

Т. ПЯРНИК, Э. ВЯРК, О. КЕЭРБЕРГ, Х. КЕЭРБЕРГ

О ФОРМЕ СВЕТОВОЙ КРИВОЙ ПОГЛОЩЕНИЯ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА ЛИСТЬЯМИ ФАСОЛИ

Зависимость скорости фотосинтетической ассимиляции CO_2 от интенсивности падающего света изображается так наз. световой кривой фотосинтеза. Эта кривая, как показано для различных фотосинтезирующих организмов, при низких интенсивностях света имеет линейный участок с определенным наклоном. По мере достижения насыщающих интенсивностей света кривая постепенно переходит на плато, т. е. на прямую, параллельную оси абсцисс. Параметры световой кривой определяются различными внутренними и внешними факторами (Рабинович, 1953). К внутренним факторам, определяющим характер световой кривой, можно отнести возраст организма, его адаптацию к условиям освещения, концентрацию пигментов, скорость темновых реакций фотосинтеза и др. Основные внешние факторы — концентрация углекислоты, температура и влажность. Таким образом, изменяя условия эксперимента и объект исследования, можно получить световые кривые, различающиеся между собой по наклону линейного участка, характеру перехода на плато и высоте плато.

Очевидно, что при снятии световых кривых фотосинтеза возможности для варьирования условий эксперимента гораздо шире у одноклеточных водорослей, чем у высших растений. Например, при работе с водорослями можно выбрать желаемую оптическую плотность суспензии и тем самым изменить начало плато световой кривой фотосинтеза. При работе с высшими растениями такая возможность отсутствует. Кроме того, большинство высших растений более светолюбивы, чем одноклеточные водоросли. Поэтому во многих случаях световое насыщение фотосинтеза светолюбивых растений не достигнуто (Рабинович, 1953) из-за недостаточной мощности применяемых источников света. Однако, как выясняется из наших опытов с фасолью, адаптированной к низкой интенсивности света, в некоторых случаях насыщение фотосинтеза не достигается даже при мощных световых потоках. При этом форма световой кривой изменяется. Оказалось, что при низких концентрациях CO_2 и постоянной температуре среды световая кривая приближается не к плато, а к прямой, наклон которой отличается от нуля. Данные, представленные в настоящей работе, показывают, что такое линейное повышение скорости ассимиляции CO_2 продолжается вплоть до интенсивностей, десятикратно превышающих интенсивности света при выращивании растений.

Материалы и методика

Растения фасоли (*Phaseolus vulgaris*) выращивали на почве, богатой элементами минерального питания, под решеткой из 20 люминесцентных ламп типа БС-30 и ДЦ-30, поочередно размещенных в рамке площадью 1 м². При этом интенсивность фотосинтетически активной радиации (ФАР) на уровне листьев достигала $0,6 \cdot 10^{-2} \dots 0,7 \cdot 10^{-2}$ Вт/см². Продолжительность суточного освещения была 16 ч (от 6 до 22 ч).

В опытах использовали первые после семядолей листья 14-дневных растений. Для определения скорости поглощения углекислого газа в зависимости от интенсивности света диски диаметром 24 мм, вырезанные из этих листьев, экспонировали в камере с ¹⁴CO₂. Конструкция экспозиционной камеры описана нами ранее (Пярник, Кеэрберг, 1966).

В ходе экспозиции придерживались следующего временного графика: отрезание листа, получение диска, его взвешивание и закрепление в держателе — 3 мин; предварительное освещение диска вне камеры для установления стационарного состояния фотосинтеза — 5 мин; экспонирование диска в камере с ¹⁴CO₂ — 1...3 мин; фиксация диска в кипящем 80%-ном этаноле — 2 мин. Предварительные опыты с разными интенсивностями света показали, что при соблюдении такого временного графика скорость поглощения ¹⁴CO₂ диском листа фасоли оставалась постоянной по крайней мере в течение 10—15 мин после установления стационарного состояния фотосинтеза.

В одном варианте опыта по интенсивности света экспонировали 5—8 дисков, вырезанных из листьев разных растений. При этом диски одного варианта не экспонировались подряд, а чередовались с дисками других вариантов так, чтобы ни один вариант не был предпочтен в отношении временного фактора.

