УДК 577.345 DOI: 10.25695/AGRPH.2024.02.03

ИЗМЕНЕНИЕ ИЗОТОПНОГО СОСТАВА УГЛЕРОДА В ЛИСТЬЯХ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ И АМАРАНТА ПРИ ОБЛУЧЕНИИ СВЕТОМ РАЗЛИЧНОГО СПЕКТРАЛЬНОГО СОСТАВА

А. Ю. Елисеев[1, 2], Т. Э. Кулешова[1, 2], А. В. Аладов[3], А. Е. Черняков[3], Ю. А. Титов[4], А. Г. Кузьмин[4]

[1]ФГБУН Физико-технический институт им. А. Ф. Иоффе РАН,
194021, Санкт-Петербург, Политехническая ул., 26,
E-mail: www.piter.ru@bk.ru, eliseev0arseny@gmail.com;
[2]ФГБНУ «Агрофизический научно-исследовательский институт»,
195220, Санкт-Петербург, Гражданский просп., д. 14;
[3] ФГБУН Научно-технологический центр микроэлектроники и субмикронных гетероструктур РАН 194021,
Санкт-Петербург, Политехническая ул., 26
E-mail: aaladov@mail.ioffe.ru, chernyakov.anton@yandex.ru;
[4] ФГБУН Институт аналитического приборостроения РАН,
198095, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, 31-33, лит. А.,
E-mail: toplm@mail.ru, agqz55@rambler.ru

Поступила в редакцию 15.05.2024, принята к печати 01.06.2024

В ходе одного из важнейших процессов круговорота углерода в биосфере – фотосинтеза, происходят не только фотохимические и биохимические реакции, но и изотопное фракционирование основных биогенов и других элементов. Условия минерального питания, факторы влаго- и теплообеспеченности, видовые и сортовые особенности, световые условия при фотосинтезе влияют не только на его интенсивность, но и определяют изотопный состав ряда метаболитов, в том числе в зависимости от специфики растений по типу фиксации углерода (C_3-, C_4-, CAM- пути), чем и обоснован выбор объектов исследования – пшеница яровая (*Triticum aestivum* L.), как классический представитель C_3- пути фиксации углерода и амарант (*Amaranthus hopochondriacus* L.), как классический представитель C_4- культуры. Исследование изотопного состава метаболитов в целом, и углерода метаболитов в особенности, позволяют раскрыть физические и физиолого-биохимические механизмы протекания важнейших процессов в растениях. В настоящее время наиболее развитыми методами являются радиоизотопные исследования и методы с использованием масс-спектрометрии стабильных изотопов, требующие особых условий работы и сложной подготовки такой как: общее разложение проб (твердофазное окисление), методы хроматографии и другие. Нами предложен и апробирован ранее метод метаболизацации растворимых метаболитов с использованием культуры *Saccharomyces cerevisiae* в качестве альтернативного для последующей изотопной масс-спектрометрии – биологический метод пробоподготовки. Данный метод показал свою применимость для подготовки растительных проб к изотопному анализу углерода, а отсутствие фоторецепторных систем позволяет использовать *Saccharomyces cerevisiae* для определения влияния спектрального состава света на изменение изотопного состава углерода метаболитов растения. Инкубирование дрожжей с растительной пробой в прозрачной камере дает возможность облучать фотосинтезирующие листья растений, переводить углеводы растения в углекислый газ и отбирать пробы для масс-спектрометрических исследований изотопного состава углерода одновременно в динамике, когда как метод твердофазного окисления не позволяет исследовать нативные пробы при изменении факторов внешней среды. В работе показано влияние световых условий на фракционирование изотопов углерода листьями растений с различным типом фотосинтеза. С применением биологического метода подготовки проб в условиях динамического измерения состава метаболических газов определены и оценены скорости изменения изотопного отношения углерода $^{13}C/^{12}C$ в зависимости от спектральных характеристик освещения. Выявлено более значительное обогащение изотопом ^{13}C листьев растений пшеницы с C_3-типом фотосинтеза при облучении синим светом и листьев амаранта с C_4-типом фотосинтеза при воздействии красным светом по сравнению с другими областями спектра.

Ключевые слова: изотопный состав углерода, C_3- и C_4-типы фотосинтеза, *Saccharomyces cerevisiae,* изотопная масс-спектрометрия, влияние спектрального состава света на растения.

CHANGE IN THE CARBON ISOTOPIC COMPOSITION IN THE LEAVES OF WHEAT AND AMARANTH PLANTS UNDER IRRADIATION WITH LIGHT OF DIFFERENT SPECTRAL COMPOSITION

A. Yu. Eliseev[1,2], T. E. Kuleshova[1,2], A. V. Aladov[3], A. E. Chernyakov[3], Yu. A. Titov[4], A. G. Kuzmin[4]

[1]The Ioffe Physical-Technical Institute of the Russian Academy of Sciences,
26, Politekhnicheskaya St., Saint-Petersburg, 194021,
E-mail: www.piter.ru@bk.ru, eliseev0arseny@gmail.com;
[2]Agrophysical Research Institute,
14, Grazhdanskiy pr., Saint-Petersburg, 195220;
[3]Submicron Heterostructures for Microelectronics, Research & Engineering Centre of the Russian Academy of Sciences,
26, Politekhnicheskaya St., Saint-Petersburg, 194021
E-mail: aaladov@mail.ioffe.ru, chernyakov.anton@yandex.ru;
[4]The Institute for Analytical Instrumentation of the Russian Academy of Sciences,
31-33A, Ivana Chernykh St., Saint-Petersburg,198095,
E-mail: toplm@mail.ru, agqz55@rambler.ru

