

УДК 581.12:621.039.8

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВРЕМЕНИ ПЕРЕНОСА МЕЧЕНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ЧЕРЕЗ КОРНЕВУЮ СИСТЕМУ РАСТЕНИЙ

ПРОКОФЬЕВА М. С., РАЧИНСКИЙ В. В.

(Кафедра прикладной атомной физики и радиохимии)

Метод радиоактивных индикаторов в последние годы широко используется в физиологии растений [2, 6, 7]. Он применялся, в частности, при анализе пасоки в целях изучения физиологических ритмов в поступлении минеральных веществ [1]. Пользуясь методом радиоактивных индикаторов, можно проследить за переносом элемента минерального питания из питательного раствора в надземную часть растений путем измерения времени от момента контакта питательного раствора, содержащего меченый элемент, с корневой системой до момента появления последнего в пасоке.

Рассматриваемый метод в принципе должен был бы быть наиболее чувствительным, поскольку радиоактивный индикатор регистрируется фактически непосредственно в выносимой из корня жидкой фазе. Однако с физиологической точки зрения он имеет существенный недостаток — использование для опыта растений без надземной части. Поступление меченого элемента в пасоку в этом случае определяется только корневым давлением, работой только корневой системы; нарушаются естественные физиологические регуляторные механизмы взаимодействия корневой системы с надземными органами. В интактных растениях скорость выноса веществ из корневой системы в надземную часть зависит не только от корневого давления, но и от скорости транспирации. Поэтому в засушливых условиях, когда транспирационная деятельность растений очень интенсивна, скорость переноса жидкой фазы из корневой системы в надземную часть будет больше, чем в условиях пониженной скорости транспирации. На скорость выноса питательных элементов из корневой системы в надземную часть оказывают влияние концентрационные градиенты в системе питательный раствор — корни — надземные органы, физиологическое состояние, возраст и фазы развития растения.

Вместе с тем можно предполагать, что корневое давление играет доминирующую роль в подаче жидкой фазы и с ней питательных веществ и метаболитов в надземную часть растений. По-видимому, на основании данных о времени переноса питательных элементов, полученных в результате регистрации момента появления меченых элементов в пасоке, можно выявить верхний предел искомого времени, при котором растения будут нормально расти и развиваться. В данной работе метод радиоактивных индикаторов применен для определения времени переноса меченых элементов через корневую систему растений.

Методика

Для опыта использовали подсолнечник сортов Саратовский 10 и Волгарь и фасоли сорта Сакса.

В качестве исследуемых минеральных элементов были взяты фосфор, сера, калий, и кальций. Соответственно использовали радиоактивные изотопы. ^{32}P , ^{35}S , ^{42}K и ^{45}Ca .

Методика выращивания растений в водной культуре — общепринятая. В назначенный день (в зависимости от фазы онтогенеза) растения переводили со среды, содержащей контролируемый немеченый элемент, на среду с тем же, но меченым элементом. Индикаторные дозы составляли 1—2 мКи на литр питательного раствора. Пасоку собирали путем накладывания кружков фильтровальной бумаги на срез стебля на уровне 4—4,5 см от корневой шейки. Бумагу снимали через заданные интервалы времени. После высушивания кружков фильтровальной бумаги на воздухе измеряли их активность радиометром

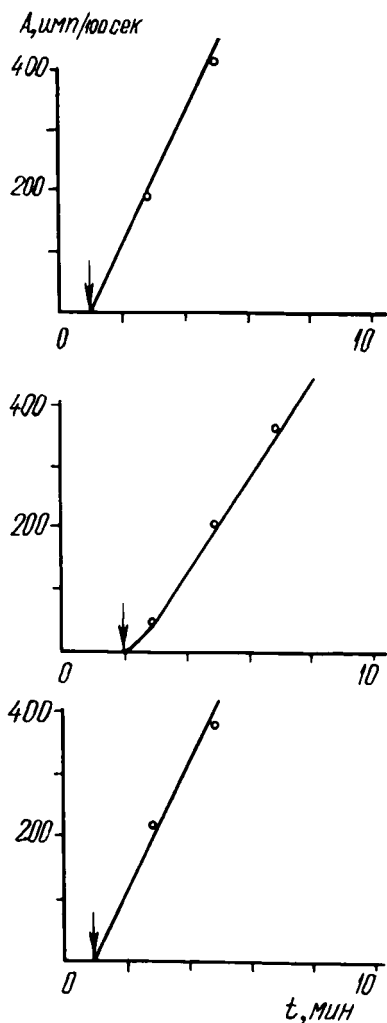


Рис. 1. Кинетические кривые (функции $A=f(t)$) появления и нарастания активности меченого фосфора (^{32}P) в пасоке подсолнечника в возрасте 12 дн. Индикаторная доза 1 мКи/л.