Количество поглощенного дисками ¹⁴CO₂ рассчитывали, суммируя радиоактивности фиксирующей жидкости (80% этанол) и оставшегося твердого остатка. Полученные значения радиоактивности (в имп/мин) пропорциональны скорости ассимиляции дисками углекислого газа.

Концентрация углекислого газа в экспозиционной камере составляла 0,03...0,04% и поддерживалась практически постоянной в течение отдельного опыта. Температура в камере была близка к комнатной и постоянной с точностью 0,5°C. Колебания температуры в этих пределах были случайные, не связанные с изменениями интенсивности света.

Источником света при экспозиции служила прожекторная лампа 500 Вт с оптической системой, которая в отличие от описанной ранее (Пярник, Кеэрберг, 1966) позволяла получить рассеянный под малым углом световой пучок. Интенсивность света варьировали путем изменения расстояния от источника света до листа в камере. Такая система освещения дала возможность отказаться от применения нейтральных фильтров (кроме одного опыта) и, следовательно, более строго обеспечить постоянство спектрального состава при разных интенсивностях света.

Спектральный состав света изменяли при помощи жидких светофильтров. Используя в виде жидкого фильтра 5-сантиметровый слой 1%-ного раствора медного купороса в дистиллированной воде, мы получили почти чистую ФАР (400...700 нм) с максимумом излучения при 570 нм (рис. 1, а). Если разделить ФАР условно на синюю (400...580 нм) и красную (580...700 нм) области, то энергия излучения распределяется следующим образом: в синей области — 66, в красной — 34%. Свет от прожекторной лампы, проходящий через 5-сантиметровый слой чистой дистиллированной воды, содержит 35% ФАР и 65% дальней красной и инфракрасной радиации (рис. 1, б). При этом спектральный состав ФАР значительно отличается от спектрального состава света, проходящего через раствор медного купороса (рис. 1, а). В данном случае ФАР содержит относительно больше красных лучей, энергия которых составляет 60% от всей энергии излучения в области 400...700 нм.

Для определения количества поглощенной листом энергии рассчитывали спектральный коэффициент поглощения (А). С этой целью на спектрофотометре СФ-10

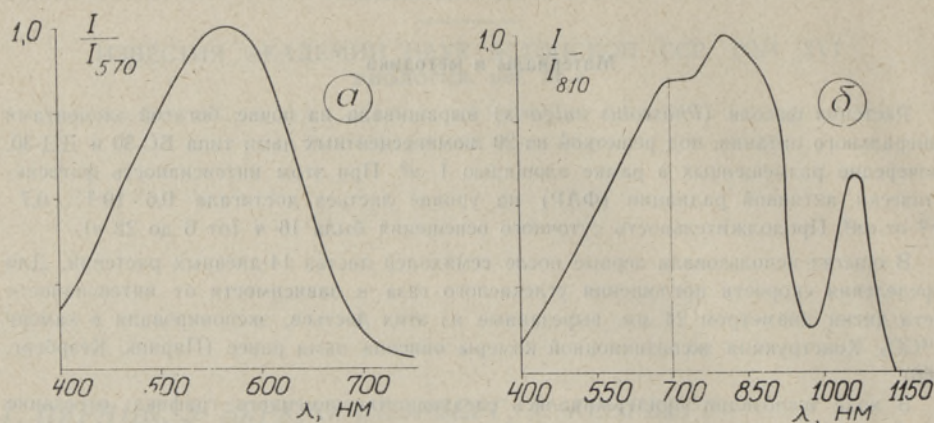


Рис. 1. Распределение энергии в спектре излучения лампы накаливания за жидкими светофильтрами: *а* — за 5-сантиметровым слоем 1%-ного раствора $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ в дистиллированной воде; *б* — за 5-сантиметровым слоем дистиллированной воды.

измеряли коэффициенты отражения (R) и пропускания (T) листа в диапазоне 400...750 нм. Коэффициент поглощения вычисляли по формуле $A=1-(T+R)$. К сожалению, на спектрофотометре СФ-10 нельзя провести измерения при длинах волн выше 750 нм. Однако, как показали В. Рвачев и др. (1965), у растений разных видов коэффициент поглощения листа в области 740...1000 нм остается постоянным. Исходя из этого, мы рассчитывали количество поглощенной энергии в данной области на основе коэффициента поглощения, полученного при 750 нм (3% у листьев фасоли).