Photosynthesis, one of the most important processes of carbon cycling in the biosphere, involves not only photochemical and biochemical reactions, but also isotopic fractionation of major biogens and other elements. Conditions of mineral nutrition, factors of moisture and heat availability, species and varietal peculiarities, light conditions during photosynthesis affect not only its intensity, but also determine the isotopic composition of a range of metabolites, including depending on the specificity of plants on the type of carbon fixation (C_3-, C_4-, CAM- pathways),, which justified the choice of research objects - spring wheat (*Triticum aestivum* L.) as a classical representative of the C_3- pathway of carbon fixation and amaranth (*Amaranthus hopochondriacus* L.) as a classical representative of the C_4-culture. The research of isotopic composition of metabolites in general, and carbon of metabolites in particular, allows to reveal physical and physiological-biochemical mechanisms of the most important processes in plants. Currently, the most developed methods are radioisotope studies and methods using mass spectrometry of stable isotopes, which require special working conditions and complex preparation such as: general decomposition of probes (solid-phase oxidation), chromatography methods and others. We proposed and tested earlier a method of metabolisation of soluble metabolites using *Saccharomyces cerevisiae* culture as an alternative method for subsequent isotope mass spectrometry - biological method of sample preparation. This method has shown its applicability for preparing plant probes for carbon isotope analysis, and the absence of photoreceptor systems allows *Saccharomyces cerevisiae* to be used to determine the effect of the spectral composition of light on changes in the carbon isotopic composition of plant metabolites. Incubation of yeast with a plant probe in a transparent chamber makes it possible to irradiate photosynthesising plant leaves, convert plant carbohydrates into carbon dioxide and take samples for mass spectrometric studies of carbon isotope composition simultaneously in dynamics, when the method of solid-phase oxidation does not allow the study of native samples when environmental factors change. The work shows the influence of light conditions on the fractionation of carbon isotopes by the leaves of plants with different types of photosynthesis. Using a biological method of sample preparation under conditions of dynamic measurement of the metabolic gas composition, the rates of change in the carbon isotope ratio $^{13}C/^{12}C$ depending on the spectral characteristics of illumination were determined and estimated. A more significant enrichment of the ^{13}C isotope in the leaves of wheat plants with the C_3-type of photosynthesis under irradiation with blue light and amaranth leaves with C_4-type photosynthesis under exposure to red light was revealed in comparison with other spectral regions.

Key words: carbon isotope composition, C_3- and C_4-types of photosynthesis, *Saccharomyces cerevisiae*, isotope mass spectrometry, influence of the spectral composition of light on plants.

ВВЕДЕНИЕ

Применение изотопных методов анализа, в первую очередь с использованием радиоактивно меченых атомов, позволило создать современную биохимическую картину превращений соединений в биологических объектах. Исследование изотопного состава растений дало возможность дифференцировать пути связывания углерода на C_3-, C_4- и САМ-фотосинтез (Полевой, 1989; Эдварс, 1986). Отличия данных циклов связаны с различиями продуцируемых первичных продуктов, расходуемых метаболитов и последовательностью метаболических реакций, что влияет на степень фракционирования изотопов углерода из-за кинетического эффекта (Рейвн, 1990; Федулов, 2019; O'Leary, 1981).

Спектральный состав света является важнейшим регуляторным фактором морфогенеза и физиологического состояния растений, влияющим как на интенсивность фотосинтеза, так и на направленность метаболических процессов (Bello-Bello, 2017; Cayle, 1957). Установлено, что изотопный состав листьев растений подвержен изменению при облучении светом с различным спектром излучения. Так, у овса посевного (*Avena sativa* L.) с C_3- путем фиксации углерода обнаружено более значительное обогащение биомассы листа легким изотопом углерода ^{12}C под действием красного света и тяжелым изотопом углерода ^{13}C при облучении синим по

сравнению с белым светом (Кулешова, 2020). У листовых зеленных культур на примере салата (*Lactuca sativa* L.) сорта Афицион отмечен сдвиг в сторону обогащения изотопом ^{13}C при облучении красным светом по сравнению с белым (Ивлев, 2021). Распределение изотопов между воздухом и продуктами фотосинтеза определяется реакционной способностью молекул различного изотопного состава, причем в продуктах реакции будет накапливаться изотоп, с участием которого реакция протекает быстрее: большинство растений интенсивно накапливают ^{12}C, поэтому относительное содержание данного изотопа в их составе на 15–25‰ выше, чем в атмосфере (Галимов, 1968; Schidlowski, 2005). Однако имеются противоречивые данные, свидетельствующие, что наряду с увеличением биомассы почти в два раза при облучении монохроматическим красным (659 нм) светом наблюдалось обогащение тяжелым изотопом ^{13}C на 2,34‰ по сравнению с синим (450 нм) спектром (Tarakanov, 2022).

В связи с этим для понимания процессов фракционирования изотопов углерода в ходе фотосинтеза и нарастания биомассы весьма актуальным является изучение динамики изменения изотопного состава углерода в листьях растений. Целью данной работы являлось изучение уровня изменения изотопного отношения углерода $^{13}C/^{12}C$ в листьях растений с C_3- и C_4-типами фотосинтеза при облучении светом с различным спектральным составом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования были выбраны пшеница яровая (*Triticum aestivum* L.) сорта Фаина, представитель растений с C_3-типом фиксации углерода, и амарант (*Amaranthus* L.) сорта Рубиновый букет – представитель C_4-метаболизма.

Растения выращивались в регулируемых условиях интенсивной светокультуры в вегетационно-облучательной установке «Экофил» (ФГБНУ АФИ, Россия) с лампами ДНаЗ-400 в качестве источников света (Панова, 2020). Плотность фотосинтетического потока фотонов (PPFD) составляла 320±20 мкмоль $м^{-2}$ $с^{-1}$, световой период – 16 часов в сутки, температура воздуха – +20–22°C днем и +18–20°C ночью, относительная влажность воздуха – 65–70%. В качестве корнеобитаемой среды использовался торфяной грунт Агробалт С (Пиндструп, Россия) на основе верхового торфа низкой степени разложения, содержащий не менее: N – 150 мг $л^{-1}$, P_2O_5 – 150 мг $л^{-1}$, K_2O – 250 мг $л^{-1}$, Mg – 30 мг $л^{-1}$, Ca – 120 мг $л^{-1}$. Влажность субстрата поддерживалась на уровне 60–70% от общей влагоемкости, необходимый питательный режим обеспечивался внесением раствора Кнопа.

