

ТИИТ ПЯРНИК, ЮТА ВИЙЛЬ, ЭДА ВЯРК, ОЛАВ КЭЭРБЕРГ,  
ХИЛЛЕ КЭЭРБЕРГ

## О ПРИМЕНЕНИИ ДИСКОВ ИЗ ЛИСТЬЕВ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ГАЗООБМЕНА ФОТОСИНТЕЗА

Большинство работ по изучению метаболизма  $\text{CO}_2$  у высших растений проводится с отрезанными листьями или дисками, вырезанными из листьев. Перерезание черешков листьев, как показано разными авторами (Авакимова, 1966; Mousseau, 1968; Turner, Bidwell, 1965; Larcher, 1963), вызывает переход фотосинтеза в новое стационарное состояние, которое при достаточном снабжении водой сохраняется в течение длительного периода. Это позволяет провести продолжительные опыты с отчлененными органами и тканями растений, например, определить интенсивность фотосинтеза дисков по приросту сухого веса (Bartoš и др., 1960).

Проведение опытов с отрезанными листьями или дисками из листьев осложняется в случае, когда вместе с изолированием объекта прекращается подача воды. В таком случае отрезание листа, находящегося в стационарном состоянии фотосинтеза, вызывает кратковременную активацию ассимиляции  $\text{CO}_2$ , которая сменяется ее подавлением (Беликов, Авакимова, 1965; Вгун, 1965; Вгун, 1961; Willis и др., 1963). Стационарное состояние в таких условиях сохраняется в течение сравнительно короткого времени. Кроме того, в опытах условия экспонирования объекта (листа или диска) обычно резко отличаются от тех условий, в которых он находится перед отрезанием. Такое изменение внешних условий вместе с отрезанием листа или вырезанием диска вызывает переход объекта в новое стационарное состояние. Однако время, необходимое для достижения его, а также продолжительность этого состояния зависят от различных воздействий, применяемых при изучении фотосинтетического метаболизма углерода в дисках, вырезанных из листьев высших растений. Если не исследуется временной ход фотосинтеза в листьях или дисках после отрезания, то может остаться неясным, изучается ли метаболизм  $\text{CO}_2$  в стационарном или переходном состоянии.

В связи с этим в настоящей работе исследовалось действие различных факторов на длительность переходного периода и стационарного состояния ассимиляции  $\text{CO}_2$  с целью выяснения возможности применения дисков из листьев при изучении фотосинтетического метаболизма  $\text{CO}_2$  у высших растений.

### Материал и методика

В опытах использовались 14-дневные растения фасоли (*Phaseolus vulgaris*, 'Масличная ранняя'), выращенные на почве под люминесцентными лампами БС-30 и ЛДС-30 при интенсивности света 5—6  $\text{вт/см}^2$ . Продолжительность суточного освещения была 16 ч (от 6 до 22 ч). Час до начала опыта растения выдерживались в лаборатории под лампой ДРЛ-400 при низкой интенсивности света — 0,8  $\text{вт/см}^2$ .

Определение временного хода фотосинтеза дисков проводилось радиоизотопным методом в камерах двух типов, конструкция которых описана ранее (Пярник, Кээрберг, 1966; Пярник, Кээрберг, 1969). Из первых после семядолей листьев вырезались диски диаметром 24 мм, которые помещались сразу в положение предварительного освещения. После этого их перемешали в среду с  $^{14}\text{CO}_2$  (от 15 сек до 1 мин), а затем фиксировали в кипящем 80%-ном этаноле. Внешние условия при перемещении диска в среду с  $^{14}\text{CO}_2$  не изменились. По количеству поглощенного диском  $^{14}\text{CO}_2$  рассчитывалась скорость фотосинтеза в данный момент времени. Варьируя продолжительности предварительного освещения, определялся временной ход фотосинтеза после отрезания диска. В каждом варианте экспонировалось 5 дисков, вырезанных из листьев разных растений. При этом диски одного варианта экспонировались не подряд, а чередовались с дисками других вариантов так, чтобы ни один вариант не был предпочтен другому в отношении возможных дневных колебаний фотосинтеза подопытных растений.

Источником света при экспозиции служила прожекторная лампа мощностью 1 кВт. Спектральный состав изменялся при помощи жидких и стеклянных светофильтров. В опытах с белым светом (400—700 нм) фильтром служил 5-сантиметровый слой 1%-ного раствора медного купороса в дистиллированной воде, в опытах с синим светом (400—560 нм) — 5%-ный раствор медного купороса (5-сантиметровый слой) и стеклянный светофильтр СЗС-12, а в опытах с красным светом (580—1150 нм) — 5-сантиметровый слой дистиллированной воды и фильтр КС-11. При изучении действия спектрального состава света на скорость фотосинтеза красный и синий свет были выравнены по поглощенным квантам фотосинтетически активной радиации.