В отдельных опытах измеряли температуру внешней поверхности неосвещенной стороны листа в зависимости от интенсивности света. Измерения проводились вне камеры полупроводниковым микротермометром конструкции Карманова.

Результаты и обсуждение

Типичная световая кривая ассимиляции $^{14}\text{CO}_2$, полученная при освещении дисков светом, спектральный состав которого соответствует рис. 1, *а*, изображена на рис. 2. При низких интенсивностях света между

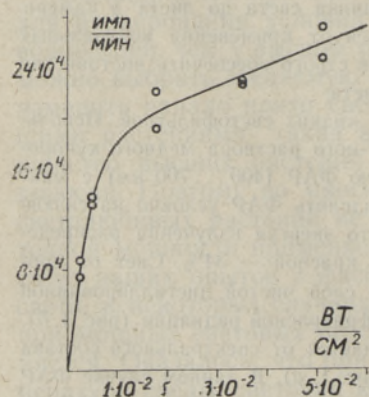


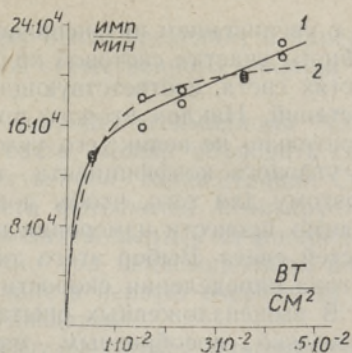
Рис. 2. Световая кривая скорости поглощения $^{14}\text{CO}_2$ дисками из листьев фасоли.

Условия эксперимента: жидкий светофильтр — раствор CuSO_4 ; концентрация углекислоты — 0,03%; температура — 24,9° С; продолжительность экспозиции — 1 мин; при каждой интенсивности света экспонировалось 5 дисков.

скоростью ассимиляции $^{14}\text{CO}_2$ и интенсивностью света наблюдается линейная зависимость. С повышением интенсивности света уменьшается наклон кривой, которая, однако, не переходит на плато, а имеет четко выраженный подъем в области высоких интенсивностей. Для более детального изучения этого явления нами

было проведено несколько серий опытов, где рассматривался ход световой кривой при высоких интенсивностях света. Результаты одной из этих серий представлены на рис. 3. Экспериментальные значения скорости асси-

Рис. 3. Световая кривая скорости поглощения $^{14}\text{CO}_2$ дисками из листьев фасоли: 1 — полученная приближением экспериментальных точек в области высоких интенсивностей света ($1,5 \cdot 10^{-2} \dots 4,3 \cdot 10^{-2}$ вт/см^2) прямой линией; 2 — полученная приближением экспериментальных точек дробно-линейной функцией. Условия эксперимента те же, что на рис. 2, но температура — $24,0^\circ \text{C}$.



милляции $^{14}\text{CO}_2$, изображенные на графике при интенсивностях света свыше $1,5 \cdot 10^{-2}$ вт/см^2 , можно в данном случае достаточно точно описать прямой линией (рис. 3, 1). Формула этой прямой, рассчитанная методом наименьших квадратов, имеет вид:

$$\Phi = 18 \cdot 10^5 I + 1,42 \cdot 10^5,$$

где Φ — скорость ассимиляции $^{14}\text{CO}_2$ в относительных единицах (имп/мин) и I — интенсивность радиации в вт/см^2 .

Статистический анализ показывает, что наклон этой прямой существенно (с вероятностью 99,9%) отличается от нуля.

Для эмпирического описания световых кривых часто (см. Росс, 1965) пользуются дробно-линейной функцией:

$$\Phi = \frac{aI}{1 + bI}.$$

В рассматриваемом опыте после определения постоянных a и b получается на первый взгляд довольно хорошее приближение в виде кривой (рис. 3, 2):

$$\Phi = \frac{5,84 \cdot 10^7 I}{1 + 258 I},$$

которая при увеличении интенсивности света приближается к постоянной скорости ассимиляции $^{14}\text{CO}_2$ — $\Phi = 22,6 \cdot 10^4$ имп/мин. Однако в данном случае такое приближение все же не приемлемо, так как опыты, проведенные при еще более высоких интенсивностях света, показывают, что линейное повышение скорости ассимиляции $^{14}\text{CO}_2$ продолжается до интенсивностей $8 \cdot 10^{-2}$ вт/см^2 (рис. 4). Эта интенсивность превышает более чем в 10 раз интенсивности света при выращивании растений.