Для изучения влияния спектра излучения в области фотосинтетически активной радиации (ФАР) на соотношение изотопов углерода в листьях растений использовался энергоэффективный динамически управляемый светодиодный светильник ЭДУСИО (НТЦ микроэлектроники и субмикронных гетероструктур РАН, Россия) (Аладов, 2016). Были выбраны четыре различных режима освещения (через дробную черту указаны экспериментальные значения пиковой длины волны λ_{peak} и полуширины спектра $\Delta\lambda_{0.5}$) (табл. 1):

1) К – монохроматический красный свет (λ_{peak} = 640/$\Delta\lambda_{0.5}$ = 15 нм);

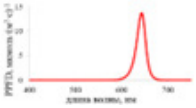
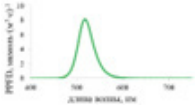
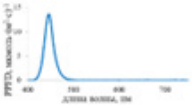
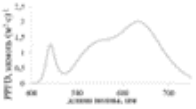
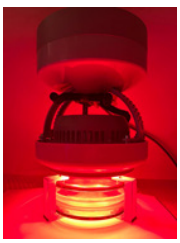
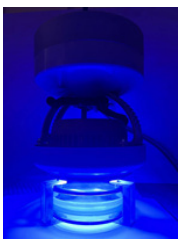
2) З – монохроматический зеленый свет (λ_{peak} = 520 / $\Delta\lambda_{0.5}$ = 34 нм);

3) С – монохроматический синий свет (λ_{peak} = 445/$\Delta\lambda_{0.5}$ = 22 нм);

4) Б – белый свет, синтезированный сложением спектров двух люминофорных светодиодов теплого и холодного цвета свечения с цветовыми температурами $T_ц$ = 2800 К и $T_ц$ = 8000 К соответственно.

Величина PPFD, характеризующая количество квантов, приходящих на листовую поверхность, формировалась одинаковой для всех вариантов. Спектры излучения измерялись с помощью ФАР-метра PG200N (UPRtek, Тайвань).

Таблица 1. Параметры освещения листьев выбранных растений в ходе изучения динамики изотопного состава углерода

Вариант	К (красный)	З (зеленый)	С (синий)	Б (белый)
Диапазон спектра, нм	612–665	487–562	423–474	400–750
Максимум излучения, нм	640	520	445	–
PPFD, мкмоль $м^{-2}$ $с^{-1}$	357±23	354±25	350±19	346±21
Спектр излучения				
Общий вид				

Наиболее распространенным методом анализа изотопного состава является масс-спектрометрическое измерение, для проведения которого необходимо преобразовать углерод в газообразную форму – углекислый газ. Стандартный метод подготовки проб путем сжигания исследуемого объекта подходит только для определения конечного изотопного состава всего углеродного пула биомассы и не может быть совмещен с измерением динамики изменения изотопного состава *in vivo* (Лазеева, 1999). В связи с этим в настоящем исследовании использовался ранее разработанный авторами метод инкубирования растительной пробы с дрожжами *Saccharomyces cerevisiae* для метаболизации растворимых компонентов растительных тканей с выделением диоксида углерода (Кулешова, 2019).

Последовательность действий была следующей: 1) на 50-й день вегетации отбирались листовые пластинки, производились вырезки площадью 30 см^2 листьев растений пшеницы и амаранта, выращенных в контролируемых условиях агробиополигона; 2) на исследуемых растительных тканях были выполнены надрезы на расстоянии 0,5–1,0 мм для выделения растительных экссудатов; 3) на поверхность иссеченных листьев наносилась 20%-ная суспензия дрожжей в дистиллированной воде; 4) листовая пластинка с нанесенными дрожжами помещалась в инкубационную камеру (рис. 1(2)), состоящую из двух плоских цилиндров (рис. 1(4)), между которыми был помещен уплотнитель (рис. 1(5)) для изолирования от внешней среды и обеспечения герметичности, камера стягивалась струбцинами (рис. 1 (3)); 5) в течение 15 минут исследуемый фитотест-объект облучался светом с различным спектральным составом, параллельно измерялось соотношение интенсивности пиков I_{45}/I_{44} (где I_{44} – интенсивность сигнала для *m/z* (отношение массы к заряду) = 44, соответствующая основной изотопной модификации $^{12}C^{16}O^{16}O$; I_{45} – интенсивность сигнала для *m/z* = 45, соответствующая сумме изотопных модификаций $^{13}C^{16}O^{16}O$ и $^{12}C^{17}O^{16}O$) с помощью квадрупольного масс-спектрометра для анализа состава газовых смесей АРОМАСС-2 (ИАП РАН, Россия) (Титов, 2020) путем помещения капилляра для отбора пробы в инкубационную камеру. Интенсивность пиков CO_2 нормировалась относительно содержания в атмосферном воздухе инертного газа аргона как постоянного компонента газовой смеси. Для масс 50–90 а.е.м. калибровка в процентном соотношении проводилась по криптону.

