

8290

ОБЪЕДИНЕННЫЙ
ИНСТИТУТ
ЯДЕРНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ
ДУБНА



8290

Экз. чит. зала

P14 - 8290

В.Я.Выропаев, И.Ф.Харисов, О.Д.Маслов,
Е.Л.Журавлева, Л.П.Кулькина

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ
ЯДЕРНО-ФИЗИЧЕСКИХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА
В БИОЛОГИИ НА ПРИМЕРЕ ПРОБЛЕМЫ ВИЛТА

1974

ЛАБОРАТОРИЯ ЯДЕРНЫХ РЕАКЦИЙ

P14 - 8290

В.Я.Выропаев, И.Ф.Харисов, О.Д.Маслов,
Е.Л.Журавлева, Л.П.Кулькина

**ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ
ЯДЕРНО-ФИЗИЧЕСКИХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА
В БИОЛОГИИ НА ПРИМЕРЕ ПРОБЛЕМЫ ВИЛТА**

Направлено в АЭ

**Научно-техническая
библиотека
ОИЯИ**

Выропаев В.Я., Харисов И.Ф., Маслов О.Д.,
Журавлева Е.Л., Кулькина Л.П.

P14 - 8290

Перспективы использования ядерно-физических методов анализа в биологии на примере проблемы вилта

В работе представлен инструментальный нейтронно-активационный анализ на содержание микроэлементов в здоровых и пораженных вилтом растениях хлопчатника. Показано, что активационным методом можно производить одновременный многоэлементный анализ растений хлопчатника с высокой чувствительностью (вплоть до 10^{-8} г/г). Определено содержание 25 элементов в органах здоровых и пораженных вилтом растений, и для 17 из них отмечены некоторые аномалии в концентрации.

Препринт Объединенного института ядерных исследований.
Дубна, 1974

Vyropayev V.Ya., Kharisov I.F., Maslov O.D., P14 - 8290
Zhuravlyova E.L., Kul'kina L.P.

Prospects of Using the Nuclear-Physical Analysis Methods in Biology, Exemplified by the Wilt Problem

The results are presented of the non-destructive neutron-activation analysis made to establish the content of microelements in the healthy cotton plants and in those affected by the wilt disease. It is shown that the neutron-activation method can be used to carry simultaneous multi-element analysis of cotton with high sensitivity (up to 10^{-8} g/g). The contents of 25 elements have been determined, 17 of which displayed anomalies in their concentrations in the different parts of the healthy and wilt-affected cotton plants.

Preprint. Joint Institute for Nuclear Research.
Dubna, 1974

Исследование роли микроэлементов в различных биологических процессах, несомненно, представляет не только чисто научный интерес, но и имеет очень важное народнохозяйственное значение.

Известно, что такие элементы /макроэлементы/, как С, Н, О, N, S, P, K, Mg, Ca, Ba, Al, образуют жизненно необходимые составные части клеток растений, а микроэлементы Cu, Fe, Co, Mn, Zn, Mo, Se, Sb, J и десятки других играют важную роль в биологических процессах, происходящих в живой природе.

Согласно А.Н.Виноградову /1,2/ можно предположить наличие всех химических элементов в живом веществе и естественно ожидать, что они несут определенную биологическую нагрузку. Однако вопрос, какую именно биологическую нагрузку несет тот или иной микроэлемент, до сих пор остается открытым /3/.

По-видимому, одна из причин этого - отсутствие надежных методов анализа, которые при незначительных по весу пробах исследуемого объекта /порядка 0,1 - 0,01 г/, что характерно для биологии, позволяли бы производить анализ целого спектра элементов.

