

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Ф. З. БОРОДУЛИНА и Л. Г. КОЛОБАЕВА

**УЧЕТ ФОТОСИНТЕЗА ПО НАКОПЛЕНИЮ УГЛЕРОДА
В ЛИСТЬЯХ**

(Представлено академиком А. И. Опариным 13 IV 1953)

Изучение фотосинтеза в полевых условиях требует простой методики определений, несложного, портативного оборудования. Наиболее простым, хотя и не вполне точным методом определения фотосинтеза следует признать метод «половинок», зачастую применяющийся в полевых опытах. При этом учитывается накапливающееся в листьях на свету сухое вещество. Однако работа по этому методу в обычной его модификации (¹, ²) создает ряд затруднений, как то:

а) длительные экспозиции (по 4—6 час.) листьев на свету, чтобы уловить изменения в сухом весе листьев, лишают возможности учесть изменения в ходе фотосинтеза в различные часы дня;

б) в полевых условиях, при отсутствии лаборатории, сушка проб, состоящих из большого числа листьев, трудно осуществима.

В 1951 г., изучая влияние агротехники на физиологические процессы у сеянцев дуба в условиях полевого опыта на участке трассы государственной лесной полосы Сталинград—Степной (³), мы определяли фотосинтез дубков по методу Л. А. Иванова и Н. А. Коссович (⁴) и по методу «половинок». При этом последний был нами несколько видоизменен. Накапливающееся в листьях на свету органическое вещество характеризовалось не прибавкой сухого вещества, а содержанием в листьях углерода, накопление которого происходит при фотосинтезе. Такое изменение в методике позволило нам работать с большим числом растений, повреждая при этом очень немного листьев. Определение углерода в листьях производилось по методике И. В. Тюрина (⁵), разработанной для определения органического углерода в почве. Этот метод определения углерода является приблизительным (он дает точные результаты лишь в случае, если в органическом веществе соотношение между водородом и кислородом равно соотношению этих элементов в воде); в органическом веществе почвы он позволяет учесть 93—97% углерода, определяемого методом сухого сжигания. На растительных объектах метод Тюрина был успешно применен Н. А. Лукашиком (⁶) при определении углерода в сухих растительных кормах.

Метод И. В. Тюрина заключается в учете кислорода, необходимого для окисления органического углерода до CO_2 . Окисление ведут 0,4 *N* раствором $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, приготовленным на разведенной серной кислоте (1:1). Количество неизрасходованного на окисление раствора $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ определяют обратным титрованием 0,2 *N* раствором соли Мора. По разности между количеством раствора соли Мора, пошедшим на титрование холостой пробы и на титрование остатка раствора $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, устанавливают, какое количество кислорода пошло на окисление углерода.

Техника определений. Определение углерода в листьях дуба производилось нами непосредственно в полевых условиях. В день опыта

с листьев дубков, выбранных заранее, через каждые 2,5—3 часа острым сверлом с диаметром 0,5 см высекались диски. Поверхность листьев предварительно обтиралась. С каждого варианта опыта бралось по 2—3 биологически повторных пробы.

Количество листьев в пробе должно быть таким, чтобы концентрация раствора бихромата (0,4 *N*) уменьшилась после окисления примерно вдвое. Специально проведенными опытами мы установили, что, работая с листьями дуба, достаточно на 10 мл бихромата брать около 2 см² листовой поверхности. Поэтому каждую повторную пробу составляли 10 дисков, взятых с листьев 10 дубков. Таким образом, одновременно изучалось накопление углерода в листьях 20—30 дубков с каждого варианта опыта.

По мере высекания диски листьев сразу же опускались в эрленмейеровские колбочки, куда предварительно было налито по 10 мл раствора бихромата и добавлено по 200 мг HgSO₄ (?). Анализ проб на содержание углерода производился в походном домике, защищающем от ветра и пыли. Колбочки с пробами накрывались воронками, служившими хо-

Таблица 1

Влияние поранения листьев на содержание в них углерода (в мг на 1 дм²)

№№ проб	Время от момента повреждения в час.	Содержание углерода		
		цельная половинка	поврежд. половинка	разница в %
1	2	362	359	-0,8
2	2	353	350	-0,8
3	4	368	368	0
4	4	338	338	0
5	4	344	347	+0,9
6	24	353	354	+0,3
7	24	336	336	0
8	24	351	348	-0,9

лодильниками, и нагревались до кипения на песчаной бане при 190° или непосредственно на небольшом пламени керосинки. Спокойное кипение продолжалось 5 мин. За это время органическое вещество сгорало, и раствор бихромата принимал буроватую окраску. Позеленение раствора указывает, что органического вещества было взято слишком много. После охлаждения содержимое колбочек смывалось водой в колбы большего объема, причем объем жидкости доводился до 200 мл. Добавив в колбы по 2—3 мл ортофосфорной кислоты и 10 капель раствора дифениламина, производили обратное титрование 0,2 *N* раствором соли Мора до перехода синей окраски в зеленую. В конце

титрования переход окраски происходит очень резко от прибавления одной капли раствора соли Мора. Параллельно с опытным производилось контрольное определение, в котором раствор бихромата также подвергался кипячению в течение 5 мин.

