

АППАРАТУРА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЙ И МЕТОДЫ ИЗМЕРЕНИЙ

УДК 681.785 + 581.132

Б.Г. Агеев, Т.П. Астафурова, Ю.Н. Пономарев, В.А. Сапожникова, К.Л. Косицын

ПРИМЕНЕНИЕ ОПТИКО-АКУСТИЧЕСКОГО СПЕКТРОМЕТРА С CO₂-ЛАЗЕРОМ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ГАЗООБМЕНА РАСТЕНИЙ

Приводится описание модифицированного оптико-акустического спектрометра с CO₂-лазером. Установка может быть использована для исследования газообмена (особенно CO₂) при вариациях температуры и давления в реальном масштабе времени. Рассматриваются методика измерений и предварительные результаты исследований.

Анализ газообмена растений с окружающей средой позволяет получить важную информацию об изменениях скорости процессов онтогенеза, а также о реакции растений на воздействие окружающей среды [1]. Результаты изучения динамики газообмена могут быть использованы для оценок устойчивости данного вида растений к внешним стрессовым воздействиям: засухе, заморозкам, засоленности почвы [2], загрязнению атмосферы газами или аэрозолями промышленного происхождения [3]. Показано, что газоустойчивость растений находится в обратной зависимости от интенсивности газообмена и скорости поглощения вредных газов и в прямой – от уровня критической дозы токсикантов в листьях [4]. При изучении газообмена растений в основном используются серийные ИК-газоанализаторы с нелазерными источниками [2]. Как правило, эти анализаторы выпускаются для промышленных целей и позволяют вести измерения концентраций CO₂ и H₂O. Газометрические установки, созданные на их основе, не позволяют одновременно регистрировать выделение других физиологически активных газов. Известно, что кроме основных газообразных продуктов (CO₂, O₂, H₂O) растения в процессе жизнедеятельности способны выделять этилен (C₂H₄), участвующий в гормональном балансе, аммиак (NH₃), характеризующий белковый обмен, и ряд других летучих метаболитов, измерения которых проводятся, в основном, *in vitro*, биологическими или биохимическими методами [5].

В последнее время в зарубежной литературе появились единичные публикации по использованию метода оптико-акустической спектроскопии для изучения фотосинтеза [6] и регистрации выделяющегося из растений этилена [7]. Усовершенствование аппаратуры и методик исследования газообмена растений *in vivo*, расширение перечня одновременно регистрируемых компонентом газообменного цикла являются главными задачами в развитии этого направления.

В настоящей статье дано описание модифицированного оптико-акустического спектрометра с CO₂-лазером для измерения динамики таких компонентов газообменного цикла, как CO₂, C₂H₄, NH₃ и H₂O, в реальном масштабе времени при вариации температуры и давления и моделировании воздействия на растение различных загрязняющих газов. Рассмотрены методические вопросы измерений, и представлены результаты начального этапа исследований.

Экспериментальная установка

Установка собрана на базе лазерного оптико-акустического (ОА) спектрометра с перестраиваемым по частоте CO₂-лазером (рис. 1). Выбор источника излучения обусловлен тем, что некоторые продукты жизнедеятельности растений (CO₂, C₂H₄, NH₃) имеют сильные линии поглощения возле 10,6-мкм области генерации CO₂-лазеров. В работе использовался серийный CO₂-лазер ИЛГН-705. Для перестройки длины волны излучения выходное зеркало лазера заменялось комбинацией дифракционной решетки (100 штр/мм) и плоского 100%-го зеркала [8]. Зеркало юстировалось так, чтобы отраженное от него излучение первого порядка попало обратно на решетку и на заднее сферическое зеркало (со 100%-м отражением), наглухо приваренное к активному эле-

менту лазера. Выход излучения осуществлялся через нулевой порядок дифракции решетки. Длина волны излучения перестраивалась при повороте в горизонтальной плоскости плоского зеркала.

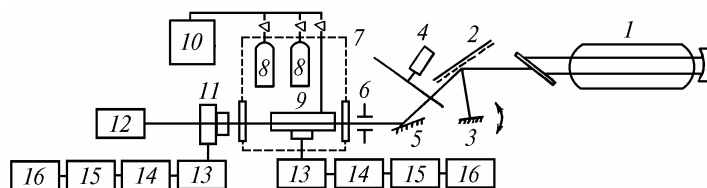


Рис. 1. Схема установки: 1 – газоразрядная трубка; 2 – дифракционная решетка; 3 – зеркало резонатора; 4 – модулятор; 5 – отводящее зеркало; 6 – диафрагма; 7 – термостат; 8 – экспозиционные камеры; 9 – опико-акустическая ячейка; 10 – вакуумный пост; 11 – измеритель мощности излучения; 12 – анализатор спектра излучения; 13 – предусилитель; 14 – селективный усилитель; 15 – преобразователь напряжения; 16 – самописец