Как известно, в последнее время наблюдается широкое внедрение достижений ядерной физики в самые различные области науки и техники. К числу современных ядерно-физических методов исследования следует отнести радиоактивационный анализ. Радиоактивационный метод имеет целый ряд принципиально важных преимуществ перед другими методами анализа, такими, как масс-спектральный, химико-спектральный, полярографический, люминесцентный, калориметрический, спектральный, микробиологический и т.д. Прежде всего, он

обладает высокой чувствительностью, многоэлементностью анализа в одном измерении, селективностью, экспрессностью, достаточно высокой точностью и высокой производительностью. Кроме того, значительный прогресс, достигнутый в измерительной технике /производство Ge(Li) -детекторов с высокой разрешающей способностью и больших объемов/, и усовершенствование спектрометрической аппаратуры, автоматизация проведения анализа, расшифровка и обработка результатов с применением ЭВМ, несомненно, создают большие перспективы развития радиоактивационного анализа и его применений.

Однако этот метод, найдя широкое распространение в анализе полупроводниковых материалов, геологии, технологии чистых металлов и т.д., к сожалению, мало используется в сельском хозяйстве и агрохимии.

Нам кажется, что радиоактивационный анализ /в том числе метод автордиографии, метод меченых атомов и т.д./ уже сейчас способен оказать существенную помощь биологическим наукам при решении научных и практических задач, а именно, при анализе малых проб на содержание микроэлементов и разработке действенных рекомендаций для внедрения в народное хозяйство.

В связи с этим остановимся на очень важном конкретном примере - проблеме вилта хлопчатника. Вилт - это грибковое заболевание, которое приводит к увяданию /это заболевание характерно для многих сельскохозяйственных культур/ и гибели хлопчатника. В настоящее время причины этого явления до конца не выяснены, но имеются гипотезы, которые в общем можно свести к следующему: увядание хлопчатника происходит из-за нарушения водного питания под действием гриба-паразита /вследствие закупорки проводящих сосудов растения/, увядание и гибель растения объясняются воздействием ферментов гриба на растение, в результате которого образуются вещества, подобные токсинам и т.д.

Вилт наносит огромный экономический ущерб и является одним из основных факторов, тормозящих дальнейший подъем урожайности хлопчатника /потери достигают

в среднем 10-30 и более процентов во всех хлопководческих районах мира/.

Проблема борьбы с вилтом, проблема познания его механизма весьма актуальна, и, естественно, ведутся исследования по многим направлениям. Здесь мы не будем касаться биологической, физиологической, генетической, агрохимической и др. сторон данной проблемы, а также всех кардинальных исследований, ведущихся в этой области.

В настоящее время никем не оспаривается гипотеза, что, возможно, процесс заболевания хлопчатника вилтом связан с определенными аномалиями в содержании некоторых микроэлементов в почвах и растениях, что влияет как на вилтоустойчивость хлопчатника, так и на жизнедеятельность грибов-паразитов.

В связи с этим в данной работе, используя метод нейтронной активации, мы исследовали здоровые и пораженные вилтом растения хлопчатника на содержание различных микроэлементов. Основная цель этих исследований заключалась в том, чтобы определить количественное содержание микроэлементов в различных органах растений как здорового, так и пораженного вилтом хлопчатника и на основе экспериментальных данных попытаться установить какие-либо закономерности в поведении относительного содержания этих элементов.

Пробы хлопчатника отбирались из растений, выращенных в одинаковых почвенных условиях и за один срок.

Для облучения отобранные образцы растений хлопчатника мы разделили на группы, как-то: корни, стебли, листья, коробочки и волокна.

Так как нейтронно-активационный анализ позволяет вести исследования на содержание микроэлементов с высокой чувствительностью вплоть до 10^{-9} г/г, то возникает необходимость соблюдать особую стерильность при подготовке образцов к облучению с тем, чтобы не вносить микроэлементы. Кроме того, мы старались не подвергать каким-либо физико-химическим воздействиям образцы, так как нами было установлено, что при термическом и химическом сжигании теряется до 70% некоторых элементов.

Пробы были изготовлены следующим способом: образцы хлопчатника после тщательной очистки от пыли /промывались в дистиллированной воде/ просушивались в сушильном шкафу с постепенным повышением температуры от 50° до 120°С в течение 10-15 час.