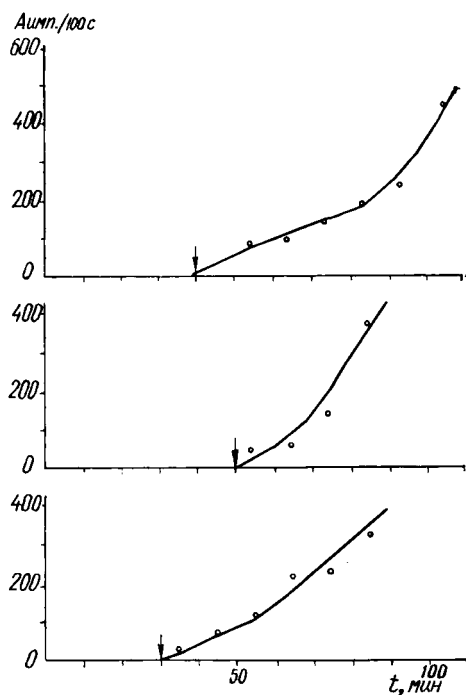


Рис. 2. Кинетические кривые (функции $A=f(t)$) выноса меченой серы (^{35}S) в пасоку фасоли в возрасте 25 дн. Индикаторная доза 0,6 мКи/л.

ПП-8 со счетчиком Т-25-БФЛ. Время измерения фона и активности кружков — 100 с.

По результатам радиометрических измерений составляли таблицы и графики кинетических кривых появления и нарастания активности меченого элемента в пасоке (рис. 1, 2, 3). Получали функции $A=f(t)$. Эти данные подвергались обработке для определения искомого времени появления меченого элемента в пасоке и анализа зависимости этого времени от варьруемых факторов.

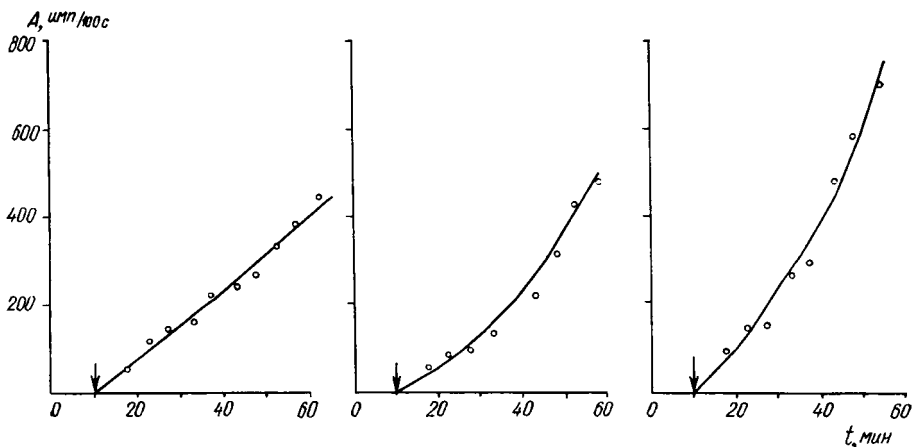


Рис. 3. Кинетические кривые (функции $A=f(t)$) выноса меченого кальция (^{45}Ca) в пасоку подсолнечника в возрасте 29 дн. Индикаторная доза 0,8 МКв/л.

Необходимо было определить достоверный момент появления активности радиоактивного индикатора в пасоке t_1 .

За критерий достоверности указанного момента времени целесообразно брать такую минимально регистрируемую активность пасоки, для которой стандартная относительная погрешность составляла 30%.

В радиометрии оценка стандартной относительной погрешности производится по следующей формуле:

$$\delta = \left(\sqrt{\frac{N}{t} + \frac{N_{\Phi}}{t_{\Phi}}} \right) / (N - N_{\Phi}), \quad (1)$$

где t — время измерения активности препарата; t_{Φ} — время измерения фона; N — скорость счета для радиоактивного препарата; N_{Φ} — скорость счета для фона.

Было выбрано время $t = t_{\Phi} = 100$ с.

Из формулы (1) получим:

$$\delta = [V(A + 2N_{\Phi})/t]/A, \quad (2)$$

где A — активность препарата в единицах скорости счета. Отсюда получаем формулу для расчета активности с заданной точностью:

$$A_{\min} = \frac{1 \pm \sqrt{1 + 8\delta^2 t N_{\Phi}}}{2\delta^2 t}. \quad (3)$$

Для расчета A_{\min} , соответствующей $\delta = 0,3$, имеем следующие исходные данные $t = t_{\Phi} = 100$ с., $N_{\Phi} = 0,45$ имп/с. Подставив их в формулу (3), получим:

$$A_{\min} = \frac{1 + \sqrt{1 + 8 \cdot 0,09 \cdot 10^2 \cdot 0,45}}{2 \cdot 0,09 \cdot 10^2} \approx 0,4 \text{ имп/с.} \quad (4)$$

При $A_{\min} = 40$ имп/100 с искомый момент времени определяли по таблицам или графику $A=f(t)$.

