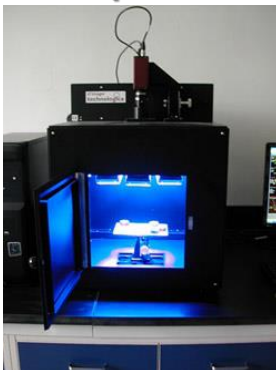


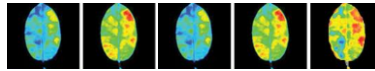


## Fluorescência da clorofila: aparelhos de medição:

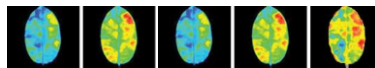
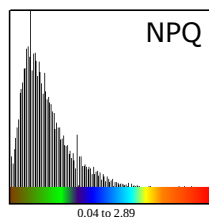
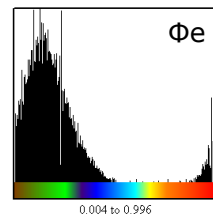
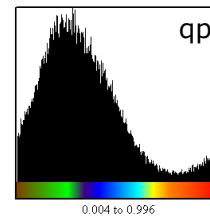
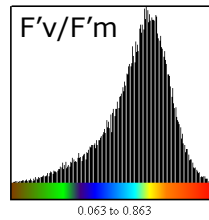
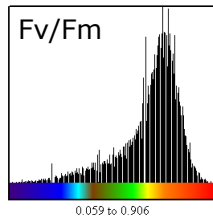


## Fluorescência da clorofila: aparelhos de medição:





## Fluorescência da clorofila

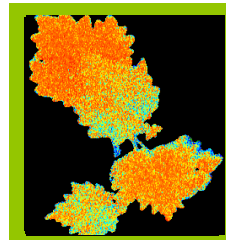


## Fluorescência da clorofila

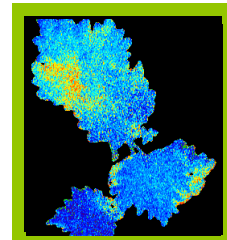
$F_v/F_m$



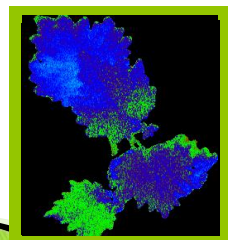
$F'_v/F'_m$



$q_p$



$\Phi_e$



NPQ