Воздушно-сухие образцы измельчались до порошкообразного состояния в агатовой ступке. Из этого порошка путем прессования под давлением до 250 атмосфер были изготовлены таблетки диаметром 20 мм, толщиной 2-4 мм и весом ≈ 1000 мг. Образцы для облучения, полученные таким способом, оказались очень удобными и практичными в работе. Они компактны, имеют достаточно высокую механическую прочность, малый объем, большую плотность и вес /что очень важно при изготовлении проб из растений и других биологических объектов/, а также определенные, постоянные размеры и форму. Помимо этого, для них значительно повышается точность мониторинга и эталонирования /из-за известной формы и размеров образца/, а также легко подбирается и рассчитывается нужная геометрия для облучения и измерения спектра.

Образцы упаковывались /каждая таблетка отдельно/ в полиэтилен и помещались стопкой вместе с эталонами в специальный контейнер из чистого алюминия.

Облучение проводилось тепловыми нейтронами на реакторе с интегральным потоком в 10^{16} н/см². Интегральный поток нейтронов определялся по наведенной активности на эталонах с известными сечениями активации.

В данном цикле экспериментов мы предполагали провести анализ на содержание долгоживущих радиоактивных изотопов. В связи с этим образцы "охлаждались" в течение 2-х дней с тем, чтобы распались более короткоживущие радиоактивные изотопы, создающие из-за высокой активности значительные помехи определению других элементов.

Гамма-спектры облученных образцов измерялись на γ -спектрометре, состоящем из полупроводникового коаксиального Ge(Li) - детектора, высокоэффективной системы стабилизации и амплитудного анализатора типа АИ-4096 и малой ЭВМ типа ТРА -1001.

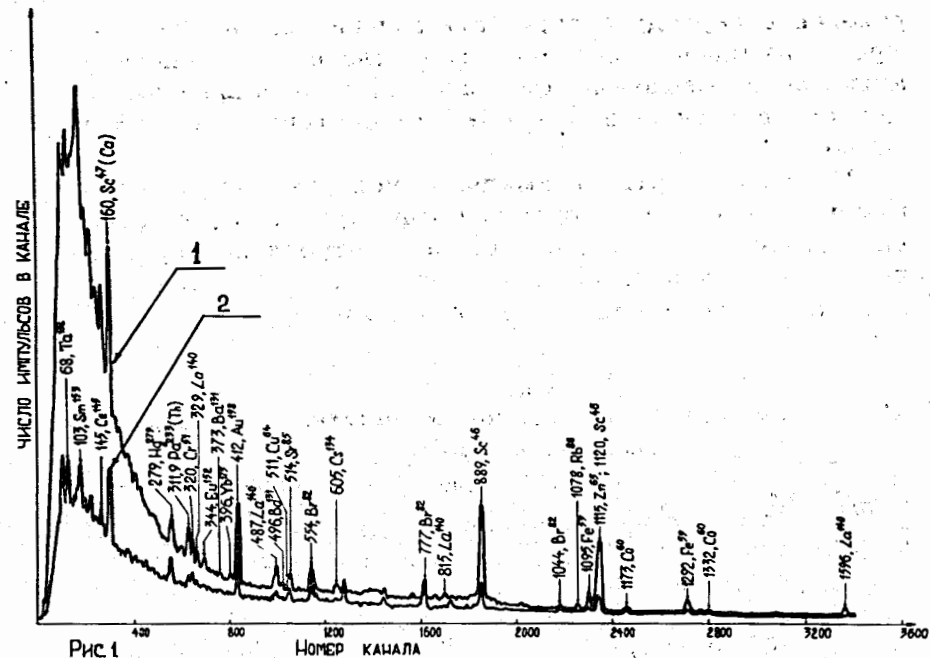


Рис. 1. Гамма-спектры образцов корней хлопчатника.

