

<https://doi.org/10.3176/biol.1966.1.04>

Т. ПЯРНИК, О. КЕЭРБЕРГ

УСОВЕРШЕНСТВОВАННАЯ КАМЕРА ДЛЯ КРАТКОВРЕМЕННЫХ ЭКСПОЗИЦИЙ ЛИСТЬЕВ В АТМОСФЕРЕ РАДИОАКТИВНОГО УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА

При изучении первичных продуктов фотосинтетической ассимиляции CO_2 необходимы, как известно, кратковременные экспозиции листьев в атмосфере $^{14}\text{CO}_2$. Вместе с тем требуется, чтобы экспозиция проводилась в контролируемых условиях, причем в первую очередь необходимо следить за температурой, освещением и концентрацией CO_2 .

Физиологические основы и методика экспонирования листьев в атмосфере $^{14}\text{CO}_2$ обстоятельно изложены в работе О. Заленского и соавторов (1955), но описанные ими камеры не могут быть использованы для изучения кинетики включения меченого углерода в продукты фотосинтеза при коротких экспозициях.

При конструировании камер для коротких экспозиций технически наиболее трудно обеспечить введение листа, находящегося в состоянии стационарного фотосинтеза, в атмосферу $^{14}\text{CO}_2$ и быстрое его выведение для немедленной фиксации.

Многие исследователи используют камеры, которые герметически закрываются снизу пластинкой (Bean, Hassid, 1955; Towers, Mortimer, 1956; Galmiche, 1963; Моиз, 1959). Широко применяются также различные ртутные камеры (Доман, 1959; Кузин, Саенко, 1959; Шлык и др., 1962; Мокроносов, 1962). Ртутные камеры позволяют быстро вводить и выводить лист, несложны по конструкции и экономны, так как потери $^{14}\text{CO}_2$ практически отсутствуют. При помощи такой камеры Н. Доману (1959) удавалось проводить полусекундные экспозиции.

При изучении включения ^{14}C в отдельные продукты фотосинтеза очень важно, чтобы лист при экспозиции находился в условиях, близких к естественным. Кроме того, необходимо иметь возможность предварительно держать лист в таких же условиях освещения, температуры и концентрации CO_2 , которые имеются в камере, чтобы установилось стационарное состояние фотосинтеза — «steady state».

Камера для кратковременных экспозиций должна удовлетворять следующим требованиям:

1. Позволять быстро вводить лист в атмосферу с $^{14}\text{CO}_2$ и быстро выводить его.
2. Иметь контролируемые условия освещения.
3. Иметь устройство для регуляции температуры.
4. Обеспечивать нормальное снабжение листа углекислотой.
5. Давать возможность предварительно при соответствующей температуре и концентрации CO_2 освещать лист таким же светом, какой имеется в камере.

Поскольку существующие камеры лишь частично удовлетворяют перечисленным требованиям, представлялось необходимым усовершенствовать их и присоединить некоторые добавочные системы.

Усовершенствованная нами камера (рис. 1), размеры которой $8 \times 8 \times 4$ см, позволяет экспонировать небольшие листья или диски из листьев. Она изготовлена из органического стекла. Лист, закрепленный в держателе, вводится в камеру через ртуть при помощи особого рычага, который позволяет при экспонировании точно фиксировать положение листа в отношении светового пучка. Оперируя рычагом с держателем, через 0,8—1,0 сек после экспозиции лист погружают в фиксирующую среду.