В отдельных опытах при помощи микроскопа МБИ-6 велись наблюдения за движением устьиц на нижней стороне дисков листьев фасоли. Во время опытов соблюдались нормальные условия для фотосинтеза — комнатная температура (22°C), достаточный доступ воздуха и равномерное освещение диска при помощи диапроектора «ЛЭТИ». Микрофотосъемка устьиц проводилась в проходящем свете по методике, описанной С. Пумпянской (1962).

Временной ход транспирации дисков изучался в камере (Пярник, Кээрберг, 1969) при помощи микропсихрометра, изготовленного в Институте физики и астрономии АН ЭССР В. Оя (1969).

Нитраты вводились в листья через корни. Для этого за 20 ч до экспозиции корни растений осторожно извлекались из почвы, тщательно отмывались и помещались в раствор Кнопа с двукратным содержанием нитратов в виде  $\text{KNO}_3$ . Контролем служил раствор Кнопа без нитратов. Содержание нитратов в листьях определялось дисульфифеноловой кислотой (Данилова, 1963).

Ингибитор переаминирования — изоникотинилгидразид (ИНГ) — вводился в листья через черешки в течение двух часов перед экспозицией.

## Результаты

**1. Общий временной ход фотосинтеза, транспирации и устьичных движений у дисков.** Временной ход фотосинтеза в дисках, вырезанных из листьев фасоли, изображен на рис. 1, из которого видно, что сразу же после помещения диска в экспозиционную камеру и включения света начинается постепенное повышение интенсивности фотосинтеза. Фотосинтетический аппарат диска переходит в новое стационарное состояние, которое определено микроклиматическими условиями в камере (свет, температура, влажность, газовый состав среды). Аналогичные кривые были получены для транспирации (рис. 2) и устьичных движений (рис. 3). Эти кривые показывают, что в начале экспозиции устьица почти закрыты. Однако после включения света устьица открываются довольно быстро — в данных условиях опыта к десятой минуте. Известно, что у растущих листьев для этого требуется больше времени (Meidner, Mansfield, 1968). В опытах В. А. Бруна (Brun, 1965) показано, что лаг-

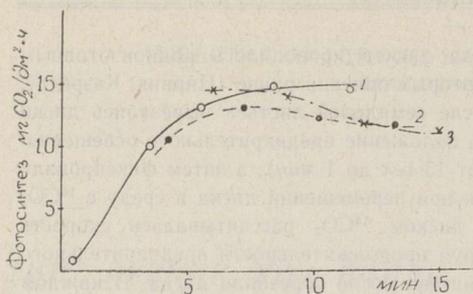


Рис. 1. Временной ход фотосинтеза дисков из листьев фасоли при естественной концентрации  $\text{CO}_2$  (0,03%). Интенсивность света в опыте 1 —  $63 \text{ мвт/см}^2$ , в опыте 2 —  $35 \text{ мвт/см}^2$ , в опыте 3 —  $20,5 \text{ мвт/см}^2$ .

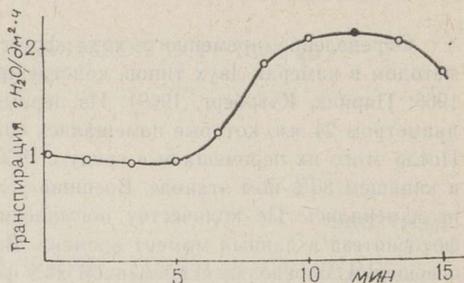


Рис. 2. Временной ход транспирации дисков из листьев фасоли. Условия опыта: интенсивность света  $35,5 \text{ мвт/см}^2$ , скорость воздуха  $17 \text{ м/ч}$ , влажность входящего в камеру воздуха 0%.

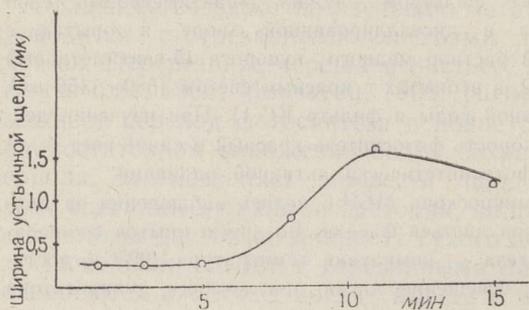


Рис. 3. Временной ход устьичных движений у дисков из листьев фасоли. Интенсивность света в опыте  $60 \text{ мвт/см}^2$ .

фаза открытия устьиц и фотосинтеза у отрезанных листьев заметно сокращена по сравнению с растущими листьями.

Стационарный уровень фотосинтеза сохраняется в зависимости от условий опыта в течение 5—10 мин, после чего начинается снижение скорости фотосинтеза и транспирации и уменьшение ширины устьичных щелей.

Таким образом, временной ход рассматриваемых процессов в дисках листьев можно

условно разделить на три части: переходный период, стационарное состояние и подавление скорости процесса.