Использовался детектор объемом 40 см³, разрешение которого по фотопику ¹³⁷Cs /E_γ = 661,65 кэВ/ составляло ≈ 3 кэВ. Обработка спектров осуществлялась по разработанной нами программе на ЭВМ "Минск-32" /определение площадей пиков с вычетом фона и поправками на эффективность детектора, на время выдержки и измерения для каждого анализируемого изотопа в зависимости от постоянной распада и т.д./.

На рис. 1 представлены типичные γ -спектры от образцов больных /спектр 1/ и здоровых /спектр 2/ корней хлопчатника, полученные с помощью ЭВМ "Минск-32". На этих спектрах можно видеть γ -активности, соответствующие идентифицированным изотопам /микроэлементам/.

Идентификация содержащихся в исследуемых образцах изотопов производилась по известным энергиям γ -пе-

реходов и периоду полураспада радиоактивного изотопа. Время измерения образцов зависело от наведенной γ -активности, мешающих фоновых эффектов в анализируемой области энергии и в среднем составляло от 0,5 до 10 час.

Чтобы получить оптимальные условия воспроизводимости результатов и свести к минимуму вклад от фоновых эффектов, а также с целью контроля по периодам полураспада исследуемых изотопов измерения повторялись для каждого изотопа минимум 3 раза.