Можно проводить даже секундные экспозиции, при этом от начала экспозиции до начала фиксации проходит не более двух секунд. Камера позволяет работать и с более длинными экспозициями — до 10—15 минут и более. Постоянная концентрация CO_2 в ней при длительных экспозициях обеспечивается специальной системой достаточно большого объема для циркуляции газа. Для генерации $^{14}\text{CO}_2$ в камере помещена небольшая чашечка для $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$, в которую поступает кислота из воронки. Водяной радиатор из медных трубок служит регуля-

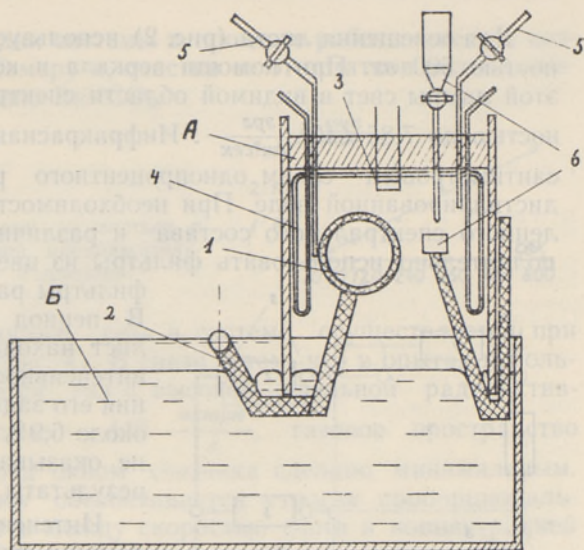


Рис. 1. А — Фотосинтетическая камера. Б — Ванна с ртутью.

1 — лист или диск из листа в держателе, 2 — рычаг, 3 — термосопротивление, 4 — водяной радиатор, 5 — трубки для циркуляции газа, 6 — воронка и сосудик для зарядки камеры $^{14}\text{CO}_2$.

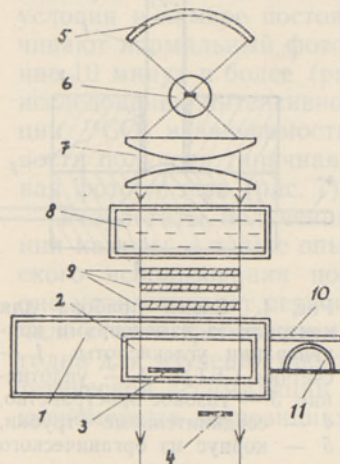


Рис. 2. Схема освещения (вид сверху): 1 — ванна с ртутью, 2 — фотосинтетическая камера, 3 — лист в камере, 4 — лист при предварительном освещении, 5 — зеркало, 6 — прожекторная лампа, 7 — конденсор, 8 — жидкостный фильтр, 9 — фильтры из цветных стекол, 10 — пластинка из органического стекла, 11 — пиранометр Янишевского.

тором температуры в камере во время экспозиции. Регулируя скорость тока воды в радиаторе, можно поддерживать в камере температуру, близкую к комнатной, при которой лист находится в период предварительного освещения. Контроль за температурой осуществляется при помощи термосопротивления.

Для освещения листа (рис. 2) используется прожекторная лампа мощностью 500 вт. При помощи зеркала и конденсора можно получить от этой лампы свет в видимой области спектра (400—750 мкм) с интенсивностью до $7,85 \times 10^5 \frac{\text{эрг}}{\text{см}^2 \text{сек}}$. Инфракрасная радиация снимается пятисантиметровым слоем однопроцентного раствора медного купороса в дистиллированной воде. При необходимости работать со светом определенного спектрального состава и различной интенсивности можно дополнительно использовать фильтры из цветного стекла или нейтральные фильтры различной оптической плотности. В период предварительного освещения лист находится за камерой. Уменьшение интенсивности света вследствие поглощения его задней стенкой камеры составляет около 6,9% от освещенности в камере, что не оказывает существенного влияния на результаты опытов.