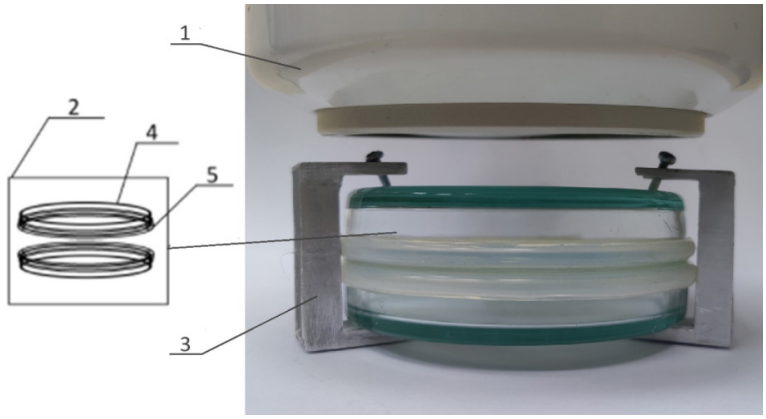


Рис. 1. Схема экспериментальной установки:
1 – светодиодный светильник ЭДУСИО; 2 – инкубационная камера; 3 – струбцины, обеспечивающие герметичность; 4 – каркас из двух цилиндров; 5 – уплотнительная прокладка

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные масс-спектры газового состава в экспериментальной камере после инкубации листьев растений при их окислении дрожжами представлены на рис. 2. Содержание основных компонентов газовой смеси – азота и кислорода – находилось во всех вариантах примерно на одном уровне и соответствовало атмосферному составу (рис. 2, кривая 5). Интенсивность сигнала на *m/z* = 44, соответствующая углекислому газу CO_2, повышалась как в вариантах с растениями, так и в контрольном варианте, что связано с аэробным дыханием дрожжей. Так, через 15 минут концентрация углекислого газа в присутствии в реакционной камере водной суспензии дрожжей повысилась в 8–10 раз (рис. 2в). Можно отметить, что выделение углекислого газа дрожжами, не имеющими фоторецепторных систем, практически не изменяется под воздействием света различного спектрального состава. При этом видно, что при размещении в камере листьев растений содержание CO_2 в исследуемом объеме снижается, а интенсивность сигнала значительно зависит от спектра освещения в процессе проведения реакции. Вероятнее всего, это связано с разной скоростью ассимиляции углекислого газа в процессе фотосинтеза (Воскресенская, 1965; Li, 2020;).

Наиболее выраженное действие на листья пшеницы оказал красный свет – содержание CO_2 в данном варианте освещения снизилось в 3,2 раза относительно выделенного дрожжами количества, в варианте с зеленым – в 2,5 раза, с синим – в 2,2 раза, с белым – в 2,6 раза. Для листьев амаранта также были характерны более выраженная реакция на воздействие красного света (наблюдалось снижение концентрации CO_2 в 3,9 раза), менее выраженная – на облучение зеленым (снижение в 1,5 раза) и белым светом (в 2,7 раза) и практически полное отсутствие изменений при облучении синим светом.

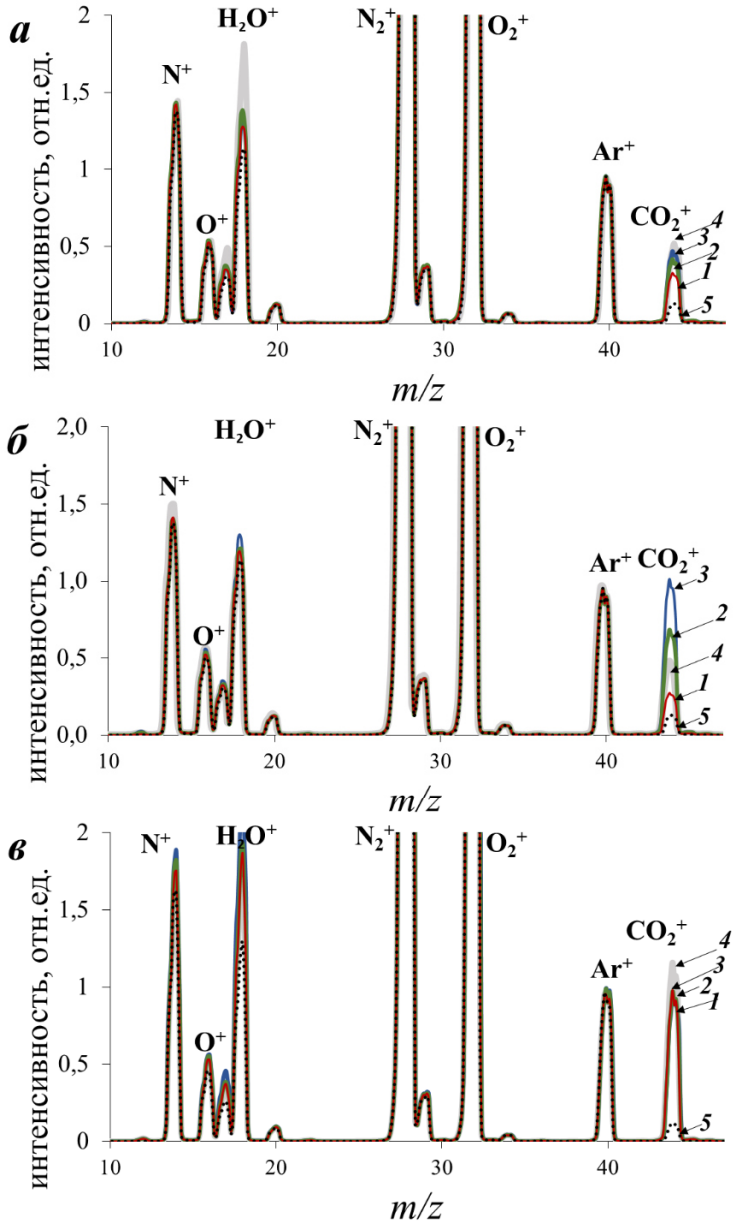


Рис. 2. Масс-спектры газового состава в экспериментальной установке после метаболизации дрожжами в течение 15 минут: *а* – листа пшеницы; *б* – листа амаранта; *в* – контроль (без растительного материала) при облучении светом различного спектрального состава:
1 – красный, 2 – зеленый, 3 – синий, 4 – белый свет,
5 – контроль (атмосферный воздух) в диапазоне масс 10–50 а.е.м.

