

14.2

Фракционирование изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ из углекислого газа атмосферы в продукты фотосинтеза в листьях растений в зависимости от спектральных характеристик световой среды

© Т.Э. Кулешова, Е.С. Павлова, Н.Р. Галль

Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН, Санкт-Петербург, Россия
E-mail: www.piter.ru@bk.ru

Поступило в Редакцию 10 апреля 2020 г.

В окончательной редакции 12 мая 2020 г.

Принято к публикации 14 мая 2020 г.

Проведено исследование влияния спектральных характеристик излучения, приходящего на растения в процессе их развития, на распределение изотопов углерода между атмосферным углекислым газом и первичными продуктами фотосинтеза в листьях растений. Разница между изотопным составом углерода в воздухе около растений и в их листьях меняется в пределах от 7 до 19‰ в зависимости от спектрального состава света, причем увеличение доли красной составляющей приводит к обогащению листьев легким изотопом углерода ^{12}C . Эта разница отражает степень фракционирования изотопов в ходе жизнедеятельности растений, характеризует скорость ассимиляции углерода за счет протекания фотосинтетических реакций.

Ключевые слова: изотопы углерода, фракционирование, растения, спектр излучения.

DOI: 10.21883/PJTF.2020.16.49848.18333

Фракционирование изотопов углерода растениями изучалось многими исследователями [1–4]. Наиболее известным описанным изотопным эффектом в жизнедеятельности растений является различие в изотопных характеристиках для синтезируемого органического вещества в ходе фотоассимиляции атмосферной углекислоты — так называемые C_3 - и C_4 -механизмы фотосинтеза [5]. Данные типы фотосинтеза обусловлены разным количеством углерода, вовлеченного в метаболизм: первичными продуктами фиксации CO_2 и восстановления являются трех- (C_3 -путь) и четырехуглеродные соединения (C_4 -путь обеспечивает более полное усвоение CO_2) [6]. Между тем внутри каждой из этих групп различия изотопного состава довольно велики: диапазон $\delta^{13}\text{C}$ для C_3 -растений варьируется от -23 до -38 промилле (‰), а для C_4 -растений — от -6 до -23 ‰ [7], и природа их совершенно неясна. Поскольку предположительно дифференциация изотопов углерода происходит на начальных этапах фотосинтеза за счет предпочтительного поглощения $^{12}\text{CO}_2$ из атмосферного воздуха и извлечения фракции, обогащенной изотопом ^{12}C , из растворенного в цитоплазме CO_2 в процессе синтеза органических соединений [8], наибольший интерес представляют исследование распределения изотопов между воздухом и первичными продуктами фотосинтеза — простыми сахарами, что определяется реакционной способностью молекул различного изотопного состава [9,10], и влияние на этот процесс ключевых жизнеобеспечивающих внешних условий, таких как световая среда.

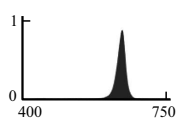
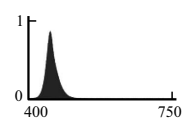
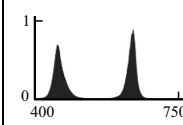
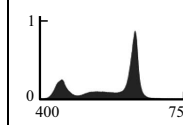
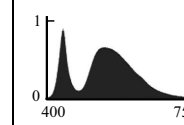
Таким образом, цель настоящей работы заключается в изучении влияния вариаций спектрального состава световой среды на изотопный состав углерода в углекислом

газе, окружающем растения, и в тканях растительного организма.

