

PROCEDURE DI RILIEVO PER LA DETERMINAZIONE DEL CONTENUTO E LA FLUORESCENZA DELLA CLOROFILLA

MANUALE DI CAMPAGNA

FAQ

D1: Quali informazioni possiamo ottenere dall'analisi della fluorescenza della clorofilla?

R1: La fluorescenza della clorofilla fornisce informazioni sullo stato dei fotosistemi e sull'efficienza fotosintetica delle foglie. Si tratta di un'efficienza potenziale, che non si traduce direttamente in fotosintesi netta (P_N). La fluorescenza viene usata per misurare le risposte delle piante a condizioni di stress o, più in generale, a fattori ambientali.

D2: Quali strumenti sono adatti per lavorare in condizioni di campo?

R2: Esistono strumenti portatili e poco ingombranti, che possono essere utilizzati in bosco. Questi strumenti lavorano in genere sui principi della fluorescenza diretta (Prompt Fluorescence) con campioni adattati al buio per mezzo di clip fogliari, e forniscono il valore della efficienza massima quantica (F_v/F_M). Sono dei fluorimetri; molto comuni sono quelli prodotti dalla ditta Hansatech Instruments, con vari modelli tra cui HandyPea, PocketPea.

D3: Quali parametri sono i parametri più adatti per stimare la vitalità della pianta?

R3: Il parametro universalmente accettato, comparabile attraverso differenti strumenti e applicazioni, è F_v/F_M . Esso indica l'efficienza massima del fotosistema 2 (PSII) in campioni adattati al buio. F_v/F_M è sensibile ad alte radiazioni luminose e allo stato nutrizionale della pianta, ed è piuttosto stabile nei confronti di vari fattori di stress, come per esempio la carenza idrica. Gli strumenti basati sulla fluorescenza diretta consentono la misura di parametri connessi all'attività del fotosistema 1 (PSI). Questa può essere stimata con il parametro ΔV_{IP} , che è un indice indicativo di condizioni precoci di stress.

D4: Ci può essere un bias strumentale?

R4: La comparazione fra diversi strumenti e condizioni di misura ha consentito di individuare F_v/F_M come parametro stabile e confrontabile. I valori di altri parametri possono mostrare differenze strumentali che dipendono da vari fattori, come l'intensità di illuminazione della lampada e i settaggi strumentali. Le comparazioni sono più robuste se vengono comparati i valori normalizzati.

D5: Sono necessarie sessioni di intercalibrazione strumentale?

R5: I valori originali possono essere variabili fra gli strumenti, per cui è sempre consigliata una calibrazione se si vuole lavorare su questi. I rapporti (come F_v/F_M) e i parametri calcolati attraverso normalizzazione sono invece più robusti e confrontabili.

D6: Che tipo di foglie sono più adatte per essere analizzate?

R6: Ci sono differenze fra foglie campionate nelle varie parti della chioma. Queste differenze dipendono dal grado di sviluppo e di illuminazione, dalla concorrenza laterale e da eventuali fattori direzionali di stress. Nell'ambito di un'indagine è bene pertanto comparare sempre foglie dello stesso tipo. Normalmente si usano foglie di luce (prelevate nelle parti alte della chioma) esposte a Sud.

D7: Come possiamo adattare le foglie al buio, e per quanto tempo?

R7: La luce solare diurna induce una fotoinibizione cronica (dovuta alla prolungata esposizione alla luce) e una fotoinibizione dinamica (dovuta ai cambiamenti di breve periodo dell'intensità luminosa). La fotoinibizione provoca una riduzione del valore di F_V/F_M . Il valore di tale parametro pertanto cambia durante il giorno, essendo massimo al termine della notte e minimo a mezzogiorno. L'adattamento al buio di 20-30 minuti per mezzo di clip fogliare toglie la fotoinibizione dinamica ma non quella cronica. In tal modo possiamo seguire l'andamento dei valori di fluorescenza durante il giorno. Se invece vogliamo rendere paragonabili i valori di foglie campionate a differenti ore del giorno è necessario eliminare la fotoinibizione cronica imponendo un lungo periodo di adattamento al buio (almeno 4-5 ore) in modo da simulare l'effetto della notte. Ciò è fattibile su foglie staccate e conservate in contenitori, protette dalla luce diretta.

D8: Quanto tempo dopo la raccolta le foglie possono essere analizzate?

R8: Dopo la raccolta i rametti con le foglie attaccate devono essere conservati in borse o sacchi di plastica contenenti della carta bagnata in modo da tenere i campioni umidi. Le misure dovranno essere effettuate alla sera stessa della raccolta o alla mattina del giorno dopo. In ogni caso, si raccomanda di non ritardare la misura oltre i due giorni dalla raccolta (in ogni caso, dipende dallo stato di conservazione delle foglie).

D9: Quante foglie per pianta devono essere misurate?

R9: Si raccomanda di misura almeno 15-30 foglie per pianta.

D10: Le misure del contenuto di clorofilla devono essere fatte sulle stesse foglie usate per le misure di fluorescenza? Quante foglie si misurano?

R10: Sarebbe ottimale misurare le stesse foglie. Se non possibile, si misurano almeno 15 foglie scelte casualmente tra quelle presenti nel campione (rametto con foglie attaccate) usato per le misure di fluorescenza.

D11: Occorre fare qualche preparazione al campione (rametto con foglie attaccate) prima dell'esecuzione delle misure?

R11: No, non occorre nessuna preparazione. Le misure, inoltre, possono essere svolte con foglie esposte alla luce ambientale.

D12: Come si registrano le misure di contenuto di clorofilla? Lo strumento memorizza i dati?

R12: Lo strumento registra le misure, fino a 30 valori, a seconda del modello dello strumento (es. SPAD-502 Plus prodotto da KONICA MINOLTA). E' consigliato scrivere ogni misura effettuata in una scheda cartacea o in file precedentemente preparato con le informazioni per identificare a posteriori l'albero campionato (numero o sigla univoca di identificazione), il campione, se dallo stesso albero sono raccolti più campioni (rametti con foglie) e ogni foglia misurata per campione e albero.