С помощью масс-спектрометрического анализа также были идентифицированы образующиеся в реакционном объеме органические летучие соединения (рис. 3). Обнаружено увеличение интенсивности сигналов с $m/z = 56$ (бутанол (M^+-H_2O)), m/z = 58 (ацетон) и m/z = 60 (уксусная кислота) как естественных сопутствующих метаболитов при процессах брожения. Для дрожжей как классического представителя гетеротрофных организмов присущи анаэробный метаболизм с выделением спиртов и аэробный метаболизм с выделением углекислоты. Особенностью метаболизма использованных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* является эффект Кребтри, заключающийся в том, что при достаточной аэрации и избытке сахаров проявляются как аэробный, так и анаэробный метаболизм (Меледина, 2015). В ходе эксперимента было установлено, что в инкубационной камере число молекул углекислого газа в среднем выше в 10^6 раз, чем число молекул этанола. Учитывая распределение изотопов углерода в диоксиде углерода, можно утверждать, что возможная интерференция целевых масс изотопов углерода и молекул спирта лежит за пределом погрешности измерения 1‰. Содержание идентифицированных компонентов анаэробного метаболизма в десятки раз меньше, чем содержание этанола, поэтому возможный вклад их фрагментов в интенсивность сигнала $m/z = 44$ и $m/z = 45$ является незначимым.

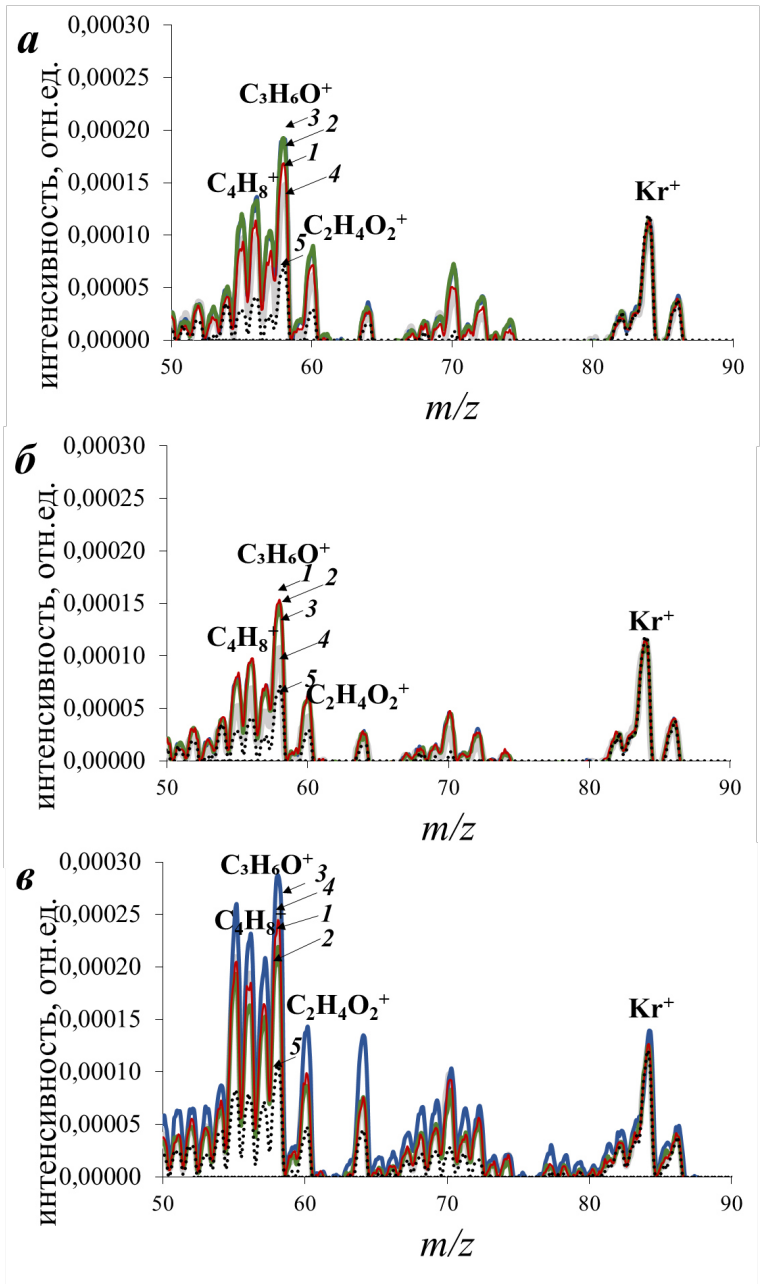


Рис. 3. Масс-спектры газового состава в экспериментальной установке после метаболизации дрожжами в течение 15 минут: *а* – листа пшеницы; *б* – листа амаранта; *в* – контроль (без растительного материала) при облучении светом различного спектрального состава: 1 – красный, 2 – зеленый, 3 – синий, 4 – белый свет, 5 – контроль (атмосферный воздух) в диапазоне масс 50–90 а.е.м.

Изменение изотопного состава углекислого газа, характеризуемое как соотношение интенсивности пиков I_{45}/I_{44} (где I_{45} пропорционально содержанию $^{13}C^{16}O^{16}O$, а I_{44} – $^{12}C^{16}O^{16}O$), в процессе инкубирования в течении 15 минут растительных проб с дрожжами, а также при метаболизме дрожжей представлено на рис. 4. Полученные кривые имеют линейную зависимость и практически во всех случаях имеют отрицательный рост, что может свидетельствовать об обеднении газового состава камеры изотопом ^{13}C в процессе реакции. Важно отметить, что получаемое более высокое соотношение I_{45}/I_{44} в газовом объеме для растений пшеницы, вероятнее всего, связано с более интенсивным фракционированием легких изотопов ^{12}C листьями пшеницы по сравнению с амарантом в процессе фотосинтеза. Полученные данные подтверждаются результатами ранее проведенных авторами исследований изотопного состава растений с разным типом фотосинтеза с использованием разработанной методики метаболизации дрожжами: было установлено, что для представителей C_4-метаболизма характерно большее накопление тяжелого изотопа ^{13}C в листьях, чем для растений с C_3-типом фотосинтеза.