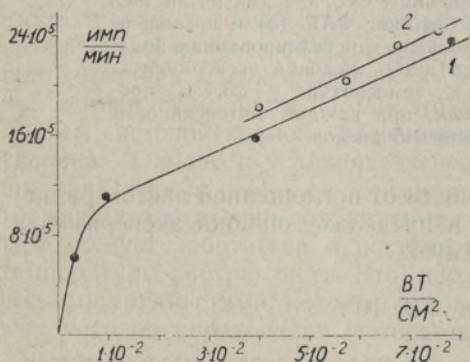


Рис. 4. Световые кривые скорости поглощения $^{14}\text{CO}_2$ дисками из листьев фасоли.

Условия эксперимента при снятии световой кривой 1: жидкий светофильтр — раствор CuSO_4 ; концентрация углекислоты — 0,034%; температура — $23,6^\circ \text{C}$; продолжительность экспозиции — 3 мин; при каждой интенсивности экспонировалось 8 дисков; при снятии кривой 2: жидкий светофильтр — раствор CuSO_4 ; концентрация углекислоты — 0,026%; температура — $22,1^\circ \text{C}$; продолжительность экспозиции — 1 мин; при каждой интенсивности света экспонировалось 5 дисков. Интенсивность света в данных опытах изменяли при помощи нейтральных фильтров серии НС.

На основе вышесказанного можно заключить, что в области интенсивностей фотосинтетически активной радиации от $1,5 \cdot 10^{-2}$ до $8 \cdot 10^{-2}$ вт/см^2 скорость ассимиляции $^{14}\text{CO}_2$ не остается постоянной, а повышается линейно.

но с увеличением интенсивности радиации. Переход от первого прямолинейного участка световой кривой ко второму наблюдается при интенсивностях света, соответствующих интенсивностям света при выращивании растений. Наклон второго прямолинейного участка световой кривой относительно не велик: его угловой коэффициент составляет лишь 5...8% от углового коэффициента первоначального прямолинейного участка. Поэтому для того, чтобы доказать существование этого наклона, необходимо провести измерения в достаточно широком диапазоне интенсивностей света. Выбор этого диапазона зависит от точности применяемого метода определения скорости поглощения $^{14}\text{CO}_2$.

В вышеизложенных опытах для освещения листьев применяли свет с несколько своеобразным спектральным составом, что характеризуется положением максимума излучения в зеленой области и почти полным отсутствием инфракрасной радиации. В связи с этим оказалось целесообразным проверить, имеет ли описанное выше явление место и при освещении листьев светом иного спектрального состава. С этой целью мы поставили опыт, в котором параллельно определяли скорости ассимиляции $^{14}\text{CO}_2$ на свету, проходящем через фильтр с раствором CuSO_4 (рис. 1, а), и на свету, проходящем через фильтр с дистиллированной водой (рис. 1, б). Система освещения из лампы накаливания и водяного экрана широко используется при изучении фотосинтеза в лабораторных условиях. Как видно из рис. 5, а, существенное повышение скорости ассимиляции $^{14}\text{CO}_2$ имеет место и на свету, проходящем через водяной фильтр. В этом варианте освещения скорость ассимиляции $^{14}\text{CO}_2$ даже несколько выше, чем в случае применения светофильтра с раствором CuSO_4 (при равных интенсивностях падающей на лист ФАР). Однако

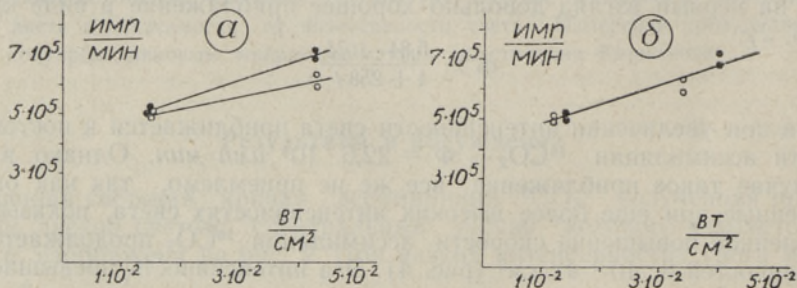


Рис. 5. Зависимость скорости поглощения $^{14}\text{CO}_2$ дисками из листьев фасоли от интенсивности падающей на лист ФАР (а) и поглощенной радиации (б): ● — жидкий светофильтр — дистиллированная вода; ○ — жидкий светофильтр — раствор CuSO_4 . Условия эксперимента: концентрация углекислоты — 0,035%, температура — 25,4°С; продолжительность экспозиции — 1 мин; при каждой интенсивности света экспонировалось 5 дисков.