**2. Зависимость временного хода фотосинтеза от различных внешних факторов при экспонировании дисков.** На рис. 4 и 5 изображен временной ход фотосинтеза дисков при разных концентрациях  $\text{CO}_2$  на белом, красном и синем свете. При высоких концентрациях  $\text{CO}_2$  скорость фотосинтеза растет быстро и стационарное состояние устанавливается в течение первых 3—5 мин. Очевидно, этого времени достаточно для образования фонда акцептора  $\text{CO}_2$  и перехода цикла Кальвина в новое состояние (Мокроносов, 1965). При низких концентрациях  $\text{CO}_2$  лаг-фаза значительно длиннее (8—10 мин). Это объясняется, по-видимому, тем, что в таких условиях установление стационарного состояния определяется открыванием устьиц, которое является более медленным процессом по сравнению с индукцией цикла Кальвина.

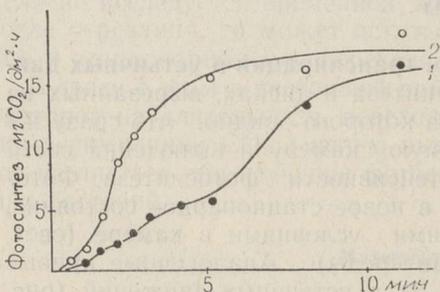


Рис. 4. Установление стационарного состояния фотосинтеза у дисков из листьев фасоли при концентрации  $\text{CO}_2$  0,03 (1) и 0,45% (2). Интенсивность света  $32 \text{ мвт/см}^2$ .

На красном и синем свете переход фотосинтеза дисков в стационар-

ное состояние происходит одновременно (рис. 5). Стационарная скорость поглощения  $\text{CO}_2$  дисками при высоких интенсивностях света также была одинаковой как на красном, так и на синем свету. Существенных различий не было обнаружено и при изучении устьичных движений и транспирации. Очевидно, фасоль, выращенная в наших условиях, принадлежит к

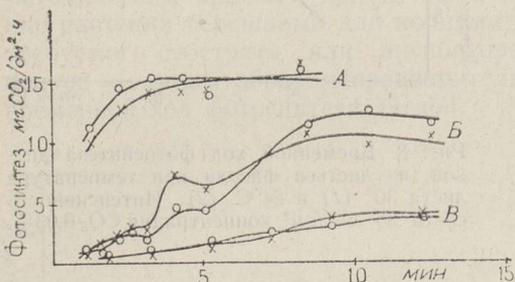


Рис. 5. Установление стационарного состояния фотосинтеза у дисков из листьев фасоли на красном (о) и синем (х) свету при разных концентрациях  $\text{CO}_2$ . Условия при экспозиции: А — концентрация  $\text{CO}_2$  0,36%, интенсивность синего света (400–550 нм) 20,4 мвт/см<sup>2</sup>, интенсивность красного света (580–700 нм) 14,0 мвт/см<sup>2</sup>; Б — концентрация  $\text{CO}_2$  0,03%, интенсивность синего света 36,0 мвт/см<sup>2</sup>, интенсивность красного света 25,7 мвт/см<sup>2</sup>; В — концентрация  $\text{CO}_2$  0,0075%, интенсивность синего света 18,9 мвт/см<sup>2</sup>, интенсивность красного света 13,6 мвт/см<sup>2</sup>.

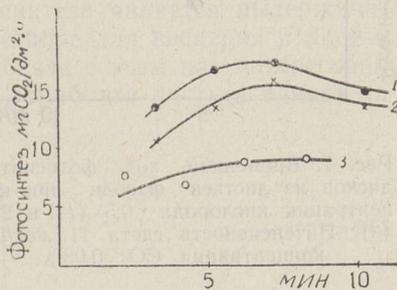


Рис. 6. Временной ход фотосинтеза дисков из листьев фасоли при разных интенсивностях света: 1 — 34,3 мвт/см<sup>2</sup>, 2 — 9,3 мвт/см<sup>2</sup>, 3 — 3,6 мвт/см<sup>2</sup>. Концентрация  $\text{CO}_2$  0,03%.

Как на белом, так и на красном и синем свету увеличение концентрации  $\text{CO}_2$  от 0,03 до 0,36—0,45% приводит к повышению стационарного уровня фотосинтеза всего лишь на 20%. Это значит, что для растений фасоли, выращенных в наших условиях, концентрация  $\text{CO}_2$  0,03% близка к насыщающей. Такие же результаты получены в опытах В. Б. Турнера и Р. Г. С. Бидуэлла (Turner, Bidwell, 1965) с листьями фасоли. В работе Г. Слободской (1968) показано, что углекислотные кривые фотосинтеза зависят от возраста листа и содержания нитратов в нем. У молодых листьев фасоли с высоким содержанием нитратов углекислотное насыщение фотосинтеза достигается при более низких концентрациях  $\text{CO}_2$ .