Таблица 1
Результаты анализа органов хлопчатника /содержание элементов в %/

№ п/п	ЭЛЕМЕНТЫ	КОРЕНЬ		СТЕБЕЛЬ			ЛИСТЬЯ			КОРОБОЧКА			ВОЛОКНО			
		НОРМ	ВИЛТ	ВИЛТ НОРМ	НОРМ	ВИЛТ	ВИЛТ НОРМ	НОРМ	ВИЛТ	ВИЛТ НОРМ	НОРМ	ВИЛТ	ВИЛТ НОРМ	НОРМ	ВИЛТ	ВИЛТ НОРМ
1	НАТРИЙ	0,1	0,12	1,2	0,03	0,011	0,37	0,049	0,055	1,1	0,019	0,022	1,16	$3 \cdot 10^{-3}$	$8 \cdot 10^{-3}$	2,7
2	КАЛИЙ	0,6	1,12	1,9	1,65	2,32	1,4	4,1	2,1	0,5	4,46	6,0	1,35	0,6	0,97	1,6
3	КАЛЬЦИЙ	1,2	1,8	1,5	3,7	1,76	0,5	1,5	1,43	0,96	3,5	3,0	0,85	0,6	0,5	0,86
4	СКАНДИЙ	$7,4 \cdot 10^{-4}$	$2,1 \cdot 10^{-3}$	2,8	$6,4 \cdot 10^{-3}$	$8,4 \cdot 10^{-3}$	1,32	$2,5 \cdot 10^{-3}$	$4,2 \cdot 10^{-3}$	1,7	$1,5 \cdot 10^{-3}$	$3,7 \cdot 10^{-3}$	2,5	$2,4 \cdot 10^{-6}$	$3,1 \cdot 10^{-6}$	1,3
5	ХРОМ	$1,5 \cdot 10^{-3}$	$1,5 \cdot 10^{-4}$	1,0	$3,2 \cdot 10^{-3}$	$3,8 \cdot 10^{-3}$	1,2	0,004	0,007	1,7	< 0,001%		< 0,001%			
6	ЖЕЛЕЗО	0,015	0,04	2,6	0,004	0,008	2,0	0,082	0,12	1,5	0,036	0,073	2,0	0,024	0,024	1,0
7	КОБАЛЬТ	$2 \cdot 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-3}$	2,0	$1 \cdot 10^{-4}$	$8 \cdot 10^{-5}$	0,8	$7,3 \cdot 10^{-3}$	$8,8 \cdot 10^{-3}$	1,2	< 10^{-5} %		$4,8 \cdot 10^{-3}$	$3,1 \cdot 10^{-3}$	0,6	
8	МЕДЬ	$7 \cdot 10^{-3}$	$9 \cdot 10^{-3}$	1,3	$7,8 \cdot 10^{-3}$	$8,1 \cdot 10^{-3}$	1,05	$2,5 \cdot 10^{-3}$	$1,8 \cdot 10^{-3}$	0,6	$1,12 \cdot 10^{-4}$	10^{-4}	0,9	$3,8 \cdot 10^{-3}$	$4,2 \cdot 10^{-3}$	1,1
9	ЦИНК	$4,2 \cdot 10^{-3}$	$5,5 \cdot 10^{-3}$	1,3	$8 \cdot 10^{-3}$	$1,3 \cdot 10^{-2}$	1,6	$7 \cdot 10^{-3}$	$3 \cdot 10^{-2}$	4,3	$7 \cdot 10^{-4}$	$2,2 \cdot 10^{-3}$	3,0	$3 \cdot 10^{-3}$	$4,0 \cdot 10^{-3}$	1,4
10	ГАЛЛИЙ	$3,2 \cdot 10^{-3}$	$2,4 \cdot 10^{-3}$	0,75	$1,2 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$	0,83	$1,3 \cdot 10^{-3}$	$9,0 \cdot 10^{-4}$	0,7	$6,7 \cdot 10^{-3}$	$4,2 \cdot 10^{-3}$	0,6	$4,5 \cdot 10^{-3}$	$7 \cdot 10^{-3}$	0,16
11	БРОМ	$4,4 \cdot 10^{-3}$	$2,2 \cdot 10^{-3}$	0,5	$8,5 \cdot 10^{-3}$	$5,8 \cdot 10^{-3}$	0,7	$4,2 \cdot 10^{-3}$	$3,2 \cdot 10^{-3}$	0,7	$2,5 \cdot 10^{-3}$	$1,6 \cdot 10^{-3}$	0,6	$6 \cdot 10^{-3}$	$4,5 \cdot 10^{-3}$	7,5
12	СТРОНЦИЙ	$5,1 \cdot 10^{-3}$	$5,5 \cdot 10^{-3}$	1,1	$2,4 \cdot 10^{-3}$	$2,2 \cdot 10^{-3}$	0,9	$3,7 \cdot 10^{-3}$	$2,6 \cdot 10^{-3}$	0,7	< 0,01%		$1,2 \cdot 10^{-3}$	$1,3 \cdot 10^{-3}$	1,1	
13	МОЛИБДЕН	< 0,00001%	0,01%	$4,8 \cdot 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-4}$	0,8	$1,6 \cdot 10^{-3}$	$8 \cdot 10^{-3}$	0,5	< $1 \cdot 10^{-5}$ %		< $1 \cdot 10^{-5}$ %				
14	БАРИЙ	$3,6 \cdot 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-3}$	1,1	< 0,001%		$6,1 \cdot 10^{-3}$	$7,9 \cdot 10^{-3}$	1,3	< 0,0001%		< 0,001%				
15	ЛАНТАН	$2 \cdot 10^{-3}$	$7 \cdot 10^{-3}$	3,4	< 0,00001%		$5,8 \cdot 10^{-3}$	$11 \cdot 10^{-3}$	1,8	$2,9 \cdot 10^{-3}$	$3 \cdot 10^{-3}$	1,0	< 0,00001%			
16	ТОРИЙ	$7,0 \cdot 10^{-3}$	$1,8 \cdot 10^{-3}$	2,6	$0,5 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-6}$	2,0	$2,7 \cdot 10^{-6}$	$7,8 \cdot 10^{-6}$	2,9	< 0,000001%		< 0,000001%			
17	ЗОЛОТО	$2,4 \cdot 10^{-6}$	$2,7 \cdot 10^{-6}$	1,1	$4,8 \cdot 10^{-7}$	$11 \cdot 10^{-7}$	2,4	$4,1 \cdot 10^{-6}$	$2,7 \cdot 10^{-6}$	0,7	$0,9 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-6}$	2,3	$7,4 \cdot 10^{-7}$	$5,2 \cdot 10^{-7}$	0,7
18	ЦЕЗИЙ	$2,5 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-5}$	4,0												
19	СУРЬМА	$0,9 \cdot 10^{-3}$	$4,1 \cdot 10^{-3}$	1,2												
20	ЦЕРИЙ	$4,5 \cdot 10^{-3}$	$1,6 \cdot 10^{-3}$	3,6												
21	САМАРИЙ	$3 \cdot 10^{-6}$	$8,4 \cdot 10^{-6}$	2,8												
22	ЕВРОПИЙ	$4,4 \cdot 10^{-6}$	$2,9 \cdot 10^{-6}$	1,4												
23	ИТТЕРБИЙ	$2,2 \cdot 10^{-6}$	$5,3 \cdot 10^{-6}$	2,4												
24	РУТУТЬ	$7,8 \cdot 10^{-3}$	$2,8 \cdot 10^{-3}$	1,0												
25	РУБИДИЙ	$0,9 \cdot 10^{-4}$	$2,8 \cdot 10^{-4}$	3,1												