Содержание углерода в пробе рассчитывалось в мг на 1 дм² листовой поверхности по формуле:

$$\frac{(A - B) k \cdot 0,6 \cdot 100}{p}$$

где *A* — количество 0,2 *N* раствора соли Мора в мл, эквивалентное 10 мл 0,4 *N* раствора бихромата (контроль); *B* — количество 0,2 *N* раствора соли Мора, пошедшее на обратное титрование избытка K₂Cr₂O₇, в мл; *k* — поправка титра соли Мора; *p* — листовая поверхность в см²; 0,6 — мг углерода, соответствующее 1 мл 0,2 *N* раствора соли Мора.

Для изучения дневного хода накопления углерода в течение дня пробы брали с одних и тех же листьев. В связи с этим возник вопрос, не отразится ли поранение листьев при высекании дисков на последующем накоплении углерода. Для выяснения этого были поставлены следующие опыты. С левых половинок листьев дубков высекались диски, затем в этих листьях, в одних опытах через 2 часа, в других через 4 часа, а в

третьих через сутки, определялось содержание углерода. При этом сравнивалось содержание углерода в цельных и поврежденных половинках. Каждую пробу составляли высечки из 10 листьев. Результаты этих опытов приведены в табл. 1, из которой видно, что: а) расхождения в содержании углерода в сравниваемых половинках не превышают 0,9%; б) половинки листьев дуба симметричны по содержанию углерода, поэтому при отборе проб можно делать высечки из двух половинок листьев.

Как показали опыты (табл. 1 и 2), ошибка при взятии параллельных проб и определении углерода в листьях одной и той же биологической пробы колеблется в пределах 1% для листьев дуба и в пределах 2% для листьев примулы. Ошибка при отборе проб тем меньше, чем более однородна по толщине листовая пластинка.

Таблица 2

Сравнение параллельных определений углерода в листьях (в мг на 1 дм²)

Растение	№ опытов	Содержание углерода			
		отдельные определения	среднее	отклонение от средней	
				в мг	%
Дуб	1	282	284,0	2,0	0,70
		286			
	2	284	283,5	0,5	0,18
283					
3	3	280	283,0	3,0	1,06
		286			
Примула	4	145	143,5	1,5	1,05
		142			
5	5	143	142,0	1,0	0,7
		141			
6	6	139	142,0	3,0	2,1
		145			

Сопоставление содержания углерода в листьях примулы, определенного методом Тюрина и методом сухого сжигания (определение производилось Т. А. Зверевой в 1952 г.), показало, что при анализе углерода в листьях по Тюрину мы допускаем ошибку в 8—10% (табл. 3).

Таблица 3

Содержание углерода в мг на 1 дм² листовой поверхности, определенное сухим сжиганием и по Тюрину

Сухое сжигание	По Тюрину	Отклонение	
		в мг	в %
84,1	75,7	8,4	10,0
84,8	78,3	6,5	7,7
98,5	90,5	8,0	8,1

Умножив на коэффициент 1,1 данные, полученные методом Тюрина, можно иметь величины содержания углерода в листьях, близкие к истинным. Но в большинстве случаев опыты по определению фотосинтеза носят сравнительный характер; поэтому едва ли нужно пользоваться указанным пересчетом.

Примером того, как изменяется содержание углерода в листьях в течение дня, может служить опыт 18 июня 1951 г. (табл. 4).

Таблица 4
Содержание углерода в листьях дуба (в мг на 1 дм²)

Вариант опыта	Часы дня					
	6 ч. 30 м.	9 ч. 30 м.	12 ч. 30 м.	15 ч. 30 м.	18 ч. 30 м.	21 ч. 00 м.
Поливные:						
проба 1 . . .	261	273	285	288	315	294
" 2 . . .	252	267	288	282	316	291
Неполивные:						
проба 1 . . .	249	255	252	255	288	285
" 2 . . .	249	258	267	258	285	294

В полуденные часы имеет место спад ассимиляции, вследствие чего содержание углерода от 12 до 15 час. уменьшается или остается почти без изменений. Во второй половине дня фотосинтез снова увеличивается и содержание углерода в листьях к 18 час. возрастает. Аналогичные результаты мы получили при определении фотосинтеза по методу Л. А. Иванова и Н. А. Коссович.

Все вышеуказанное позволяет считать возможным определение фотосинтеза (в сравнительных опытах) по накоплению углерода в листьях, пользуясь методикой И. В. Тюрина.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

Поступило
29 XII 1950

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ С. П. Костычев, Физиология растений, 1, 1937. ² В. А. Бриллиант, Тр. Бот. ин-та им. В. Л. Комарова АН СССР, сер. 4, в. 7 (1950). ³ А. Ф. Вадюнина, Вестн. МГУ, № 8 (1952). ⁴ Л. А. Иванов, Н. А. Коссович, Бот. журн. СССР, 31, № 5 (1946). ⁵ И. В. Тюрин, Органическое вещество почв, 1937. ⁶ Н. А. Лукашик, Докл. Моск. с.-х. акад. им. К. А. Тимирязева, 10 (1949). ⁷ Е. В. Аринушкина, Валовой химический анализ почв и грунтов, М., 1949.