Исследование временного хода фотосинтеза дисков в зависимости от интенсивности света (рис. 6) показывает, что при низкой интенсивности, когда состояние устьиц не является главным лимитирующим фактором, стационарное состояние наступает быстрее и сохраняется дольше, чем при высоких интенсивностях света. При насыщающих интенсивностях света у кривых временного хода фотосинтеза наблюдается низкий максимум, который существует почти всегда, если фотосинтез лимитируется в основном устьицами. Можно считать, что в данном случае стационарное состояние сохраняется примерно от 5 до 10 мин, когда изменения скорости ассимиляции меньше, чем на 20%.

Изучено также влияние анаэробных условий на временной ход фотосинтеза во время экспонирования дисков (рис. 7). Оказывается, что в азоте (0,5%  $\text{O}_2$ ) скорость поглощения  $\text{CO}_2$  примерно на 15% выше, чем в воздухе (21%  $\text{O}_2$ ). При этом скорость перехода в стационарное состояние не зависит от содержания кислорода в условиях, где фотосинтез лимитируется в основном сопротивлением устьиц (высокая интенсивность

группе растений, уровень насыщения фотосинтеза которых существенно не зависит от спектрального состава света (Гольд, 1968).

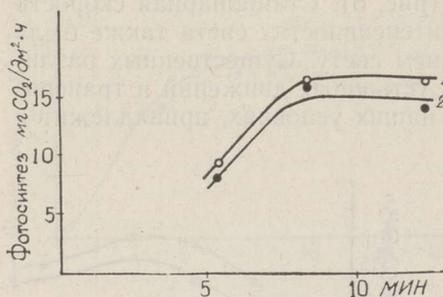


Рис. 7. Временной ход фотосинтеза дисков из листьев фасоли при концентрации кислорода 0,5 (1) и 21% (2). Интенсивность света 11 мвт/см<sup>2</sup>, концентрация CO<sub>2</sub> 0,03%.

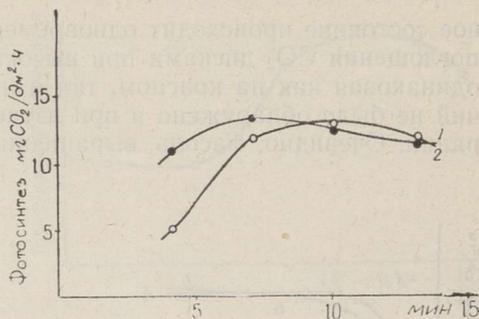


Рис. 8. Временной ход фотосинтеза дисков из листьев фасоли при температуре листа 30° (1) и 24°С (2). Интенсивность света 35 мвт/см<sup>2</sup>, концентрация CO<sub>2</sub> 0,03%.

света, низкая концентрация CO<sub>2</sub>). Эти данные хорошо согласуются с результатами Дж. Ф. Хоува (Howe, 1962), полученными по исследованию растущих листьев фасоли.

Действие разных температур на временной ход фотосинтеза дисков изображено на рис. 8. При низких температурах стационарное состояние фотосинтеза устанавливается медленнее. Это может быть обусловлено замедлением открывания устьиц при понижении температуры листа (Meidner, Mansfield, 1968). После перехода в стационарное состояние фотосинтез дисков оказался одинаковым при температуре 24 и 30°.

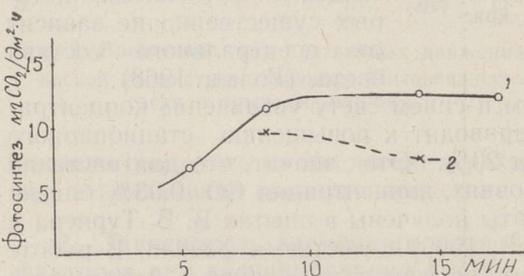


Рис. 9. Временной ход фотосинтеза дисков из листьев фасоли при влажности воздуха 75 (1) и 0% (2). Интенсивность света 20 мвт/см<sup>2</sup>, концентрация CO<sub>2</sub> 0,03%.

В литературе по влиянию температуры на фотосинтез листьев имеется большое количество противоречивых данных. Очевидно, оно в значительной мере зависит от объекта и конкретных условий опыта. Кроме того, диски из листьев, по-видимому, вообще не пригодны для изучения влияния температуры, так как при разных температурах обезвоживание дисков протекает с различной скоростью, что, в свою очередь, влияет на движение устьиц и интенсивность фотосинтеза.

Скорость транспирации и обезвоживания диска замедляется при повышении влажности среды. Поэтому для проверки эффекта обезвоживания нами определялся временной ход фотосинтеза дисков при разных влажностях воздуха. Результаты, приведенные на рис. 9, показывают, что во влажном воздухе стационарное состояние диска устанавливается позже и сохраняется дольше, чем в сухом. При этом скорость стационарного фотосинтеза в сухом воздухе значительно меньше, что может быть обусловлено неполным открыванием устьиц в результате быстрого обезвоживания диска при низкой влажности воздуха. По-видимому, увеличение водного дефицита в диске приводит к быстрому подавлению фотосинтеза дисков в сухом воздухе. В то же время во влажном воздухе стационарное состояние фотосинтеза сохраняется длительное время, что согласуется с данными П. Хоффмана и И. Тиха (Hoffmann, Tichá, 1969), однако противоречит данным В. А. Бруна (Brun, 1965) и Л. Авакимовой

(1966), согласно которым после отчленения листа временной ход фотосинтеза почти не зависит от влажности воздуха.