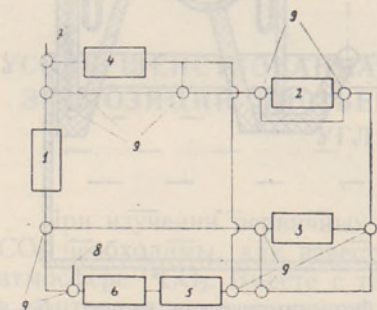


Рис. 3. Схема добавочных систем к фотосинтетической камере: 1 — фотосинтетическая камера, 2 — газгольдер, 3 — мембранный насос, 4 — торцовый счетчик, 5 — фильтр с 20%-ным КОН, 6 — насос, 7, 8 — трубки для продувания системы, 9 — трехходовые краны.

можно быстро и в любое время проверить освещенность на поверхности листа.

Система для циркуляции газа (рис. 3), с которой соединена камера, состоит из газгольдера (бутыль объемом 19,8 л), мембранного насоса и торцового счетчика. Общий объем системы — 20,3 литра. Мембранный насос создает в системе циркуляцию газа со скоростью 0,7 л/мин. Перед началом работы замкнутая газовая система очищается от CO_2 путем продувания через фильтр 20%-ным раствором КОН. Продувание осуществляется не мембранным, а другим, более мощным насосом, присоединенным к системе.

Для зарядки камеры и всей газовой системы $^{14}\text{CO}_2$ берется такое количество $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$, которое обеспечивает получение концентраций $^{14}\text{CO}_2$ в пределах 0,03—0,06%. Большой объем системы позволяет провести много экспозиций без существенного снижения концентрации CO_2 . Так, если допустить, что скорость фотосинтеза при экспозиции будет составлять даже $20 \frac{\text{мг } \text{CO}_2}{\text{дм}^2 \cdot \text{час}}$, то можно провести 130 минутных экспозиций дисков из листьев площадью $4,5 \text{ см}^2$, причем концентрация CO_2 снизится не более, чем на 10%.

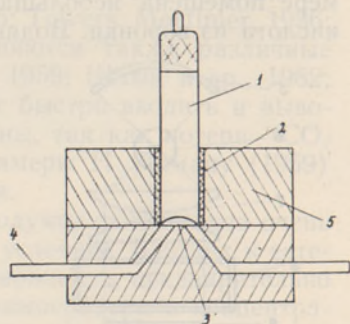
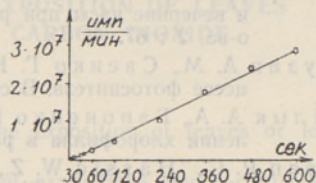


Рис. 4. Схема прибора для контроля за изменениями концентрации углекислоты: 1 — счетчик СБТ-9, 2 — уплотнение, 3 — газовое пространство, 4 — соединительные трубки, 5 — корпус из органического стекла.

Для дополнительной зарядки системы в процессе работы имеется возможность отключать от нее камеру и, очистив ее от остатков радиоактивного газа, ввести новую порцию $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$.

Рис. 5. Поглощение $^{14}\text{CO}_2$ дисками из листьев в камере при экспозициях различной продолжительности (по радиоактивности 5 дисков).



Контроль за радиоактивностью газа в системе осуществляется при помощи торцового счетчика (рис. 4). В связи с тем, что в опытах используется газ с высокой удельной радиоактивностью — $440 \frac{\text{мкюри}}{\text{л}}$, газовое пространство перед окном счетчика сделано минимальным. Этим обеспечивается строгая пропорциональность между скоростью счета и концентрацией $^{14}\text{CO}_2$.

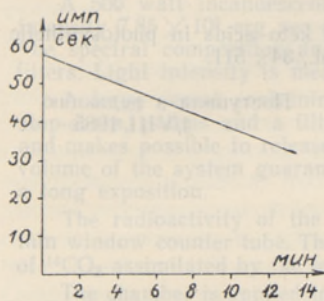


Рис. 6. Снижение радиоактивности газа в «малой системе» в течение экспозиции за счет поглощения $^{14}\text{CO}_2$ диском из листа фасоли.