Исследование влияния спектральных характеристик световой среды на взаимообмен изотопов углерода между атмосферным воздухом и углеродным пулом растений проводилось в разработанном лабораторном фитотроне [11] с использованием пяти камер со встроенными светодиодными модулями, излучающими красный, синий, красно-синий, красно-бело-синий и холодный белый (5000 К) свет и нормированными на количество светодиодов (15 штук в камере). Спектры излучения и плотности фотосинтетического потока фотонов (PPFD) для использованных источников света представлены в таблице. В качестве фитотест-объекта для исследования был выбран овес посевной (*Avena sativa L.*), относящийся к растениям с C_3 -механизмом фотосинтеза. Для каждой камеры использовались три группы по 50 семян в каждой. В качестве почвозаменителя для выращивания овса служил гидрогель — пространственно-сшитый гель полиакриламида и полиакрилата калия с размером частиц 1–4 мм (ООО „Люкон“, Россия), дополнительное минеральное питание не вносилось. Измерения проводились на ранних этапах развития овса (13–14 день) с целью реализации влияния только лимитирующего фактора — спектральных характеристик облучения.

Для определения отношения $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в атмосферном углекислом газе, вовлеченном в жизнедеятельность растения, и в синтезируемом в процессе фотосинтеза в листьях органическом веществе была создана специализированная система сбора и подготовки пробы [12]. Потребность в такой пробоподготовке обусловлена рядом условий, необходимых для проведения изотопного масс-спектрометрического анализа: вещество должно на-

Влияние света с различными спектральными характеристиками, приходящего на растения в процессе их роста, на изотопный состав углерода в атмосферном углекислом газе около растительного организма и в фотосинтезирующих органах (листьях)

Параметр	Свет				
	Красный	Синий	Красно-синий	Красно-бело-синий	Холодный белый
Количество светодиодов	15	15	9 красных, 6 синих	9 красных, 3 белых, 3 синих	15
Форма спектра излучения в диапазоне 400–750 nm					
PPFD, $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	40	44	71	71	175
$\delta^{13}\text{C}_{\text{atm}}$, ‰	-16.4 ± 0.7	-20.2 ± 0.4	-16.1 ± 0.5	-17 ± 1	-18 ± 5
$\delta^{13}\text{C}_{\text{leaf}}$, ‰	-31 ± 1.3	-29 ± 2	-35 ± 1.2	-31.6 ± 0.6	-25 ± 0.3
$\Delta\text{C} = \delta^{13}\text{C}_{\text{atm}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{leaf}} $, ‰	14.6 ± 1.5	8.8 ± 2	18.9 ± 1.3	14.6 ± 1.2	7 ± 5

ходиться в газовой фазе (CO_2) и концентрация целевого вещества в пробе должна быть более 1%. Кроме того, созданная специализированная пробоподготовка позволила обеспечить отсутствие интерференций с микропримесями органических веществ, присутствующих в атмосфере: суммарная доля недоокисленной органики не превышает 10 ppb от объема образовавшегося углекислого газа.

Проведение масс-спектрометрического анализа изотопного состава углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в углекислом газе, вовлеченном в жизнедеятельность растения, и в органическом веществе листовых тканей включает в себя следующие этапы (см. рисунок).

1. Помещение растения в герметичную прозрачную для света камеру, формирование в ней микроклимата за счет ассимиляции CO_2 из окружающей среды в заданных экспериментальных условиях освещения в течение ~ 1800 s — времени, необходимого для вовлечения в процесс фотосинтеза всего объема CO_2 , расположенного в камере объемом 3000 cm^3 , в предположении, что 1 cm^2 листовой поверхности за час поглощает 0.07 cm^3 углекислого газа [13].

2. Затемнение камеры и обеспечение темнового режима: растение переходит в состояние „покоя“, поглощения света и CO_2 не происходит, газовый состав окружающей растение среды стационарен; отбор пробы начинается непосредственно после начала затемнения.

3. Отбор пробы газовой смеси, находящейся около неосвещаемого растения, и ее обогащение углекислым газом в течение времени, необходимого для увеличения концентрации CO_2 до величины 1–3% (в нашем случае ~ 900 s для емкости для пробоотбора объемом 235 cm^3), с помощью созданной установки для концентрирования углекислого газа, окружающего растение и вовлеченного в его жизнедеятельность, путем циркуляции газовой смеси со скоростью не более $0.5 \text{ m}^3/\text{h}$ через область с

температурным режимом, обеспечивающим кристаллизацию CO_2 [12].