**3. Влияние предварительной обработки листьев и растений на фотосинтез дисков.** Временной ход фотосинтеза дисков из листьев зависит не только от условий экспонирования, но и от условий выращивания растений и выдерживания их перед экспозицией. Часто применяемым методическим приемом при изучении фотосинтеза является выдерживание растений черешками или корнями в растворе для введения в листья требуемого субстрата или ингибитора. В связи с этим нас интересовал вопрос — каким образом предварительная обработка листьев влияет на временной ход фотосинтеза дисков.

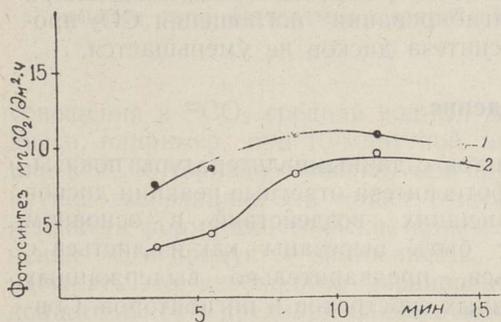


Рис. 10. Временной ход фотосинтеза дисков из листьев растений, растущих на почве (1) и выдержанных в течение 20 ч корнями в воде (2). Интенсивность света  $31 \text{ мвт/см}^2$ , концентрация  $\text{CO}_2$  0,03%.

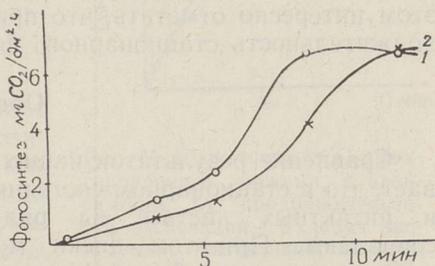


Рис. 11. Временной ход фотосинтеза дисков из листьев с разным содержанием нитратов: 1 — содержание нитратов  $2,08 \text{ мг NO}_3^- / \text{г}$  сырого веса, 2 —  $2,72 \text{ мг NO}_3^- / \text{г}$  сырого веса. Интенсивность света  $25 \text{ мвт/см}^2$ , концентрация  $\text{CO}_2$  0,03%.

Выдерживание листьев черешками в течение двух часов в обычной водопроводной воде или растворе Кнопа не вызывает существенных изменений во временном ходе фотосинтеза дисков по сравнению с дисками, вырезанными из листьев непосредственно с растущих растений. Однако длительное выдерживание (20 ч) растений корнями в воде (рис. 10) уменьшает скорость фотосинтеза в переходном периоде, задерживает установление стационарного состояния фотосинтеза и понижает скорость поглощения  $\text{CO}_2$  в стационарном состоянии. Во время выдерживания сырой вес листьев уменьшился на 10%, что указывает на изменение водного режима растений. По-видимому, подавление фотосинтеза в переходном периоде можно объяснить водным дефицитом листа, возрастание которого уменьшает ответную реакцию листьев на отрезание (Willis и др., 1963).

Выдерживание растений корнями в растворе Кнопа с двукратным содержанием нитратов вызывает подавление фотосинтеза в переходном периоде и более позднее установление стационарного состояния по сравнению с контролем (рис. 11). Скорость стационарного фотосинтеза была одинаковой как в варианте с  $\text{NO}_3^-$ , так и без него. На основе этих результатов можно предположить, что подкормка растений фасоли  $\text{KNO}_3$  и увеличение содержания нитратов в листе изменяют водный режим целого листа, что в кратковременных опытах приводит к более медленному открыванию устьиц.

Действие ингибитора переаминирования — ИНГ — при двухчасовом выдерживании листьев черешками в растворах ИНГ разных концентраций изображается кривыми, приведенными на рис. 12. Аналогично хло-

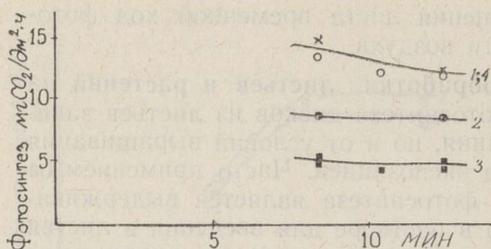


Рис. 12. Временной ход фотосинтеза дисков из листьев после их выдерживания черешками в растворах ИНГ разных концентраций: 1 — 7,3 мМ, 2 — 36,5 мМ, 3 — 73 мМ, 4 — контроль (вода). Интенсивность света 20 мвт/см<sup>2</sup>, концентрация СО<sub>2</sub> 0,03%.