Конструкция резонатора позволяла получать генерацию на линиях Р(10)–Р(32). Идентификация линий генерации лазера производилась панорамным анализатором спектра, шкала которого проградуирована в абсолютных значениях длин волн. Промодулированное по амплитуде излучение с помощью плоского зеркала через диафрагму ($\varnothing = 3$ мм) направлялось в опико-акустическую ячейку ($L = 100$ мм, $\varnothing = 10$ мм, окна из ВаF₂). Давление в ОА-ячейке измерялось плоским конденсаторным микрофоном собственного изготовления.

Электрический сигнал с микрофона через предусилитель подавался на вход системы регистрации (селективный микровольтметр, преобразователь напряжения, самописец), одновременно на вход преобразователя напряжений поступал опорный сигнал с модулятора. Аналогичный канал использовался для регистрации сигнала неселективного ОА-детектора, расположенного за измерительной ОА-ячейкой и служащего для измерения мощности прошедшего через нее излучения.

Контрольные и опытные группы растений помещались в экспозиционные камеры, соединенные с вакуумной системой и ОА-ячейкой.

Для исследования влияния температуры на процессы газообмена была разработана температурная камера, позволяющая размещать в ней комплект экспозиционных камер, ОА-ячейку, нагревательный элемент и термонару. Температурный режим камеры задавался прибором типа КСВУ-4, обеспечивающим контроль температуры в диапазоне 293–373 К с точностью $\pm 0,5^\circ$.

Методика и результаты измерений

В процессе эксперимента пробы газов из экспозиционных камер последовательно запускались в вакуумизированную измерительную ОА-ячейку. При поглощении излучения на заданной длине волны амплитуда электрического сигнала ОА-детектора U прямо пропорциональна коэффициенту поглощения K газовой смеси. При измерениях определялось отношение A , характеризующее поглощательную способность исследуемого газа:

$$A = U/W = \alpha K,$$

где W – мощность лазерного излучения; α – чувствительность ОА-детектора; α является функцией общего давления газа в ячейке P [9]. Для используемого ОА-детектора $\alpha = \alpha_{\max}$ при $P \approx 60$ Торр, поэтому все измерения проводились при этом давлении.

Для анализа динамики процессов дыхания и идентификации газов, участвующих в газообмене, мы наблюдали изменения A в зависимости от времени на двух длинах волн генерации СО₂-лазера: $\lambda_1 = 10,591$ (Р(20)) и $\lambda_2 = 10,532$ мкм (Р(14)). Выбор этих длин волн обусловлен тем, что основной вклад в поглощение на длине волны λ_1 дает углекислый газ, а на λ_2 – этилен [7]. Устранение СО₂ из анализируемых газовых проб осуществлялось химическим поглотителем СО₂ – аскаритом.

В качестве примера, характеризующего возможности использования данной установки для исследований газообмена растений, приводим результаты анализа состава воздуха экспозиционных камер. На рис. 2 представлены вариации величины A в зависимости от времени для растений гороха (*Pisum sativum* L) в естественных условиях аэрации (кривая 1) и при гипобарии (2).

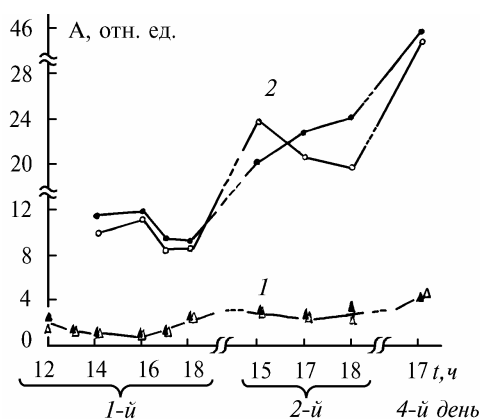


Рис. 2. Временная зависимость величины A для растений гороха: кривая 1: $P=760$ Торр, Δ – $P(20)$, \blacktriangle – $P(14)$; 2: $P=100$ Торр, \bullet – $P(20)$, \circ – $P(14)$

Для исключения фотосинтеза, в процессе которого может происходить частичное поглощение CO_2 , экспозиционные камеры помещались в светонепроницаемые чехлы. Измерения показали, что в условиях разреженной атмосферы величина поглощения существенно превышает контрольный вариант. Это свидетельствует о разной скорости выделения газообразных продуктов обмена с поверхности растений и об усилении выхода внутриклеточных газов в окружающую среду.