Сопоставляли три различных способа оценки искомого времени по кинетическим данным — $A=f(t)$. При использовании первого способа, табличного, по таблице $A=f(t)$ устанавливали начало интервала, в котором регистрируется достоверно появление радиоактивного индикатора в пасоке. При втором способе, графическом, по кривой $A=f(t)$, экстраполированной до пересечения с осью времени, определяли время, соответствующее экстраполяционной точке на графике $A=f(t)$. Обычно ход кривых позволял осуществить линейную экстраполяцию.

Результаты

В пределах индикаторных доз 10^2 — 10^3 мки/л зависимость оценки искомой величины от индикаторной дозы проявляется только для растений в раннем возрасте (12 дней). Для других возрастов в пределах погрешностей измерения такой зависимости не наблюдается. Это обусловлено тем, что фронт меченого фосфора при выходе в надземную часть имеет, как правило, линейную резкую форму.

Анализ зависимости времени выноса меченого фосфора в пасоку показал лишь слабо выраженную тенденцию к увеличению искомого времени от возраста. У подсолнечника в пределах 12—47 дней в среднем t_i увеличивается от 5 до 10 мин. Отмеченное постоянство времени выноса меченого фосфора в надземную часть — это интересный факт, характеризующий физиологические особенности процесса потребления фосфора в онтогенезе подсолнечника.

Установлено, что с увеличением возраста подсолнечника от 14 до 35 дней вынос меченой серы в надземную часть сокращается от 3—5 мин до 1 мин и менее. Продолжительность процесса может служить мерой его скорости. В целом определения показали, что меченая сера подается в надземную часть с большей скоростью, чем фосфор.

В опытах с фасолью установлено, что искомое время появления меченой серы в пасоке составляет примерно 5—10 мин, т. е. оно немного больше, чем для меченого фосфора.

В опытах с меченым калием у подсолнечника наблюдались линейные и импульсные формы кинетических кривых $A=f(t)$. Разные формы кинетики поступления меченого элемента в пасоку отмечались у одинаково подготовленных к опыту растений одного и того же возраста, т. е. в биологических повторностях. Это свидетельствовало о каких-то внутренних индивидуальных особенностях каждого растения. В начальные фазы онтогенеза подсолнечника время появления меченого калия в пасоке составляло 10—15 мин, а в более поздние фазы — 25—30 мин, т. е. как и в опытах с меченым фосфором была примерно вдвое больше. Время выноса меченого калия в надземную часть подсолнечника оказалось почти в 2 раза больше времени выноса меченой серы. Следовательно, калий медленнее переносится через корневую систему подсолнечника, чем фосфор и сера.

У фасоли поступление калия в надземную часть растений больше зависело от возраста, чем поступление фосфора. В 14 дней искомое время было менее 5 мин, а в 39 дней оно увеличилось до 30 мин.

В начальные фазы онтогенеза подсолнечника искомое время появления меченого кальция составляло менее 10 мин. Однако с возрастом растений оно резко увеличивалось и в заключительные фазы онтогенеза достигало 150—170 мин.

В опытах с мечеными катионами наблюдаются довольно резкие (менее размытые) фронты выхода меченых элементов в пасоку.

Возрастная зависимость времени выноса меченого кальция в пасоку у фасоли и подсолнечника сходна: искомое время с возрастом увеличивается от 5 до 70 мин.

Из таблицы видно, что в транспорте различных меченых элементов через корневую систему имеются как некоторая общность, так и различия.

Пределы изменения времени с появления меченых элементов в пасоке в онтогенезе растений

Меченый элемент	Время, мин	
	подсолнечник	фасоль
P	5→10	10→30
S	3→1	—
K	10→30	<5→30
Ca	<10→170	<5→75

Время появления меченых элементов — *P, *K, *S и *Ca — в пасоке в ранние фазы онтогенеза подсолнечника и фасоли не превышало 10 мин. Наиболее быстро транспортировалась в надземную часть растений сера. Время появления в пасоке *P, *K и *Ca увеличивалось с возрастом, хотя и по-разному, тогда как время появления серы уменьшалось. Вероятно, это обусловлено тем, что меченая сера перемещается с максимально возможной скоростью — скоростью движения подвижной жидкой фазы в проводящих каналах, т. е. транспортируемая химическая форма серы не сорбируется. Скорость переноса через корневую систему катионов — кальция и калия — меньше скорости переноса анионов — фосфора и сульфата.