4. Перевод углерода, содержащегося в простых сахарах тканей растения, в газообразное состояние путем предложенной методики окисления листа дрожжами с образованием CO_2 [12].

5. Измерение изотопного состава углерода в полученных пробах на изотопном масс-спектрометре „Хеликомасс“ [14]. Для обеспечения необходимой точности измерения изотопных отношений и исключения приборных факторов для оценки изотопного состава элемента использовался общепринятый метод относительной оценки $\delta^{13}\text{C}$ (в ‰) — сравнения величин R_s (отношение $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ для образца) и R_{PDB} (отношение $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ для международного стандарта PDB): $\delta^{13}\text{C} = (R_s/R_{\text{PDB}} - 1) \cdot 1000$.

Эксперимент по влиянию спектральных характеристик излучения на фракционирование $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ из атмосферного CO_2 в органическое вещество овса повторялся 7 раз, каждый эксперимент длился 14 дней. Результаты измерений представлены в таблице. Полученные значения $\delta^{13}\text{C}_{\text{atm}}$ для газовой смеси вблизи растения, потенциально вовлеченной в его метаболизм, варьируются в пределах от -16 до -20 ‰. Наибольшее количество легкого изотопа ^{12}C остается в атмосферной среде вблизи растения при его облучении в процессе роста синим и холодным белым светом, где доля синего излучения также значительна. Повышение количества тяжелого изотопа в воздухе около растения при освещении красным, красно-синим и красно-бело-синим светом может быть связано как с более быстрой ассимиляцией легкого изотопа тканями растения, так и с включением и ускоренным протеканием процессов фотодыхания — выделения уже фракционированного в процессе фотосинтеза углекислого газа на темновой стадии.