релле, низкие концентрации ингибитора существенно не меняют стационарную скорость поглощения СО<sub>2</sub> (Pritchard и др., 1961). Повышение концентрации ИНГ приводит к подавлению скорости фотосинтеза. При этом интересно отметить, что при ингибировании поглощения СО<sub>2</sub> продолжительность стационарного фотосинтеза дисков не уменьшается.

### Обсуждение

Сравнение результатов наших опытов с данными литературы показывает, что в стационарном состоянии фотосинтеза ответные реакции дисков и интактных листьев на ряд внешних воздействий в основном совпадают. При этом диски могут быть вырезаны как из листьев с растущих растений, так и из листьев, предварительно выдержанных черешками в воде или в растворе разных субстратов и ингибиторов. Совпадение ответных реакций дисков и интактных листьев показывает, что раздражение, вызванное вырезанием диска, существенно не мешает исследованию действия ряда внешних факторов — интенсивности и спектрального состава света, концентраций СО<sub>2</sub> и О<sub>2</sub> во внешней среде и т. д. Однако при работе с дисками следует учитывать, что под действием внешних факторов изменяется не только стационарная скорость фотосинтеза, но и продолжительность переходного периода и стационарного состояния. Поэтому, в каждом конкретном опыте необходимо предварительно выяснить временной ход фотосинтеза дисков и на основе этого разработать временной график экспонирования. При соблюдении этих требований можно провести опыты с удовлетворительной точностью. Пятикратное определение (в каждом определении 5 дисков) скорости фотосинтеза показало, что относительная погрешность арифметического среднего не превышает 4% и погрешность единичного определения — 9%.

Однако работа с дисками имеет и существенные ограничения. Следует учитывать, что стационарное состояние фотосинтеза дисков в строгом смысле не является стационарным, так как во время экспозиции происходит непрерывное обезвоживание диска. Наши опыты показали, что изменение скорости обезвоживания оказывает существенное действие на временной ход фотосинтеза дисков (рис. 8, 9). Следовательно, на дисках нельзя исследовать действие таких факторов, под влиянием которых существенно изменяется скорость обезвоживания (температура и влажность воздуха). Например, во влажном воздухе (или при низкой температуре) стационарное состояние фотосинтеза дисков может еще не установиться к тому времени, когда в сухом воздухе (или при высокой температуре) уже начинается подавление фотосинтеза. В опытах с дисками температуру и влажность следует рассматривать как определенные параметры.

Действие обезвоживания нужно учитывать и при варьировании продолжительности экспозиции дисков в среде с <sup>14</sup>СО<sub>2</sub>, что необходимо при исследовании кинетических кривых включения <sup>14</sup>С в продукты фотосинтеза. Очевидно, при постоянной продолжительности предварительного

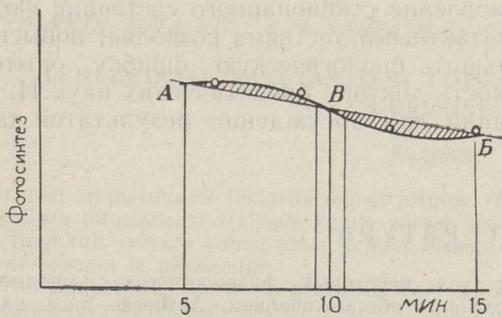


Рис. 13. Приближение кривой (АВБ) временного хода фотосинтеза к прямой (АБ).

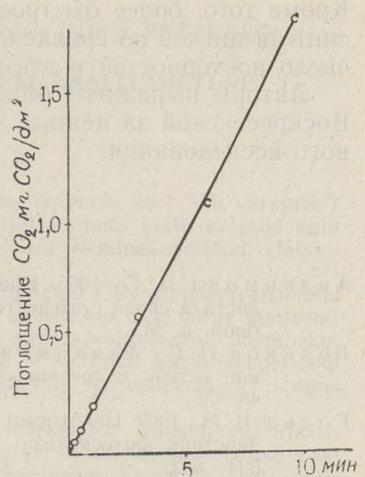


Рис. 14. Количество  $^{14}\text{CO}_2$ , фиксированного дисками, в зависимости от продолжительности экспозиции. Условия экспозиции: интенсивность света  $11,5 \text{ мвт/см}^2$ , концентрация  $\text{CO}_2$  0,03%; в каждом варианте экспонировалось по пять дисков.