ОБОЗНАЧЕНИЯ:

НОРМ. — ЗДОРОВОЕ РАСТЕНИЕ

ВИЛТ. — ПОРАЖЕННОЕ РАСТЕНИЕ

Окончательные результаты анализа представлены в табл. 1. Как видно из таблицы, действительно, активационный метод позволяет производить одновременный многоэлементный высокочувствительный анализ растений хлопчатника, а по понятиям биологов это еще и экспрессный метод. Одновременно определяется до 25 элементов с чувствительностью до 10^{-7} - 10^{-8} г/г. И это не предел, как видно из спектров этих образцов.

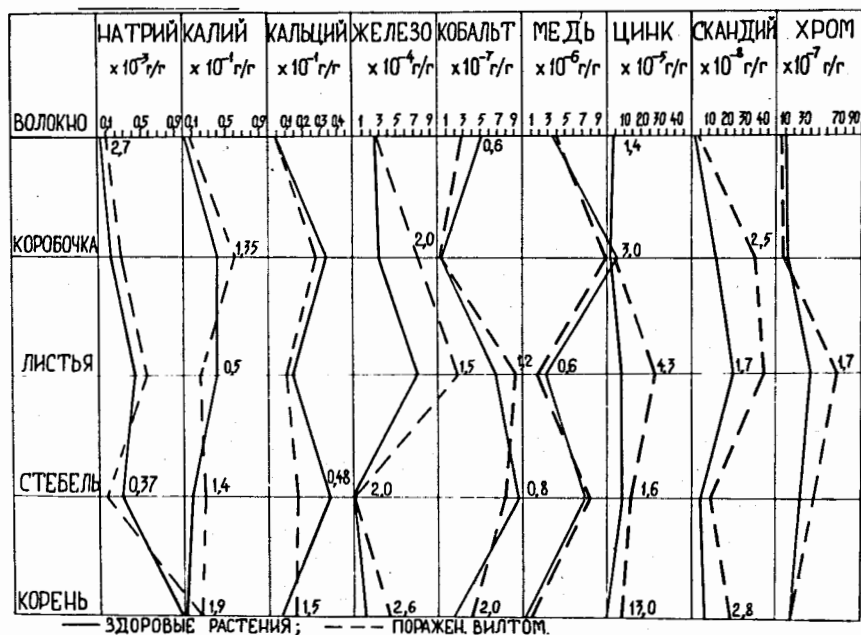
Мы будем осторожны в специальных выводах из результатов наших исследований - это дело биологов, но тем не менее нельзя не отметить существенную разницу в содержании большинства элементов в органах здоровых и пораженных вилтом растений. И если известно, какую несут /ту или иную/ биологическую нагрузку такие элементы, как натрий, калий, кальций, железо, медь, то большинство идентифицированных элементов - скандий, хром, кобальт, цинк, галлий, бром, молибден, золото, цезий, сурьма, рубидий, торий и редкие земли - приводят к мысли, что различное их содержание свидетельствует об их биологической роли в жизни хлопчатника, либо в деятельности гриба-паразита.