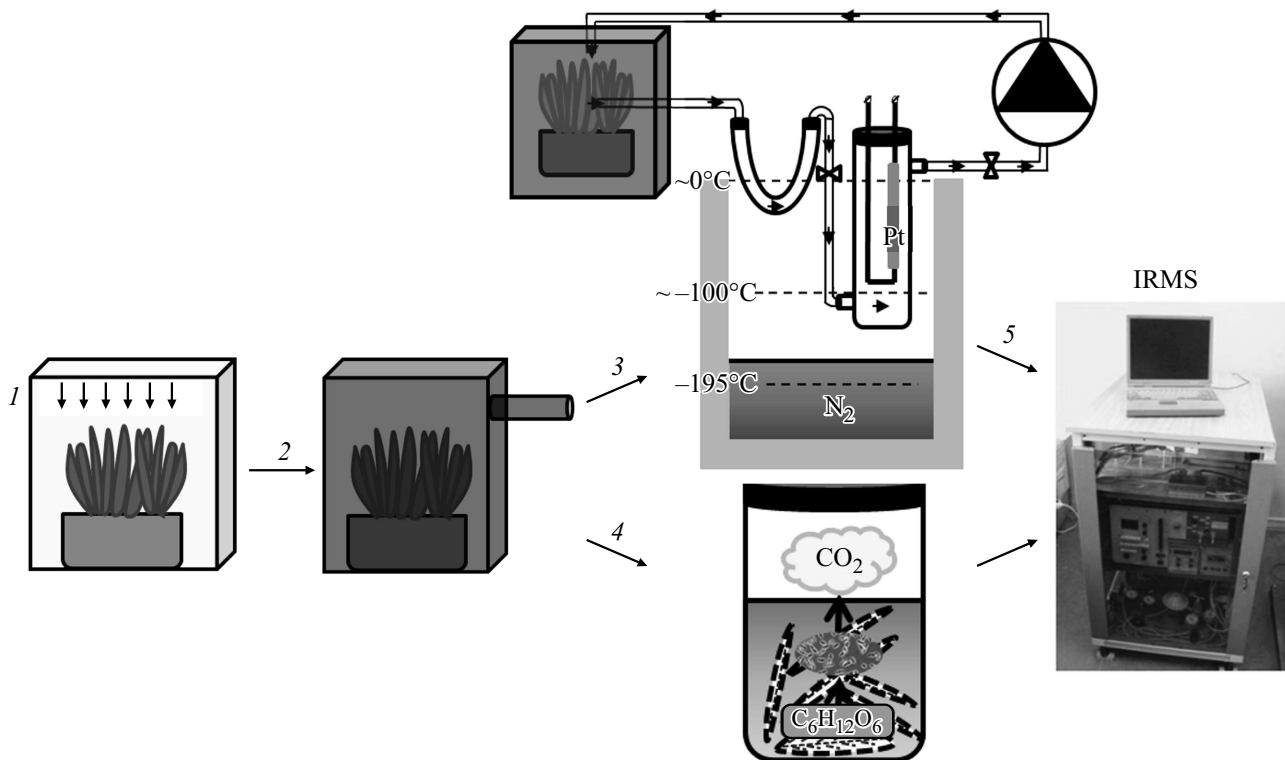


Схема проведения эксперимента по исследованию разницы изотопного состава углерода в воздухе и тканях растений. 1 — помещение исследуемого образца в экспериментальную световую среду, осуществление фотосинтеза, 2 — обеспечение темнового режима, остановка световых реакций, фиксация содержания углекислого газа, 3 — концентрирование CO_2 окружающего растения вымораживанием в парах азота, 4 — газификация тканей растения путем проведения реакции окисления дрожжами, 5 — масс-спектрометрический анализ изотопного состава углерода газовой смеси около растения и простых сахаров, синтезируемых в процессе фотосинтеза.

Значения $\delta^{13}\text{C}_{leaf}$ для углеродсодержащих соединений в листьях растения меняются от -25 до -35% в зависимости от спектра излучения, приходящего на растение в процессе его развития. Для изотопного состава листьев наблюдается накопление ^{12}C в случае облучения красным светом и при добавлении в спектр белого и синего, так что красное излучение остается доминирующим (в противоположность ситуации с отношением $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в атмосферном CO_2). При освещении синим наблюдается повышенное содержание изотопа ^{13}C в листьях. Полученный результат соответствует представлениям о более высокой реакционной способности $^{12}\text{CO}_2$: листья накапливают изотоп ^{12}C , с которым реакция фотосинтеза протекает быстрее, а в воздушной среде остается менее интенсивно поглощаемый тяжелый изотоп ^{13}C .

Перераспределение изотопов углерода ^{12}C и ^{13}C между атмосферным воздухом, окружающим растение, и органическим веществом в тканях растения может быть охарактеризовано величиной $\Delta\text{C} = |\delta^{13}\text{C}_{atm} - \delta^{13}\text{C}_{leaf}|$, описывающей разницу между изотопным составом воздушной среды $\delta^{13}\text{C}_{atm}$ и листьев растений $\delta^{13}\text{C}_{leaf}$. Значения ΔC (см. таблицу) меняются в пределах от 7 до 19‰: при освещении с преобладанием красной составляющей оно составляет $\sim 15\%$, а синей $\sim 9\%$. Чем больше присутствие красной составляющей спектра,

тем ярче выражена разница. Можно предположить, что скорость обмена изотопами между окружающей средой и тканями растений, потенциально описываемая ΔC , коррелирует с протеканием фотосинтетических реакций и ассимиляцией углекислого газа.

