

УДК 634.8:621.039.85

МЕТОДИКА ГЕНЕРАЦИИ И ВВЕДЕНИЯ $^{14}\text{CO}_2$ В ЛИСТЬЯ РАСТЕНИЯ ВИНОГРАДА С ПОМОЩЬЮ АВТОНОМНОЙ ЦИРКУЛИРУЮЩЕЙ СИСТЕМЫ

В. Г. БУХАНЦОВ, А. С. ПЕЛЬЦЕР

(Кафедра виноградарства и кафедра применения изотопов
и радиации в сельском хозяйстве)

Предложена методика генерации $^{14}\text{CO}_2$ и дозированного его введения в листья виноградного растения с помощью системы, обеспечивающей режим циркуляции и кондиционирования $^{14}\text{CO}_2$, что позволяет проводить исследования в полевых условиях. При использовании данной методики изучали вклад отдельных листьев в донорно-акцепторные отношения виноградного растения.

Метод радиоактивных индикаторов в настоящее время широко применяется в биологических исследованиях. С его помощью стало возможным изучение таких важных процессов функционирования живого организма, как транспорт веществ, локализация, биосинтез, метаболизм и т. д. Полученные данные о поглощении радиоактивного диоксида углерода ($^{14}\text{CO}_2$) растением в процессе фотосинтеза и включения ^{14}C в биохимические реакции образования органических веществ позволили определить первичные, промежуточные и конечные продукты фотосинтеза.

Существующие способы введения $^{14}\text{CO}_2$ в листья различаются по характеру используемой аппаратуры. Возможность их применения определяется целью эксперимента. Устройства для создания

атмосферы $^{14}\text{CO}_2$ обычно состоят из замкнутых циркулирующих систем. Используются и нециркулирующие системы с генерированием $^{14}\text{CO}_2$ непосредственно в камерах [4, 7], которые имеют значительные «мертвые пространства», их герметизация и удаление остатков радиоактивной углекислоты затруднены. Применение циркулирующих систем, содержащих аспираторы [5], в полевых условиях сдерживается из-за их громоздкости. Для нормального функционирования таких систем требуется значительное количество $^{14}\text{CO}_2$, который хранится в баллонах-газгольдерах [1], что небезопасно. Кроме того, в этих системах не обеспечивается одинаковая дозировка $^{14}\text{CO}_2$ во всех экспозициях. Предложена пневматическая цепь портативного источника газа, которая, однако, имеет сложную

систему регулировки скорости подачи газа и позволяет хранить запас $^{14}\text{CO}_2$ [9].

Основным рабочим органом системы циркуляции является насос. Ток газовой смеси создается при работе насосов либо мембранного типа [6], либо перистальтических [10]; и те и другие достаточно громоздки, использование их в полевых условиях затруднительно. Для обеспечения температурного режима, необходимого для нормального функционирования растения, часто в листовые камеры встраивают вентилятор [1, 9], но в этом случае воздух не всегда кондиционируется.

Принцип работы предлагаемой нами системы основан на генерации $^{14}\text{CO}_2$ путем введения раствора $\text{Na}_2^{14}\text{CO}_3 + \text{Na}_2\text{CO}_3$ в колбу с

0,1 н. раствором HCl . Колба-реактор герметично соединена с насосом и прозрачной листовой камерой. Мембранный насос обеспечивает циркуляцию газовой смеси и вентиляцию всей системы после окончания экспозиции. Система позволяет вводить дозированное количество $^{14}\text{CO}_2$ с учетом интенсивности фотосинтеза подкармливаемого листа при циркуляции газовой смеси и ее кондиционировании. Благодаря небольшим габаритам, простоте в обращении прибор достаточно надежен, радиационно безопасен и может длительное время работать в полевых условиях. Конструкция легких листовых камер позволяет устанавливать их, не изменяя первоначальной ориентации листа на побеге.