В табл. 2 представлены данные распределения относительного содержания 17 элементов по органам хлопчатника /отношение содержания изотопа в пораженном вилтом хлопчатнике к его содержанию в здоровом хлопчатнике/.

На основании анализа полученных нами данных можно сказать, что относительная концентрация содержания таких элементов, как калий, скандий, хром, железо, цинк, барий, лантан, торий во всех органах пораженного вилтом хлопчатника* значительно выше, а таких элементов, как галлий, бром*, молибден, значительно ниже. Относительное же содержание таких элементов, как натрий, кальций, кобальт, медь, стронций, золото, в органах хлопчатника колеблется в широких пределах, например, для натрия от $\approx 0,3$ до $\approx 3,0$. Наблюдается более высокая концентрация элементов цезия, сурьмы, церия, самария, европия, иттербия, рубидия в корнях пораженного вилтом хлопчатника, чем в корнях здорового.

* Для калия - во всех органах хлопчатника, кроме листьев, для брома - кроме волокна.

Таблица 2
Распределение относительного содержания микроэлементов по органам хлопчатника

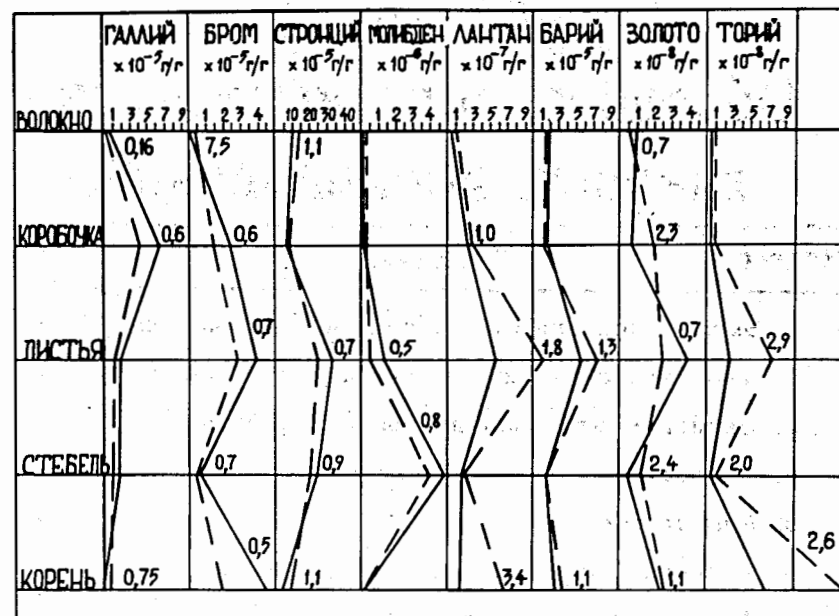


Естественно предположить, что наблюдаемые отклонения постоянства концентраций микроэлементов, по-видимому, являются причиной или результатом заболеваний хлопчатника вилтом.

Для выяснения конкретной роли элементов и установления определенных закономерностей в их содержании и поведении при подходе к решению проблемы вилта необходима организация систематического анализа в течение ряда лет, и эта задача должна, безусловно, решаться совместными усилиями специализированных центров активационного анализа и ученых, изучающих проблему вилта в целом.

В заключение авторы выражают глубокую благодарность академику Г.Н.Флерову за постановку данной

Продолжение таблицы 2



задачи и постоянный интерес, а также профессору А.А.Кисту и профессору З.Э.Беккер за полезные обсуждения результатов.

Литература

1. А.П.Виноградов. Успехи химии, 1, 13 /1944/.
2. А.П.Виноградов. Геохимия редких и рассеянных элементов в почвах. Изд-во АН СССР, М., 1957.
3. А.А.Кист. Биологическая роль химических элементов и периодический закон. Изд-во ФАН Уз.ССР, Ташкент, 1973.

Рукопись поступила в издательский отдел
 30 сентября 1974 года.