освещения в  $^{14}\text{CO}_2$  средний водный дефицит диска, например, при 10-минутной экспозиции в  $^{14}\text{CO}_2$  гораздо больший, чем при 1-минутной экспозиции. Это может существенно искажать форму кинетических кривых включения  $^{14}\text{C}$  в продукты фотосинтеза. Чтобы избежать это, необходимо варьировать продолжительность предварительного освещения таким образом, чтобы промежуток времени от вырезания диска до среднего момента экспозиции в  $^{14}\text{CO}_2$  был бы одинаков для всех вариантов. Например, при временном

ходе фотосинтеза диска, приведенном на рис. 13, продолжительность предварительного освещения для 1-минутной экспозиции целесообразно выбирать 9,5 мин, для 5-минутной экспозиции — 7,5 мин, для 10-минутной экспозиции — 5 мин и т. д. Если предположить, что водный дефицит диска возрастает приблизительно линейно с увеличением продолжительности экспозиции, то в таких опытах все варианты находятся в одинаковом положении в отношении обезвоживания. Кроме того, такая постановка опытов позволяет усреднить и колебания общей скорости фотосинтеза дисков. Из рис. 13 видно, что более длительные экспозиции начинаются в стационарном состоянии фотосинтеза и заканчиваются во время подавления его. Средняя скорость фотосинтеза при этом меньше максимальной и определяется точкой В на временной кривой. Если временную кривую АВБ возможно приблизить к прямой АБ так, чтобы в экспозициях любой продолжительности площадь под прямой АБ равнялась площади под кривой АВБ, то получается линейная зависимость между количеством поглощенного  $^{14}\text{CO}_2$  и временем экспонирования. Чтобы показать правильность такого приближения, был проведен кинетический опыт по вышеизложенной методике (рис. 14). Получена линейная зависимость между поглощением  $\text{CO}_2$  и продолжительностью экспозиции в среде с  $^{14}\text{CO}_2$ . Максимальное отклонение отдельных точек от прямой не превышает 6%, что можно считать удовлетворительным для последующего анализа продуктов ассимиляции  $\text{CO}_2$ .

Приведенные данные показывают, что в ряде опытов по изучению фотосинтетической ассимиляции  $\text{CO}_2$  диски из листьев могут быть использованы так же успешно, как целые листья или суспензии водорослей. По сравнению с растущими листьями работа с дисками имеет некоторые преимущества. Использование дисков позволяет значительно упростить аппаратуру для точных кратковременных опытов в атмосфере с  $^{14}\text{CO}_2$ .

Кроме того, более быстрое установление стационарного состояния фотосинтеза дисков по сравнению с интактными листьями позволяет повысить число повторностей и этим уменьшить биологическую ошибку опытов.

Авторы выражают благодарность доктору биологических наук Н. П. Воскресенской за ценные замечания при обсуждении результатов данного исследования.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Авакимова Л. Г., 1966. Временной ход некоторых физиологических процессов листа в связи с эффектом отрезания и обезвоживанием. Автореф. дисс. канд. биол. н. М.
- Беликов П. С., Авакимова Л. Г., 1965. Фотосинтез, содержание воды и движение устьиц у срезанных листьев фасоли. Изв. Тимирязевск. с.-х. акад. (1) : 48—58.
- Гольд В. М., 1969. Некоторые эколого-физиологические особенности характера спектра действия фотосинтеза при световом насыщении. Физиол. растений **16** (4) : 594—602.
- Данилова Н. С., 1963. Определение нитратов в растительном материале. Физиол. растений **10** (4) : 497—498.
- Мокроносов А. Т., 1965. Общие пути углеродного питания растений. В сб.: Биохимия и биофизика фотосинтеза. М. : 290—304.
- Оя В., 1969. Аппаратура для исследования диффузионных сопротивлений амфистоматических листьев. В сб.: Вопросы эффективности фотосинтеза. Тарту : 143—163.
- Пумпянская С. Л., 1962. Изучение устьичных движений с помощью микрофото съемки. Сб. трудов по агрономической физике (9) : 64—69.
- Пярник Т., Кээрберг О., 1966. Усовершенствованная камера для кратковременных экспозиций листьев в атмосфере радиоактивного газа. Изв. АН ЭССР. Биол. **15** (1) : 32—37.
- Пярник Т. Р., Кээрберг О. Ф., 1969. Многоканальная экспозиционная камера для исследования фотосинтеза в дисках листьев. Физиол. растений **16** (6) : 1114—1119.
- Слободская Г. А., 1968. Особенности ассимиляции нитратов фотосинтезирующими листьями. Физиол. растений **15** (3) : 511—520.
- Baroš J., Kubin S., Seilik I., 1960. Dry weight increase of leaf disks as a measure of photosynthesis. Biol. Plant. **2** (3) : 201—215.
- Brun W. A., 1961. Photosynthesis and transpiration of banana leaves as affected by severing the vascular system. Plant Physiol. **36** (5) : 577—580.
- Brun W. A., 1965. Rapid changes in transpiration in banana leaves. Plant Physiol. **40** (5) : 797—802.
- Hoffmann P., Tichá I., 1969. Der Gaswechsel von *Phaseolus vulgaris*- und *Pisum sativum*-Keimpflanzen nach der Entfernung des Wurzelsystems. Photosynthetica **3** (1) : 73—78.
- Howe G. F., 1962. Time course of the photosynthetic induction periods in certain higher plants as related to changes in degree of stomatal opening. Ohio J. Sci. **62** (6) : 301—307.
- Larcher W., 1963. Die Eignung abgeschnittener Zweige und Blätter zur Bestimmung des Assimilationsvermögens. Planta **60** (1) : 1—18.
- Meidner H., Mansfield T. A., 1968. Physiology of stomata. McGraw-Hill, London.
- Mousseau M., 1968. Action comparée de la lumière sur l'intensité photosynthétique de feuilles entières coupées ou sur pied, selon les conditions d'éclaircissement pendant la croissance. C. R. Acad. Sc. Paris D **266** (13) : 1391—1393.
- Pritchard G. G., Whittingham C. P., Griffin W. J., 1961. Effect of isonicotinyl hydrazide on the path of carbon in photosynthesis. Nature **190** (4775) : 553—554.
- Turner W. B., Bidwell R. G. S., 1965. Rates of photosynthesis in attached and detached bean leaves, and the effect of spraying with indoleacetic acid solution. Plant Physiol. **40** (3) : 446—451.
- Willis A. J., Yemm E. W., Balasubramaniam S., 1963. Transpiration phenomena in detached leaves. Nature **199** (4890) : 265—266.