В случае необходимости, отключив газгольдер и используя небольшую по объему (350 см^3) газовую систему, состоящую из камеры, счетчика и мембранного насоса, можно по уменьшению радиоактивности газа определить количество поглощенной $^{14}\text{CO}_2$.

Описанная камера была использована нами для изучения продуктов фотосинтетической ассимиляции CO_2 при секундных, а также более длительных экспозициях. В то же время мы измеряли общую активность поглощенного $^{14}\text{CO}_2$

для определения интенсивности фотосинтеза. Изучение поглощения $^{14}\text{CO}_2$ листом, находящимся в состоянии стационарного фотосинтеза, показало, что условия в камере постоянны и обеспечивают нормальный фотосинтез в течение 10 минут и более (рис. 5 и 6). При исследовании интенсивности ассимиляции $^{14}\text{CO}_2$ в зависимости от освещенности получена типичная световая кривая фотосинтеза (рис. 7).

Результаты, полученные при испытании камеры, а также опыт ее практического использования показывают, что она удовлетворяет перечисленным в начале статьи требованиям и вполне пригодна для изучения продуктов фотосинтетической ассимиляции CO_2 при кратковременных экспозициях.

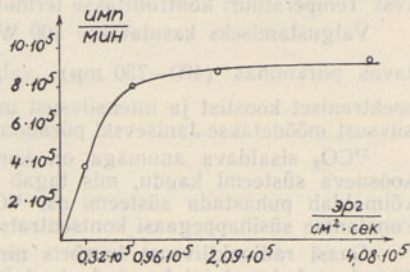


Рис. 7. Поглощение $^{14}\text{CO}_2$ дисками из листьев фасоли в зависимости от освещенности при трехминутных экспозициях (по радиоактивности 5 дисков).

ЛИТЕРАТУРА

- Доман Н. Г., 1959. Основные черты ассимиляции углерода при фотосинтезе. В сб.: Проблемы фотосинтеза. Изд. АН СССР, М.: 294.
- Заленский О. В., Семихатова О. А., Вознесенский В. Л., 1955. Методы применения радиоактивного углерода C^{14} для изучения фотосинтеза. Изд. АН СССР, М.—Л.

- Моиз А., 1959. Некоторые аспекты фотосинтеза в связи с метаболизмом органических кислот и аминокислот. Физиол. растений, **6** : 274.
- Мокроносов А. Т., 1962. Особенности фотосинтеза у картофеля в утренние, дневные и вечерние часы при разных фотопериодах. Зап. Свердловск. отд. Всес. ботан. о-ва, **2** : 67.
- Кузьян А. М., Саенко Г. Н., 1959. О природе веществ, фиксирующих CO_2 в процессе фотосинтеза. В сб.: Проблемы фотосинтеза. Изд. АН СССР, М.: 302.
- Шлык А. А., Гапоненко В. И., Кухтенко Т. В., 1962. Кинетика C^{14} при обновлении хлорофилла в растениях ячменя и табака. Физиол. растений, **9** : 521.
- Bean R. C., Hassid W. Z., 1955. Assimilation of C^{14}O_2 by a photosynthesizing red alga, *Iridophycus Flaccidum*. J. Biol. Chem., **212** : 411.
- Galmiche J., 1963. Influence de différentes longueurs d'onde de la lumière sur la distribution du carbone-14 dans les premiers produits de la Photosynthèse en utilisant des temps d'absorption très courts du $^{14}\text{CO}_2$ per des feuilles de tomate. La Photosynthèse, Colloques Internationaux du Centre National de la Recherche Scientifique, (119) : 589.
- Towers G. H. N., Mortimer D. C., 1956. The role of keto acids in photosynthetic carbon dioxide assimilation. Can. J. Biochem. Physiol., **34** : 511.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
4/VIII 1965

T. PÄRNIK, O. KEERBERG

TÄIUSTATUD KAMBER TAIMELEHTEDE LÜHIAJALISEKS EKSPONEERIMISEKS RADIOAKTIIVSE SÜSIHAPPEGAASI KESKKONNAS

Resüme

Täiustati taimelehtede või lehekete eksponeerimiseks $^{14}\text{CO}_2$ keskkonnas kasutatavate elavhõbedakambrite konstruktsiooni.