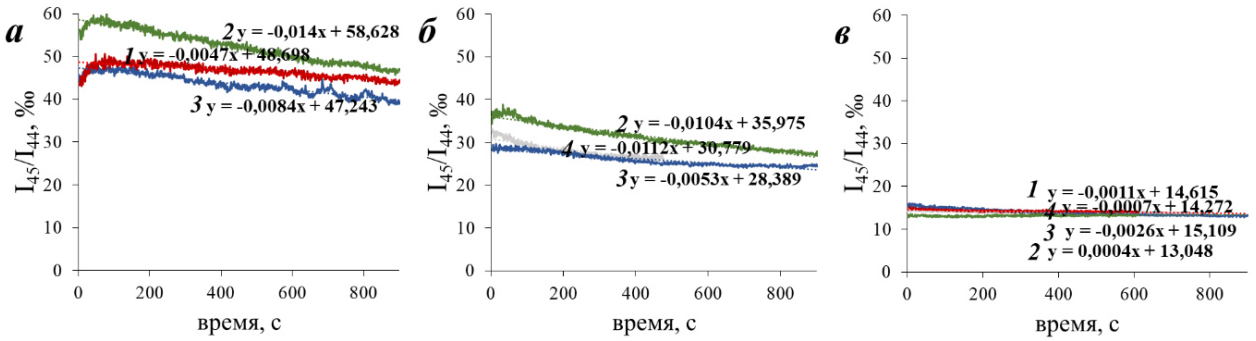


Рис. 4. Динамика изменения соотношения интенсивности пиков I_{45}/I_{44}, где I_{45} пропорционально содержанию изотопов углерода ^{13}C, а I_{44} – ^{12}C, в процессе метаболизации дрожжами: а – листа пшеницы; б – листа амаранта; в – контроль (без растительного материала) при облучении светом различного спектрального состава: 1 – красный, 2 – зеленый, 3 – синий, 4 – белый свет

В качестве характеристики изменения соотношения изотопов углерода в процессе метаболизации дрожжами листьев пшеницы и амаранта под различным спектром освещения были рассчитаны угловые коэффициенты линейного изменения отношения I_{45}/I_{44} (табл. 2). Для пшеницы наибольшее отклонение данного соотношения –0,0140 было характерно при облучении зеленым светом, влияние синего света было в 1,7 раза меньше, красного – в три раза меньше, воздействие белого света было минимальным. Можно предположить, что более высокая скорость обеднения газового реакционного объема тяжелым изотопом ^{13}C связана с более интенсивной его ассимиляцией листьями. Выявленное более значительное обогащение изотопом ^{13}C при облучении синим светом по сравнению с белым соотносится с результатами, раннее полученными для растений с C_3-типом фотосинтеза. Для амаранта наибольшее изменение углового коэффициента отношения I_{45}/I_{44} –0,0171 было выявлено при воздействии красным светом, при облучении белым светом установлено снижение скорости в 1,5 раза, синим – в 3,2 раза, зеленым – в 1,6 раза. Можно сделать вывод, что у растений с C_4-типом фотосинтеза наиболее значительное обогащение листьев изотопом ^{13}C наблюдается при освещении красным светом.

Таблица 2. Сравнительные данные о содержании углекислого газа и целевых органических соединений после проведения реакции метаболизации дрожжами листьев пшеницы и амаранта под освещением с различным спектральным составом и скорости изменения соотношения изотопов углерода

Тест-объект	Спектр облучения	Содержание соединения в газовой фазе, ppm				Угловой коэффициент линейного изменения отношения I_{45}/I_{44}
		углекислый газ (m/z = 44)	бутанол ($m^+ - H_2O$) (m/z = 56)	ацетон (m/z = 58)	уксусная кислота (m/z = 60)	
Пшеница	1 красный	1401	1,1	1,7	0,7	–0,0047
	2 зеленый	1773	1,3	1,9	0,9	–0,0140
	3 синий	1989	1,3	1,9	0,8	–0,0084
	4 белый	2047	1,0	1,4	0,6	0,0016
Амарант	1 красный	1172	1,0	1,5	0,6	–0,0171
	2 зеленый	2928	0,9	1,5	0,6	–0,0104
	3 синий	4335	0,9	1,4	0,6	–0,0053
	4 белый	2030	0,7	1,1	0,4	–0,0112
Дрожжи	1 красный	4543	1,0	1,7	0,6	–0,0011
	2 зеленый	4454	0,9	1,4	0,6	0,0004
	3 синий	4366	1,2	2,0	1,0	–0,0026
	4 белый	5380	1,0	1,7	0,6	–0,0007
Атмосфера		546	0,4	0,8	0,3	–

Таким образом, исходя из того, что фотосинтез протекает быстрее с участием легкого изотопа углерода ^{12}C (Галимов, 1968), можно предположить, что наибольшее влияние на фракционирование легкого изотопа углерода листьями растений пшеницы оказал красный свет, а листьями амаранта – синий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного анализа состава газов, выделяемых при метаболизации растительных тканей дрожжами, установлено, что спектральный состав света при облучении фотосинтезирующих листьев влияет на изотопное фракционирование соединений углерода. С применением биологического метода подготовки проб в условиях динамического измерения изотопного состава метаболических газов определены и оценены скорости изменения изотопного отношения углерода $^{13}C/^{12}C$ в зависимости от спектральных характеристик освещения. Выявлено более значительное обогащение изотопом ^{13}C листьев пшеницы с C_3-типом фотосинтеза при облучении синим светом и листьев амаранта с C_4-путем ассимиляции углерода при воздействии красным светом по сравнению с другими областями спектра.

Предложенный метод пробоподготовки с метаболизацией водорастворимых компонентов растительных тканей дрожжами и последующими масс-спектрометрическими измерениями позволяет использовать его как альтернативный и малозатратный метод в физиолого-биохимических исследованиях растений.