если эти данные представить в зависимости от поглощенной листом радиации (рис. 5, б), то оказывается, что в пределах ошибки эксперимента через точки можно провести одну прямую:

$$\Phi = 66 \cdot 10^5 I + 4,2 \cdot 10^5.$$

Такая возможность показывает, что наблюдаемое при высоких интенсивностях света линейное повышение скорости ассимиляции $^{14}\text{CO}_2$ связано прежде всего с увеличением поглощенной листом энергии. Из этого вытекает, что при равных количествах поглощенной энергии изменения в

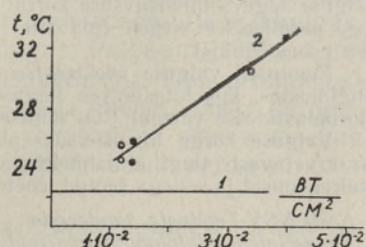
спектральном составе ФАР (в рассмотренных выше пределах) и присутствие инфракрасной радиации не оказывают существенного влияния на поглощение $^{14}\text{CO}_2$.

По нашему мнению, линейное повышение скорости ассимиляции $^{14}\text{CO}_2$, наблюдаемое при высоких интенсивностях света, можно объяснить следующим образом. Как известно, при естественной концентрации CO_2 (около 0,03%) и высокой интенсивности света фотосинтез лимитируется в основном диффузией углекислого газа из внешней среды в хлоропласты. Так как наши опыты были проведены именно при ненасыщающих концентрациях CO_2 , то следует обратить внимание в первую очередь на те факторы, которые могут влиять на скорость диффузии.

Некоторые авторы считают, что на диффузию может благоприятно действовать свет, который уменьшает как устьичное (Gaastra, 1962), так и мезофильное сопротивление (Bierhuizen, Slatyer, 1964). Н. А. Уолкер (Walker, 1962 — цит. по Bierhuizen, Slatyer, 1964) установил, что в присутствии ионов кальция и бикарбоната пропускная способность мембран клеток *Chara* повышается при увеличении интенсивности света. Спектр действия этого явления сходен со спектром действия фотосинтеза.

Другой фактор, влияющий на скорость диффузии, — температура. В связи с этим нами была измерена температура внешней поверхности листа в зависимости от поглощенной радиации (рис. 6). Оказалось, что она повышается линейно с увеличением поглощенной радиации. Это в свою очередь может привести к ускорению диффузии CO_2 из внешней среды в хлоропласты. Результаты, полученные П. Куипером (Kuiper, 1965), показывают, что проницаемость клеточных мембран зависит от температуры, которая оказывает существенное влияние на скорость ассимиляции CO_2 в условиях, где фотосинтез лимитируется диффузией углекислого газа в хлоропласты.

Рис. 6. Температура внешней поверхности неосвещенной стороны листа в зависимости от поглощенной радиации: ••• жидкий светофильтр — дистиллированная вода; ○—○ жидкий светофильтр — раствор CuSO_4 ; 1 — комнатная температура; 2 — температура листа.



На основе вышесказанного можно предположить, что наблюдаемое нами линейное повышение скорости ассимиляции $^{14}\text{CO}_2$ при высоких интенсивностях света обусловлено ускорением диффузии углекислого газа под действием двух факторов — интенсивности света и зависящей от нее температуры листа. Если это так, то вполне возможно, что такой подъем световой кривой ассимиляции CO_2 имеет место и в природных условиях. Однако в условиях эксперимента, цель которого — установление зависимости скорости ассимиляции CO_2 только от интенсивности света, явно недостаточно сохранить постоянной температуру среды, а вместо того следует заботиться о постоянстве температуры листа и градиента температуры внутри листа. Это, несомненно, связано с серьезными техническими трудностями, которые необходимо преодолеть при разработке новых методов определения фотосинтеза высших растений.

*

Авторы выражают благодарность доктору биологических наук Н. П. Воскресенской за ценные замечания в ходе подготовки настоящей статьи.