Kambris on võimalik teostada nii sekundilisi kui ka pikemaajalisi (10–15-minutilisi) ekspositsioone, kusjuures temperatuur, valgustus ja $^{14}\text{CO}_2$ kontsentratsioon on kontrollitavad ning reguleeritavad.

Temperatuuri reguleerimiseks on kambrisse paigutatud radiaator, milles tsirkuleerib vesi. Temperatuuri kontrollitakse termotakistiga.

Valgustamiseks kasutatakse 500 W prožektorilampi, mille abil saadakse spektri nähtavas piirkonnas (400–750 m μ) valgus intensiivsusega $7,85 \times 10^5 \frac{\text{erg}}{\text{cm}^2 \text{sek}}$. Valguse spektraalset koostist ja intensiivsust muudetakse klaas- ja vedelfiltritega. Valguse intensiivsust mõõdetakse Janiševski püranomeetriga.

$^{14}\text{CO}_2$ sisaldava anumaga on kamber ühendatud kraanidest, pumpadest ja filtrist koosneva süsteemi kaudu, mis tagab gaasi tsirkulatsiooni kambris ja vajaduse korral võimaldab puhastada süsteemi osi $^{14}\text{CO}_2$ -st. Süsteemi suur ruumala tagab praktiliselt konstantse süsihappegaasi kontsentratsiooni ka pikematel ekspositsioonidel.

Gaasi radioaktiivsust kambris ning süsteemis kontrollitakse loendajaga. Vajaduse korral saab loendajat kasutada ka taimelehes neeldunud $^{14}\text{CO}_2$ koguse määramiseks.

Kambrist kasutatakse CO_2 fotosünteesilise assimilatsiooni primaarsete produktide uurimiseks.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Eksperimentaalbioloogia Instituut

Saabus toimetusse
4. VIII 1965

T. PÄRNIK, O. KEERBERG

AN IMPROVED CHAMBER FOR THE SHORT EXPOSITION OF LEAVES
IN THE ATMOSPHERE OF RADIOACTIVE CARBON DIOXIDE

Summary

An improved design of the mercury chamber for the exposition of leaves or leaf disks in an atmosphere containing $^{14}\text{CO}_2$ is described.

By the use of the chamber it is possible to carry out expositions under controlled and regulated temperature, illumination and concentration of $^{14}\text{CO}_2$ from a few seconds up to 10—15 minutes.

The chamber contains a radiator with circulating cold water, by which the temperature is regulated. The temperature is controlled by a thermistor.

A 500 watt incandescent lamp serves as the source of light that gives the light intensity 7.85×10^5 erg per $\text{cm}^2 \cdot \text{sec}$ in the visible part of the spectrum (400—750 m μ). The spectral composition and the intensity of light are regulated by glass and liquid filters. Light intensity is measured by the Yanishevsky-type pyranometer.

A large vessel containing $^{14}\text{CO}_2$ is attached to the chamber through a system of stop-cocks, pumps and a filter which secures the circulation of the gas in the chamber and makes possible to release the parts of the system from $^{14}\text{CO}_2$ if necessary. The great volume of the system guarantees practically constant concentration of $^{14}\text{CO}_2$ even during a long exposition.

The radioactivity of the gas in the chamber and in the system is controlled by a thin window counter tube. The counter tube may be used for the estimation of the quantity of $^{14}\text{CO}_2$ assimilated by the leaf.

The chamber is applied in the investigation of primary products of the photosynthetic assimilation of CO_2 .

Academy of Sciences of the Estonian S.S.R.,
Institute of Experimental Biology

Received
Aug. 4th, 1965