Список литературы

Аладов А.В., Бирючинский С.Б., Валюхов В.П., Закгейм А.Л., Тальнишних Н.А., Черняков А.Е. Динамически управляемая система освещения светодиодами с широким диапазоном цветовых температур (2800–10000 К) и высоким качеством цветопередачи ($R_A > 90$) // Светотехника. 2016. № 6. С. 19–25.

Воскресенская Н. П. Фотосинтез и спектральный состав света. М.: Наука, 1965. 311 с.

Галимов Э.М. Геохимия стабильных изотопов углерода. М.: Изд-во Недра, 1968. 226 с.

Ивлев А.А., Товстыко Д.А., Шмаков А.С., Ломакин М.П., Литвинский В.А., Слепцов Н.Н., Тараканов И.Г., Пржевальский Н.М. Влияние света с разным диапазоном длин волн на изотопный состав углерода биомассы листа растений (на примере салата сорта Афицион) // Доклады ТСХА. 2021. С. 383–387.

Кулешова Т.Э., Павлова Е.С., Галль Н.Р. Фракционирование изотопов углерода 13C/12C из углекислого газа атмосферы в продукты фотосинтеза в листьях растений в зависимости от спектральных характеристик световой среды // Письма в Журнал технической физики. 2020. Т. 46. № 16 (163). С. 19–22.

Кулешова Т.Э., Павлова Е.С., Титов Ю.А., Кузьмин А.Г., Галль Н.Р. Пробоподготовка для масс-спектрометрического анализа фракционирования изотопов 13C/12C из окружающей среды в углеродный пул растений // Научно-технические ведомости СПбГПУ. Физико-математические науки. 2019. Т. 12. № 4. С. 69–78. DOI: 10.18721/JPM.12407

Лазеева Г.С., Петров А.А., Сирота Л.Б. Спектрально-изотопный метод в агрохимии и биологии. СПб.: Издательство С.-Петербургского университета, 1999. 448 с.

Меледина Т.В., Давыденко С.Г. Дрожжи Saccharomyces cerevisiae. Морфология, химический состав, метаболизм: Учеб. пособие. СПб.: Университет ИТМО, 2015. 88 с.

Панова Г.Г., Удалова О.Р., Канаш Е.В., Галушко А.С., Кочетов А.А., Прияткин Н.С., Архипов М.В., Черноусов И.Н. Основы физического моделирования “идеальных” агроэкосистем // Журнал технической физики. 2020. № 90(10). С. 1633–1639.

Полевой В.В. Физиология растений: Учеб. для биол. спец. вузов. М.: Высшая школа, 1989. 464 с.

Рейвн П., Эверт Р., Айкхорн С. Современная ботаника: В 2-х томах. М.: Мир, 1990. Т. 1. 347 с.

Титов Ю.А., Нуждаев А.А., Кузьмин А.Г., Кузьмин Ю.Д. Портативный масс-спектрометр МС7-200 для определения состава свободного газа гидротермальных систем в полевых условиях // Вулканизм и связанные с ним процессы. 2020. С. 216–218.

Федулов Ю.П., Подушин Ю.В. Фотосинтез и дыхание растений: Учеб. пособие. Краснодар: КубГАУ, 2019. 101 с.

Эдварс Д., Уокер Д. Фотосинтез С3- и С4-растений: механизмы и регуляция. М.: Мир, 1986. 590 с.

Bello-Bello J.J., Perez-Sato J.A., Cruz-Cruz C.A., Martinez-Estrada E. Light-emitting diodes: Progress in plant micropropagation // InTech, 2017. Vol. 6. № 1. pp. 93–103. DOI: 10.5772/67913

Cayle T., Emerson R. Effect of Wave-Length on the Distribution of Carbon-14 in the Early Products of Photosynthesis // Nature. 1957. Vol. 179. № 4550. pp. 89–90.

Li, Y., Xin, G., Liu, C., Shi, Q., Yang, F., & Wei, M. Effects of red and blue light on leaf anatomy, CO_2 assimilation and the photosynthetic electron transport capacity of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings // BMC plant biology. 2020. Vol. 20. pp. 1–16.

O'Leary M. H. Carbon isotope fractionation in plants // Phytochemistry. 1981. Vol. 20. №. 4. pp. 553–567.

Schidlowski M. Paleobiological and biogeochemical vestiges of early terrestrial biota: baseline for evaluation of extraterrestrial evidence // SCIENCE SERIES SUB SERIES I LIFE AND BEHAVIOURAL SCIENCES. 2005. Vol. 366. pp. 146–169.

Tarakanov I.G., Tovstyko D.A., Lomakin M.P., Shmakov A.S., Sleptsov N.N., Shmarev A.N., Litvinskiy V.A., Ivlev A.A. Effects of light spectral quality on photosynthetic activity, biomass production, and carbon isotope fractionation in lettuce, Lactuca sativa L., plants // Plants. 2022. Vol. 11. № 3. pp. 441.

References

Aladov A.V., Biryuchinskiy S.B., Valyukhov V.P., Zakgeym A.L., Tal'nishnikh N.A., Chernyakov A.Ye. Dinamicheski upravlyayemaya sistema osveshcheniya svetodiodami s shirokim diapazonom tsvetovykh temperatur (2800–10000 K) i vysokim kachestvom tsvetoperedachi (RA > 90) [Dynamically controlled LED lighting system with a wide range of colour temperatures (2800-10000 K) and high colour rendering quality (RA > 90)] // *Tsvetotekhnika*, 2016, no. 6, pp. 19–25.

Voskresenskaja N. P. *Fotosintez i spektral'nyj sostav sveta.* M.: Nauka, 1965, 311 p.

Galimov Ye.M. *Geokhimiya stabil'nykh izotopov ugleroda* [Stable carbon isotope geochemistry]. M.: Nedra, 1968, 226 p.