Видимо, описанные в работе эффекты могут быть причиной достаточно широких полос отношений $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, характерных для C_3 - и C_4 -растений, произрастающих в природе в климатических условиях с существенно различающейся световой средой. В первую очередь, на наш взгляд, такие изотопные эффекты происходят на этапе ассимиляции атмосферного углекислого газа, связаны с различиями в способе фиксации CO_2 и степени открытости устьиц. Хотя, по-видимому, различия в скоростях протекания биохимических реакций, описанные в [15], также могут вносить свой вклад, но уже относительно всего углеродного пула.

Таким образом, впервые установлены различия в усвоении изотопов углерода из воздуха атмосферы в зависимости от спектрального состава облучения методом сравнения изотопных отношений $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ между углекислым газом воздуха около растений и углеродсодержащими соединениями в тканях растений. Найденная зависимость является важной составляющей механизма ассимиляции углекислого газа и его преобразования в

органическое вещество в ходе фотосинтеза, что позволяет интерпретировать различия в изотопных отношениях как показатель скорости протекания реакции фотосинтеза, а разница между $\delta^{13}\text{C}$ окружающего растения воздуха, вовлеченного в его метаболизм, и $\delta^{13}\text{C}$ органического вещества в тканях растительного организма отражает степень фракционирования изотопов в ходе жизнедеятельности растений.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

- [1] *O'Leary M.H.* // *Phytochemistry*. 1981. V. 20. N 4. P. 553–567.
- [2] *Brugnoli E., Farquhar G.D.* // *Photosynthesis: physiology and metabolism* / Eds R.C. Leegood, T.D. Sharkey, S. von Caemmerer. Dordrecht: Springer, 2000. P. 399–434.
- [3] *Ehlers I., Augusti A., Betson T.R., Nilsson M.B., Marshall J.D., Schleucher J.* // *Proc. of the National Academy of Sciences USA*. 2015. V. 112. N 51. P. 15585–15590.
- [4] *Lehmann M.M., Ghiasi S., George G.M., Cormier M.A., Gessler A., Saurer M., Werner R.A.* // *J. Exp. Bot.* 2019. V. 70. N 6. P. 1829–1841.
- [5] *Зякин А.М.* Теоретические основы изотопной масс-спектрометрии в биологии. Пушино: Фотон-век, 2010. 224 с.
- [6] *Эдварс Д., Уокер Д.* Фотосинтез C_3 - и C_4 -растений: механизмы и регуляция. М.: Мир, 1986. 590 с.
- [7] *Schidlowski M.* // *Perspectives in astrobiology* / Eds R.B. Hoover, A.Yu. Rozanov, R. Paere. NATO Sci. Ser. I. V. 366. IOS Press, 2005. P. 146–169.
- [8] *Park R., Epstein S.* // *Geochim. Cosmochim. Acta*. 1960. V. 21. N 1-2. P. 110–126.
- [9] *Галимов Э.М.* Геохимия стабильных изотопов углерода. М.: Недра, 1968. 226 с.
- [10] *Хефс Й., Гриненко Л.Н.* Геохимия стабильных изотопов. М.: Мир, 1983. 200 с.
- [11] *Кулешова Т.Э., Блащенко М.Н., Кулешов Д.О., Галль Н.Р.* // *Науч. приборостроение*. 2016. Т. 26. № 3. С. 35–43.
- [12] *Кулешова Т.Э., Павлова Е.С., Титов Ю.А., Кузьмин А.Г., Галль Н.Р.* // *Науч.-техн. ведомости СПбГПУ. Физ.-мат. науки*. 2019. Т. 12. № 4. С. 69–78.
- [13] *Лебедев С.И.* Физиология растений. М.: Агропромиздат, 1988. 544 с.
- [14] *Блащенко Н.М., Шешеня Е.С., Соловьев С.М., Галль Л.Н., Саченко В.М., Заруцкий И.В., Галль Н.Р.* // *ЖТФ*. 2013. Т. 83. В. 6. С. 60–65.
- [15] *Ивлев А.А.* // *Успехи соврем. биологии*. 2011. Т. 131. № 2. С. 178–193.