Обсуждение результатов

Кинетика выделения пасоки, т. е. регистрация $\Delta V/\Delta t = f(t)$, где V — объем пасоки, нами не могла регистрироваться одновременно с активностью радиоиндикатора. Известно, что пасока выделяется во времени неравномерно, имеются суточные и более короткие ритмы ее выделения [1]. Следовательно, у нас не было возможности определять концентрацию меченого элемента в пасоке.

Регистрируя активность собираемых проб пасоки, мы фактически определяем массу меченого элемента, выделяемую корневой системой в пасоку за заданный интервал времени, поскольку между активностью индикатора и массой меченого элемента имеется прямая пропорциональная зависимость. Активность радиоиндикатора есть мера массы меченого элемента. Итак, получаемые нами кривые выхода меченого элемента — это кинетические кривые выноса массы меченого элемента, т. е. $\Delta m/\Delta t = f(t)$, где m — масса меченого элемента. Однако принимая во внимание, что согласно поставленной задаче определения начального момента появления меченого элемента в пасоке важна была только начальная часть кривой $\Delta m/\Delta t = f(t)$, при небольшом времени (10—20 мин) объемная скорость выделения пасоки не очень сильно изменялась. Поэтому можно предполагать, что кривые $\Delta m/\Delta t = f(t)$ приблизительно отражают и ход изменения концентрации меченого элемента в пасоке, т. е. $C = f(t)$, где C — объемная концентрация меченого элемента в пасоке. Хотя в общем случае вид кинетических кривых $\Delta V/\Delta t = f(t)$, $\Delta m/\Delta t = f(t)$ и $C = f(t)$ может быть различным.

Действительно, как правило, выходные кривые $\Delta m/\Delta t = f(t)$ имели монотонно размытые участки. Иногда эта монотонность нарушалась — начальные участки кривых $\Delta m/\Delta t = f(t)$ имели пульсирующий вид. В опытах показано, что в ряде случаев ритмичность выделения меченых элементов в пасоку может наблюдаться и с самых начальных моментов появления меченых элементов в пасоке. Однако, несмотря на размытость фронта и возникновение в отдельных случаях пульсаций, фронты меченых элементов были, как правило, достаточно отчетливыми для осуществления экстраполяции кинетических кривых до пересечения с осью времени.

Обнаружена слабая зависимость времени появления меченого элемента в пасоке от индикаторной дозы.

В наших опытах впервые дана оценка времени появления меченых элементов (фосфора, серы, калия и кальция) в пасоке. Это важный не только методический, но и фактический результат. Методическое значение его состоит в том, что он дает материал для дальнейших работ по совершенствованию методов определения кинематических характеристик транспорта веществ в растениях. Опыты показали [5], что разные ионы транспортируются через корневую систему с различной скоростью. Корневая система обладает разделительными свойствами, обладает способностью сепарировать ионы подобно хроматографической сорбционной колонке.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гунар И. И., Крастина Е. Е., Петров-Спиридонов А. Е. Ритмичность поглощающей и выделительной деятельности корней. «Изв. ТСХА», 1956, вып. 26, с. 14—34. — 2. Исследование метаболизма растений изотопными методами. Сб. М., ИЛ, 1963. — 3. Карманов В. Г., Пумпянская С. Л. Изучение суточного хода транспирации у хлопчатника. «Биофизика», 1956, № 1, с. 15—19. — 4. Крастина Е. Е., Гунар И. И., Касишик М. Роль внешних и внутренних факторов в суточной динамике корневого питания томатов. «Изв. ТСХА», 1961, вып. 6, с. 32—42. — 5. Прокофьева М. С. Радиометрические методы исследования кинематики переноса меченых элементов в растениях. Автореф. канд. дис. М., 1974. — 6. Рачинский В. В. Атомная наука и техника в исследованиях Тимирязевской сельскохозяйственной академии. «Изв. ТСХА», 1966, № 2, с. 152—167. — 7. Рачинский В. В. Меченые атомы в изучении жизни растений. «Успехи современной биологии», 1951, т. 31, № 3, с. 376—385.

Статья поступила 6 мая 1977 г.

SUMMARY

For the first time the method of radioactive tracers has been applied for determining the transport time of different elements from the nutrient solution to the upground part of the plants. The elements used in the work were labelled P, S, K, Ca, and the plants — sunflower and bean.

The plants were studied at different stages of development. The labelled solutions and the time of their appearance in the upground part of the plant were measured by collecting molasses on paper filters. The activity was measured on radiometer PP-8 with the counter T-25-BFL.

In sunflower labelled phosphorus is transported to the upground part of the plant within approximately 5—10 min, and in bean — within 10—30 min. Labelled potassium is transported to the upground part of the plant within 10—30 min and 5—10 min in sunflower and in bean, respectively. Labelled calcium is transported within 10—170 min in sunflower and within 5—75 min in bean.