TIIT PÄRNIK, JUTA VIIL, EDA VÄRK, OLAV KEERBERG, HILLE KEERBERG

LEHEKETASTE KASUTAMISEST FOTOSÜNTEESI GAASIVAHETUSE  
UURIMISEL

## Resüme

Uuriti mitmesuguste faktorite toimet turgioa (*Phaseolus vulgaris*, sort 'Või varajane') leheketaste fotosünteesi ajalisele kulule pärast ketaste väljalõikamist. Leiti, et selle kulu võib tinglikult jaotada kolme ossa, milleks oleksid fotosünteesi üleminekuperiood, statsionaarne seisund ja pärssimine.

Kui fotosünteesi limiteeris peamiselt CO<sub>2</sub> difusioon (madalad CO<sub>2</sub> kontsentratsioonid ja suured valguse intensiivsused), kestis üleminekuperiood kauem kui CO<sub>2</sub> kõrge kontsentratsiooni ja valguse nõrga intensiivsuse puhul. Punases ja sinises valguses oli üleminekuperioodi pikkus ühesugune. CO<sub>2</sub> madalal kontsentratsioonil ei sõltunud üleminekuperioodi kestus ka O<sub>2</sub>-sisaldusest keskkonnas. Ohuniiskuse suurendamine ja temperatuuri langus pikendasid üleminekuperioodi ja statsionaarset seisundit.

Taimede eelnev hoidmine vees (20 tundi) vähendas leheketaste fotosünteesi kiirust üleminekuperioodil ja statsionaarses seisundis ning aeglustas statsionaarse seisundi saabumist. Nitraatidesisalduse suurendamine lehes taimede hoidmisel Knopi lahuses, mille NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-ioonisisaldus oli kahekordne, vähendas fotosünteesi kiirust üleminekuperioodil, kuid ei muutnud statsionaarse fotosünteesi kiirust. Isonikotiinhappehüdrasiidi sisestamine ei muutnud leheketaste statsionaarse seisundi pikkust.

Saadud andmete põhjal antakse hinnang leheketaste kasutamise võimalusele CO<sub>2</sub> assimilatsiooni statsionaarsete protsesside uurimisel.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia  
Eksperimentaalbioloogia Instituut

Toimetusse saabunud  
1. IV 1970

TIIT PÄRNIK, JUTA VIIL, EDA VÄRK, OLAV KEERBERG, HILLE KEERBERG

ON THE APPLICATION OF LEAF DISCS FOR STUDYING GAS EXCHANGE  
OF PHOTOSYNTHESIS

## Summary

The influence of a variety of factors on the time course of photosynthesis in leaf discs of *Phaseolus vulgaris* was studied after cutting them out of the leaf. The time course could be divided into three parts: the transition period, steady state, and suppression of photosynthesis.

Under conditions where photosynthesis was limited by diffusion processes, e.g. low CO<sub>2</sub> concentration and strong illumination, the transition period was longer than at high CO<sub>2</sub> concentrations and low light intensities. The duration of this period was equal under blue and red light. At low CO<sub>2</sub> concentration, the time required for achieving the steady state did not depend on the partial pressure of O<sub>2</sub> in the atmosphere. Increasing the humidity of the air and lowering the temperature caused the extension of both the transition period and steady state.

Placing the plants with their roots into water for 20 hours before the estimation of their photosynthesis extended the transition period and reduced the rate of CO<sub>2</sub> assimilation in steady state. The increased content of nitrates in the leaf, resulting from keeping the roots of plants in the Knop solution with a double dose of nitrate ions, decreased the rate of the CO<sub>2</sub> assimilation during the transition period but did not change the steady state photosynthesis. Infiltration of isonicotinic hydrazide did not alter the length of the steady state.

On the basis of the results obtained, the applicability of leaf discs for studying the steady state processes of CO<sub>2</sub> assimilation is discussed.

Academy of Sciences of the Estonian SSR,  
Institute of Experimental Biology

Received  
Apr. 1, 1970