Устройство прибора показано на

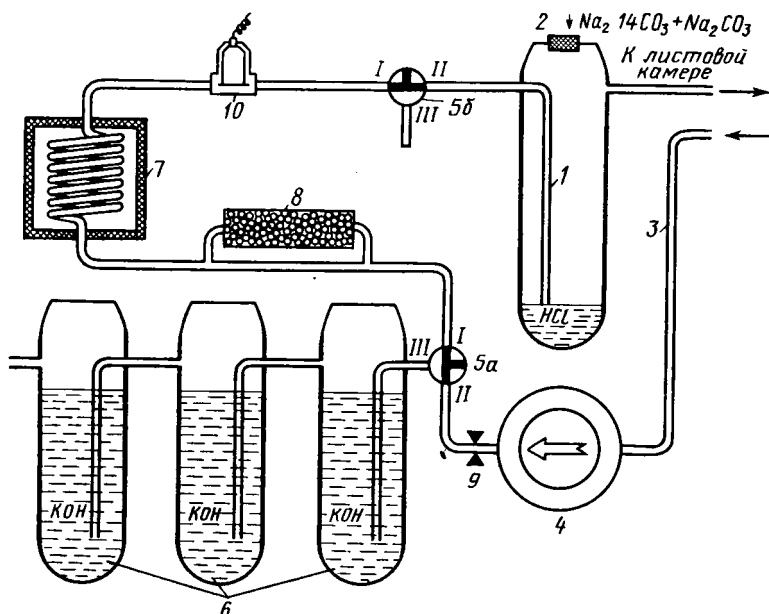


Схема устройства прибора для подкормки листьев $^{14}\text{CO}_2$.

1 — реакционная колба; 2 — уплотнительная прокладка; 3 — полиэтиленовые трубки; 4 — мембранный насос; 5 а и 5 б — трехходовые краны; 6 — поглотители $^{14}\text{CO}_2$; 7 — холодильник; 8 — осушитель газа; 9 — регулирующий кран; 10 — счетчик радиоактивности.

рисунке. Прибор состоит из колбы-реактора (1), содержащей 0,1 н. раствор HCl. Раствор $\text{Na}_2^{14}\text{CO}_3 + \text{Na}_2\text{CO}_3$, хранившийся в герметично закрытых флаконах, вводится в колбу-реактор шприцем через уплотнительную прокладку (2) непосредственно перед экспозицией, что исключает возможность изотопного обмена с CO_2 воздуха. Колба-реактор соединена с входом листовой камеры гибкими полиэтиленовыми трубками (3). Выход этой камеры соединен с вакуумной линией мембранного насоса (4). Нагнетающая линия насоса подключена к трехходовому крану (5а), который позволяет переключать режимы циркуляции или поглощения остатков радиоактивного газа системой поглотителей (6), содержащих 30 % раствор КОН. Другой трехходовой кран (5б) соединяет систему с атмосферой и обеспечивает вентилирование. Кроме того, кран позволяет контролировать герметичность листовой камеры, что является основным условием эксперимента. В положении III—II крана (5б) воздух атмосферы проникает через капилляр водного затвора колбы-реактора только в том случае, если листовая камера герметична и в колбе создается разряжение.

В камере с помещенным в нее листом при циркуляции воздуха температура на 2—3 °С выше, чем окружающего воздуха, что нарушает ход фотосинтеза и приводит к искажению результатов. Поэтому в систему циркуляции включен холодильник (7), поддерживающий температуру в листовой камере на уровне температуры окружающей среды. Благодаря транспирации листьев влажность в листовой камере увеличивается, что также нарушает естественный ход фотосинтеза. В связи с этим часть газовой смеси пропускается через осуши-

тель (8), заполненный хлористым кальцием. Скорость газового потока предварительно регулируется краном (9), до введения $^{14}\text{CO}_2$.

Для определения интенсивности фотосинтеза к прибору подключается счетчик регистрации β-частиц (10) типа «БЕТА». По убыли радиоактивности можно рассчитать интенсивность фотосинтеза, а также зафиксировать наличие $^{14}\text{CO}_2$ в системе.