После пропускания газа через аскарит величина сигнала уменьшалась до фоновых значений, т.е. в основном поглощающим компонентом анализируемого газа можно считать углекислый газ. Отношение величин сигналов на двух длинах волн генерации сохранялось приблизительно одинаковым во всем временном диапазоне $A_{P(20)}:A_{P(14)} \approx 1,2$. Следовательно, в окружающую среду растения в темноте преимущественно выделяют CO_2 , экранируя низкие концентрации сопутствующих газов (или препятствуя их выделению в условиях анаэробной среды, возникшей в результате гипобарии [5, 10]). Обнаруженный эффект не является видоспецифичным и характерен для растений других систематических групп. На рис. 3 приведены результаты измерения газообмена проростков сосны (*Pinus sylvestris* L), подтверждающие высказанное предположение. Так же, как и для растений гороха, у хвойных наблюдается относительный рост поглощения излучения с увеличением продолжительности воздействия экспериментального фактора (гипобарии).

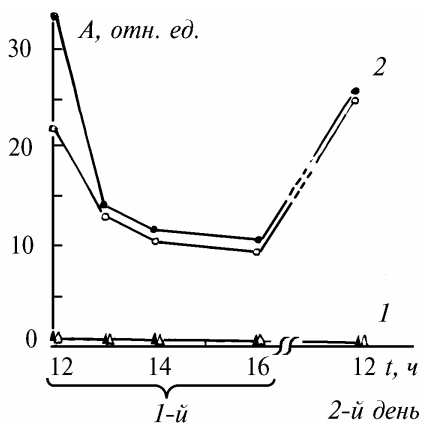


Рис. 3. Временная зависимость величины A для растений сосны: кривая 1: $P=760$ Торр, Δ – $P(20)$, \blacktriangle – $P(14)$; 2: $P=100$ Торр, \bullet – $P(20)$, \circ – $P(14)$

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о возможности разработанного спектрометра регистрировать изменения газообмена растений в зависимости от времени.

Дальнейшее усовершенствование аппаратуры, методики регистрации и обработки измерений позволит использовать этот подход для эколого-физиологических исследований.

Данная работа выполнена при частичной поддержке Специального фонда СО РАН для молодых ученых (проект А1.01).

1. Фотосинтез и биопродуктивность. (Методы определения) / Под ред. А.Т. Мокроносова, А.Т. Ковалева. М.: Агропромиздат, 1989. 460 с.
2. Инфракрасные газоанализаторы в изучении газообмена растений. / Под ред. А.А. Ничипоровича. М.: Наука, 1990. 140 с.
3. Молдау Х. // Физиология растений. 1993. Т. 40. № 4. С. 532–538.
4. Газоустойчивость растений / Под ред. В.С. Николаевского. Новосибирск: Наука, 1980. 239 с.
5. Полевой В.В. Фитогормоны. Л.: Изд. ЛГУ, 1982. 248 с.
6. N'Soukroe-Kossi C.N., Leblanc R.M. // J. Mol. Struct. 1990. V. 217. P. 69–84.
7. Harren F.J.M., Bijnen F.G.C., Reuss J. et al. // Appl. Phys. 1990. V. B50. N 2. P. 137–144.
8. Годлевский А.П., Копытин Ю.Д., Шарин П.П. // Труды VII Всесоюзн. симп. по молекулярной спектроскопии, ч. III, Томск: изд. Томского филиала СО АН СССР, 1986. С. 178–180.
9. Агеев Б.Г., Никифорова О.Ю., Сапожникова В.А. // Оптика атмосферы и океана. 1992. Т. 5. №9. С. 956–961.
10. Астафурова Т.П., Вайшля О.Б., Зайцева Т.А. и др. // Физиология растений. 1993. Т. 40. №4. С. 656–661.

Институт оптики атмосферы
СО РАН, Томск
НИИ биологии и биофизики при Томском госуниверситете,
Томск

Поступила в редакцию
30 декабря 1993 г.

V.G. Ageev, T.P. Astafurova, Yu.N. Ponomarev, V.A. Sapozhnikova, K.L. Kositsyn. Use of a CO₂ – Laser – Based Optoacoustic Spectrometer for Studying Gas Exchange of Vegetation.

In this paper we present a description of a modified optoacoustic CO₂ – laser – based spectrometer. This instrument can be used for studying gas exchange of vegetation (especially of CO₂) under varying temperature and pressure in a real time scale. We also discuss the measurement technique and some preliminary results of such investigations.