ЛИТЕРАТУРА

- Пярник Т., Кээрберг О., 1966. Усовершенствованная камера для кратковременных экспозиций листьев в атмосфере радиоактивного углекислого газа. Изв. АН ЭССР, Сер. биол. 15 (1) : 32—37.
- Рабинович Е., 1953. Фотосинтез 2. М., ИЛ.
- Рвачев В. П., Гуминевский С. Г., Сахновский М. Ю., 1965. Оптические параметры листьев растений в спектральном интервале 235—1000 мкм. Биофизика 10 (4) : 658—664.
- Росс Ю. К., 1965. Некоторые вопросы математической теории фотосинтеза растительного покрова. В сб.: Вопросы радиационного режима растительного покрова : 5—25. Тарту. (АН ЭССР, Ин-т физ. и астрон.).
- Bierhuizen J. F., Slatyer R. O., 1964. Photosynthesis of cotton leaves under a range of environmental conditions in relation to internal and external diffusive resistances. Austral. J. Biol. Sci. 17 (2) : 348—359.
- Gaastera P., 1962. Photosynthesis of leaves and field crop. Netherl. J. Agric. Sci. 10 (5) : 311—324.
- Kuiper P. J. C., 1965. Temperature dependence of photosynthesis of bean plants as affected by decenylsuccinic acid. Plant Physiol. 40 (5) : 915—918.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
30/I 1967

T. PÄRNIK, E. VÄRK, O. KEERBERG, H. KEERBERG

TÜRGIOA LEHTEDES SÜSIHAPPEGAASI NEELDUMISE VALGUSKÖVERATE KUJUST

Resümee

Radioisotoopse meetodi abil uuriti turgioa (*Phaseolus vulgaris*) leheketastes süsihappegaasi assimilatsioonil valgusköverate kuju.

Süsihappegaasi madalatel kontsentratsioonidel ning konstantsetes väliskeskonnatingimustes tehtud katsetes ei täheldatud CO₂ assimilatsioonil küllastumist fotosünteesiliselt aktiivse radiatsiooni kõrge intensiivsuse (kuni $8 \cdot 10^{-2}$ W/cm²) puhul. Tehti kindlaks, et valguse tugeva intensiivsuse korral CO₂ assimilatsioonil valgusköver ei lähene abstsissiteljega paralleelsele sirgele (platoole), vaid läheneb asümptootiliselt sirgele, mille tõus oluliselt erineb nullist.

Muutused valguse spektraalses koostises ei avalda CO₂ assimilatsioonile mõju neis tingimustes, kus fotosüntees limiteeritakse süsihappegaasi difusiooniga väliskeskonnast kloroplastidesse (madal CO₂ kontsentratsioon ja kõrge valguse intensiivsus).

Valguse kõrge intensiivsuse puhul jälgitud CO₂ assimilatsiooni valguskövera tõus on arvatavasti tingitud taimelhe difusioonitakistuse vähenemisest valguse intensiivsuse suurenemisel ja sellega seotud lehetemperatuuri tõusul.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Eksperimentaallöoloogia Instituut

Saabus toimetusse
30. I 1967

T. PÄRNIK, E. VÄRK, O. KEERBERG, H. KEERBERG

ON THE SHAPE OF THE LIGHT CURVES OF CARBON DIOXIDE UPTAKE BY BEAN LEAVES

Summary

The shape of the light curves of CO₂ assimilation by disks of bean leaves (*Phaseolus vulgaris*) was studied, using the radioisotopic method.

At low CO₂ concentrations and constant experimental conditions no light saturation of the process was established up to $8 \cdot 10^{-2}$ W/cm². After the initial linear part at lower light intensities, the CO₂ assimilation curve had another part at high light intensities, which tended asymptotically towards a straight line with tg α less than that of the initial part.

Changes in the spectral composition of photosynthetically active radiation and addition of infrared light to it had no effect upon the CO₂ assimilation when photosynthesis was limited by diffusion of CO₂ into chloroplasts (at low CO₂ concentrations and high light intensities).

The suggestion was made that the rise of the assimilation curve at high light intensities was due to a decrease of the CO₂ diffusion resistance in the leaf, caused by the increase of the light intensity and the consequent rise of the leaf temperature.

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

Received
Jan. 30, 1967