В системе используется миниатюрный насос мембранного типа производительностью 40 л/ч, обеспечивающий циркуляцию газовой смеси в системе объемом 1,5 л. Насос сконструирован на базе микрокомпрессора МК-2 и отличается от него способом активации мембраны. В микрокомпрессоре МК-2 колебания мембраны осуществляются с частотой, соответствующей колебаниям сердечника, помещенного в поле электромагнита переменного тока 50 Гц. В предлагаемой конструкции колебания передаются мембране через упругую пластинку от эксцентрика, закрепленного на вале микродвигателя, питающегося от батареи 9 В. Производительность насоса можно регулировать как шагом эксцентрика, так и числом оборотов двигателя. Параллельное включение двух насосов увеличивает производительность вдвое. Изменена и сама конструкция МК-2, работающего как компрессор и вакуум-насос.

С помощью описанной автономной циркулирующей системы изучали вклад листьев различных ярусов плодородного побега виноградного растения в обеспечение потребляющих органов продуктами фотосинтеза. Для подкормки листа готовили растворы, содержащие $\text{Na}_2^{14}\text{CO}_3$ с удельной радиоактивностью 925 кБк/мл и Na_2CO_3 в качестве носителя, с учетом интенсив-

Распределение меченого углерода по побегу в зависимости от расположения листа с поглощенным $^{14}\text{CO}_2$ в фазу цветения (% к общему количеству поступившего в растение ^{14}C)

Часть побега	Лист с поглощенным $^{14}\text{CO}_2$					
	молодой	верхней части побега	средней части побега	над соцветием	напротив соцветия	под соцветием
Апекс	0,56 ± 0,12	6,5 ± 2,7	0,72 ± 0,31	—	0,02 ± 0,01	—
Молодые листья	96,2 ± 3,4*	29,2 ± 4,0	9,3 ± 3,2	0,15 ± 0,04	0,41 ± 0,01	0,07 ± 0,02
Молодые междоузлия	2,51 ± 0,52	58,9 ± 6,1	22,6 ± 4,3	0,14 ± 0,05	0,21 ± 0,01	—
Зрелые листья	—	0,11 ± 0,03	0,6 ± 0,1	0,22 ± 0,05	0,61 ± 0,02	—
Междоузлия над соцветием	0,18 ± 0,05	4,9 ± 1,3	46,3 ± 5,4	15,8 ± 3,4	9,1 ± 1,1	0,45 ± 0,11
Пасынки	—	0,11 ± 0,02	1,34 ± 0,42	1,53 ± 0,57	0,16 ± 0,02	—
Соцветие	—	0,17 ± 0,04	16,9 ± 3,5	74,3 ± 7,2	38,7 ± 3,7	93,6 ± 4,4
Междоузлия под соцветием	—	0,05 ± 0,01	2,2 ± 1,1	7,8 ± 1,2	50,8 ± 5,2	5,9 ± 1,4

* Молодые листья, в том числе подкормленные $^{14}\text{CO}_2$.

ности фотосинтеза. Таким образом, вводимая в колбу-реактор аликвота имела известные активность и концентрацию $^{14}\text{CO}_2 + \text{CO}_2$. Продолжительность экспозиции 15 мин. Модельные побеги через 3 сут срезали, делили на части, фиксировали сухим жаром при 70 °С, образцы взвешивали, размалывали на шаровой мельнице «Ritch». Навески 10—20 мг помещали в вials с гельобразующим сцинтиллятором ЖС-13Н и определяли радиоактивность на жидкостном сцинтилляционном счетчике 1219 Ракбета «Спектрал» фирмы LKB wallak по методике В. К. Кукушкина и Я. В. Кузякова [2]. Рассчитывали радиоактивность всего побега и распределение ^{14}C по различным органам и частям побега в процентах, исключая радиоактивность листа, подкормленного $^{14}\text{CO}_2$. Отмечали распределение ^{14}C -ассимилятов от листьев разных ярусов, а также от листа напротив соцветия. Повторность опыта 3-кратная. Статистическую обработку проводили на ПЭВМ по программе STATGRAF.

В качестве объекта исследования были выбраны 5-летние кусты вино-

града сорта Кишмиш черный *Vitis vinifera* восточной эколого-географической группы *Convar orientalis* Negr. Исследования проводили на опытном участке кафедры виноградарства Тимирязевской академии.