Ivlev A.A., Tovstyko D.A., Shmakov A.S., Lomakin M.P., Litvinskij V.A., Slepcov N.N., Tarakanov I.G., Przheval'skij N.M. Vliyaniye sveta s raznym diapazonom dlin voln na izotopnyy sostav ugleroda biomassy lista rasteniy (na primere salata sorta Afitsion). [Effect of light with different wavelength range on carbon isotope composition of plant leaf biomass biomass (on the example of lettuce cultivar Afitsion)] // *Doklady TSKhA,* 2021, pp. 383–387.

Kuleshova T.E., Pavlova Ye.S., Gall' N.R. Fraktsionirovaniye izotopov ugleroda 13S/12S iz uglekislogo gaza atmosfery v produkty fotosinteza v list'yakh rasteniy v zavisimosti ot spektral'nykh kharakteristik svetovoy sredy [$^{13}C/^{12}C$ carbon isotope fractionation between atmospheric carbon dioxide and photosynthesis products in plant leaves as affected by the spectral composition of lighting] // *Pis'ma v Zhurnal tekhnicheskoy fiziki*, 2020, vol. 46, no. 16(163), pp. 19–22.

Kuleshova T.E., Pavlova Ye.S., Titov Yu.A., Kuz'min A.G., Gall' N.R. Probopodgotovka dlya mass-spektrometricheskogo analiza fraktsionirovaniya izotopov 13S/12S iz okruzhayushchey sredy v uglerodnyy pul rasteniy [Sample preparation for mass spectrometric analysis of 13C/12C isotope fractionation from the environment into the carbon pool of plants] // Nauchno-tekhnicheskiye vedomosti SPbGPU. Fiziko-matematicheskiye nauki, 2019, vol. 12, no. 4, pp. 69–78. DOI: 10.18721/JPM.12407

Lazeyeva G.S., Petrov A.A., Sirota L.B. *Spektral'no-izotopnyy metod v agrokhimii i biologii* [Spectral isotope method in agrochemistry and biology]. SPb.: Izdatel’stvo S.- Peterburgskogo universiteta, 1999, 448 p.

Meledina T.V., Davydenko S.G. *Drozhzhi Saccharomyces cerevisiae. Morfologiya, khimicheskiy sostav, metabolizm: Ucheb. posobiye* [Yeast Saccharomyces cerevisiae. Morphology, chemical composition, metabolism: Textbook]. SPb.: Universitet ITMO, 2015, 88 p.

Panova G.G., Udalova O.R., Kanash Ye.V., Galushko A.S., Kochetov A.A., Priyatkin N.S., Arkhipov M.V., Chernousov I.N. Osnovy fizicheskogo modelirovaniya «ideal'nykh» agroekosistem [Fundamentals of physical modelling of «ideal» agroecosystems] // *Zhurnal tekhnicheskoy fiziki*, 2020, no. 90 (10), pp. 1633–1639.

Polevoy V.V. Fiziologiya rasteniy: Ucheb. dlya biol. spets. vuzov [Plant Physiology: Textbook for Biological Specialities of Higher Education Institutions]. M.: Vysshaya shkola, 1989, 464 p.

Reyvn P., Jevert R., Ajkhorn S., *Sovremennaya botanika: V 2-kh tomakh* [Biology of Plants in 2 vol.]. M.: Mir, 1990, vol. 1, 347 p.

Titov Yu.A. Nuzhdaev A. A., Kuz'min A. G., Kuz'min Yu. D. Portativnyy mass-spektrometr MS7-200 dlya opredeleniya sostava svobodnogo gaza gidrotermal'nykh sistem v polevykh usloviyakh [Portable mass spectrometer MS7-200 for determination of free gas composition of hydrothermal systems in the field] // *Vulkanizm i svyazannyye s nim protsessy*, 2020, pp. 216–218.

Fedulov Yu.P., Podushin Yu.V. *Fotosintez i dykhaniye rasteniy: Ucheb. posobiye* [Photosynthesis and respiration of plants: Textbook]. Krasnodar: KubGAU, 2019, 101 p.

Edvars D., Uoker D. *Fotosintez C3- i C4-rasteniy: mekhanizmy i regulyatsiya* [Photosynthesis of C3- and C4-plants: mechanisms and regulation]. M.: Mir, 1986, 590 p.

Bello-Bello J.J., Perez-Sato J.A., Cruz-Cruz C.A., Martinez-Estrada E. Light-emitting diodes: Progress in plant micropropagation // InTech, 2017, Vol. 6, no. 1, pp. 93–103. DOI: 10.5772/67913

Cayle T., Emerson R. Effect of Wave-Length on the Distribution of Carbon-14 in the Early Products of Photosynthesis // Nature, 1957, Vol. 179, no. 4550, pp. 89–90.

Li, Y., Xin, G., Liu, C., Shi, Q., Yang, F., & Wei, M. Effects of red and blue light on leaf anatomy, CO_2 assimilation and the photosynthetic electron transport capacity of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings // BMC plant biology, 2020, Vol. *20*, pp. 1–16.

O'Leary M. H. Carbon isotope fractionation in plants // Phytochemistry, 1981, Vol. 20, no. 4, pp. 553–567.

Schidlowski M. Paleobiological and biogeochemical vestiges of early terrestrial biota: baseline for evaluation of extraterrestrial evidence // SCIENCE SERIES SUB SERIES I LIFE AND BEHAVIOURAL SCIENCES, 2005, Vol. 366, pp. 146–169.

Tarakanov I.G., Tovstyko D.A., Lomakin M.P., Shmakov A.S., Sleptsov N.N., Shmarev A.N., Litvinskiy V.A., Ivlev A.A. Effects of light spectral quality on photosynthetic activity, biomass production, and carbon isotope fractionation in lettuce, Lactuca sativa L., plants // Plants, 2022, Vol. 11, no. 3, pp. 441.