Подкормка листьев различных ярусов $^{14}\text{CO}_2$ позволила выявить основные донорно-акцепторные отношения плодоносного побега в период цветения. Как видно из таблицы, потребителями ассимилятов прежде всего являются точка роста, молодые междоузлия и молодые активно растущие листья. Молодые листья, площадь которых составляет 25—30 % размера зрелого листа, при высокой интенсивности фотосинтеза практически полностью используют фотоассимиляты для своих активно растущих тканей и структур (таблица). Отток ассимилятов из листьев, расположенных в верхней части побега, наблюдается лишь при определенных размерах листьев — 45—50 % размера зрелого листа. При исследовании оттока ^{14}C -ассимилятов из достигнутого максимального размера листа, расположенного в среднем

ярус побегов, в фазу цветения не выявлено строгой ориентации транспорта; донорный лист отдает свои ассимилянты нескольким потребителям: апексу, молодым листьям, междоузлиям, соцветию. Характерно отсутствие обмена ассимилянтами между зрелыми листьями, получившее название «сурового закона» [3]. Следует подчеркнуть значение ориентации нижних листьев по отношению к соцветию. В отличие от литературных данных [8, 11], согласно которым наибольшее количество ассимилянтов поступает в гроздь из противолежащего листа, в наших экспериментах поступление ^{14}C -ассимилянтов из того же листа было значительно меньше. Четко функционирующая связь донор — акцептор характерна для листа, расположенного под соцветием в период цветения.

Заключение

Использование предлагаемой нами методики дало возможность получить воспроизводимые результаты, позволяющие судить о распределении меченого углерода по частям побега, направленности ростовых процессов виноградного растения, вкладе отдельных листьев в обеспечение продуктами фотосинтеза, о донорных свойствах листьев. Приведенные результаты являются лишь частью исследований, которые были выполнены при использовании описанной автономной циркулирующей системы, применение

которой также возможно при изучении других аспектов фотосинтеза, дыхания и других процессов жизнедеятельности растений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вознесенский В. Л., Заленский О. В., Семихатова О. А. Методы исследования фотосинтеза и дыхания растений.— М.: Л: Наука, 1965.— 2. Кукушкин В. К., Кузяков Я. В. Методика определения абсолютной активности радионуклида ^{14}C в образце почвы без экстрагирования с применением гелевого сцинтиллятора.— Изв. ТСХА, 1991, вып. 1, с. 195—201.— 3. Курсанов А. Л. Транспорт ассимилянтов в растении.— М.: Наука, 1976.— 4. Насыров Ю. С., Гиллер Ю. Е., Логинова М. А. и др. Применение ^{14}C для изучения фотосинтетического баланса растений фитоценозов.— Бот. журнал, 1962, т. 47, № 1, с. 96—99.— 5. Ничипорович А. А., Строганова Л. Е., Чиора С. Н. и др. Фотосинтетическая деятельность растений в посевах.— М.: Изд-во АН СССР, 1961.— 6. Новицкий Ю. И. Прибор для изучения фотосинтеза с помощью ^{14}C в токе воздуха.— Физиология растений, 1956, т. 3, вып. 6, с. 574—578.— 7. Рачинский В. В. Метод определения поглощения и выделения меченой двуокиси углерода растениями.— Физиология растений, 1955, т. 2, вып. 2, с. 182—186.— 8. Чанишвили Ш. Ш. Передвижение ассимилянтов в виноградной лозе.— Тбилиси: Изд-во АН ГССР, 1964.— 9. Bell C. J., Incoll L. D.— J. Exp. Bot., 1981, vol. 32, p. 1125—1134.— 10. Glenn E. E., Hackerman N.— Rev. Sci. Instrum., 1950, vol. 21, N 2, p. 148—149.— 11. Leonard O. A., Weaver J.— Hilgardia, 1961, vol. 31, p. 16—29.

Статья поступила 5 марта 1991 г.

SUMMARY

Methods for generating $^{14}\text{CO}_2$ and for its measured introduction into grape leaves using the system that provides the regime of circulation and conditioning of $^{14}\text{CO}_2$ which allows to make research in the field, have been suggested. Using this method, the contribution of certain leaves into donor-acceptor relations of grape plant were studied.