

На правах рукописи



Кулешова Татьяна Эдуардовна

**ВЛИЯНИЕ СПЕКТРАЛЬНОГО СОСТАВА ОСВЕЩЕНИЯ НА
ИЗОТОПНЫЙ ОБМЕН УГЛЕРОДА, ОПТИЧЕСКИЕ И
ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА В СИСТЕМЕ АТМОСФЕРА-
РАСТЕНИЕ-ПОЧВА**

03.01.02 – Биофизика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

Санкт-Петербург – 2019

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении науки Физико-техническом институте им. А.Ф. Иоффе Российской академии наук

Научный руководитель: доктор физико-математических наук
Галль Николай Ростиславович
заведующий лабораторией физики
адсорбционно-десорбционных процессов
ФГБУН Физико-технического института
им. А.Ф. Иоффе РАН

Официальные оппоненты: доктор физико-математических наук
Сударь Николай Тобисович
профессор Высшей школы прикладной
физики и космических технологий
Института физики, нанотехнологий и
телекоммуникации, ФГАОУ ВО «Санкт-
Петербургский политехнический
университет Петра Великого»

кандидат геолого-минералогических наук
Якубович Ольга Валентиновна
доцент кафедры геохимии Института наук о
земле, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский
государственный университет»

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки Институт
фундаментальных проблем биологии РАН

Защита состоится «24» декабря 2019 года в 14:00 на заседании диссертационного совета Д212.229.25 при федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого» (195251, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, д. 29) по адресу: 194021, Санкт-Петербург, ул. Хлопина 11, корп. 1, Высшая школа биомедицинских систем и технологий.

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого» по адресу: 195251, г. Санкт-Петербург, Политехническая ул., д. 29, а также на сайте ФГАОУ ВО «СПбПУ»: <http://www.spbstu.ru>.

Автореферат разослан «__» _____ 2019 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета Д 212.229.25,
доктор технических наук



Тимофеев Андрей Николаевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы.

Комплексом взаимосвязанных процессов, определяющим развитие растений и протекание фотосинтеза, является поглощение света фотосинтетическим аппаратом растения, ассимиляция углекислого газа из атмосферы, и усвоение питательных веществ и воды из корнеобитаемой среды.

Основным физическим фактором, обеспечивающим жизнедеятельность растений, является световая среда. В условиях интенсивной светокультуры решающую роль играют спектральный состав и интенсивность фотосинтетически активной радиации (ФАР), определяющие фотосинтез, состояние пигментного аппарата, фотоморфогенез, рост и развитие, направленность биосинтеза, накопление биомассы и продуктивность растений в контролируемых условиях среды.

Понимание зависимости протекания физико-химических процессов в растении от спектральных характеристик освещения в настоящее время ограничено несогласованностью изучаемых параметров и используемых спектральных комбинаций. Углубленное изучение отдельных составляющих процесса усвоения света и связанных с этим реакций в растительном организме при его взаимодействии с окружающей средой – атмосферой и почвой, позволит расширить представления о влиянии фотосинтетически активного диапазона излучения и спектрального режима облучения. Исследование механизма действия света с определенными спектральными характеристиками ФАР на физико-химические процессы внутри растения, а также на взаимодействие растения с атмосферным воздухом и корнеобитаемой средой, является актуальной задачей как для развития фундаментальных знаний, так и для практического применения – разработки энергоэффективных искусственных источников света, обеспечивающих максимум продуктивности растительных культур в условиях закрытого грунта. Основным путем повышения урожайности, продукционного процесса, улучшения качества растительных культур являются физиологически обоснованные принципы оценки спектральной эффективности действия ФАР.

Для исследования механизма действия световой среды можно выделить три основных направления исследований, позволяющих охарактеризовать кинетику процессов, наиболее значимых для осуществления фотосинтеза и развития растения:

1. Изучение процессов поглощения света фотосинтетическими пигментами в листьях растений. В связи с тем, что пигменты функционируют в живом листе в жидкой среде и могут образовывать соединения с другими клеточными структурами, проведения измерений на экстрагированных пигментах *in vitro* в растворах для понимания процессов поглощения света растениями является недостаточным. Измерение оптических характеристик листа растения *in vivo* в процессе его роста и развития дает существенно более полную и правильную информацию о потребностях растений в энергии в области ФАР и скорости усвоения светового потока.

2. Исследование взаимодействия растения с атмосферой – ассимиляции углекислого газа и синтеза органических соединений в процессе роста и развития растения. Превращения углерода, захваченного из воздушной среды, в ходе биохимических реакций в органическое вещество тканей растительного организма сопровождается значительным фракционированием легкого изотопа углерода ^{12}C . При этом изотопные отношения $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ углекислого газа внешней среды и синтезируемых растением углеводов будут существенно

различаться в зависимости от внешних условий, и их измерение в динамике роста растения даст объективную информацию о скорости протекания фотохимических реакций.

3. Исследование взаимодействия растения с почвой путем измерения биоэлектрических потенциалов (БЭП) его корневой системы, отражающих характер протекания в реальном времени метаболических процессов, коррелирующих со световым режимом и связанных с водным режимом, транспортом ионов и минеральных веществ в корнеобитаемой среде. Изменение биопотенциалов растений с течением времени, представленное в виде графиков – «электрофитограмм» является объективным показателем состояний растительных организмов, и могут использоваться как параметр для выбора путей стимуляции их развития. Кроме того, генерируемые при этом биотоки могут быть основой для создания технологии получения электроэнергии с помощью комбинации высших растений и микробной среды почвы – растительно-микробных топливных элементов (РМТЭ). Электроэнергия при этом производится за счет переработки микробами органических веществ, выделяемых в ризосфере, и создания корневой системой растений градиента потенциала, связанного с транспортом ионов и минеральных веществ.

Таким образом, исследование влияния спектрального состава освещения на фотосинтез листьев растений, изотопный состав углерода при фотосинтезе в системе растение – атмосфера и контроль оптимальных условий в системе растение – почва является крайне актуальной задачей. Для ее решения необходимо проведение исследований в развивающемся (интактном) растении без его повреждения и в любой момент времени для изучения скорости световой конверсии – преобразования растениями энергии света и усвоенного углерода в процессе фотосинтеза в биоэлектричество, генерируемое за счет комплекса процессов в ризосферной зоне, для чего необходимо создание новых методов фитомониторинга и устройств для их осуществления.

Цель работы.

Исследование влияния спектрального состава освещения на свойства растений, в наибольшей степени характеризующие кинетику процессов, значимых для осуществления фотосинтеза и развития растения, а именно оптические характеристики листьев растения, скорость ассимиляции изотопов углерода ^{12}C и ^{13}C из углекислого газа атмосферы в углеродный пул и конверсии фотосинтетически активной радиации в электрический ток в ризосферной зоне, и оценка их роли в механизме развития растения.

Задачи, решаемые при выполнении работы:

1. Выбор и обоснование диапазона изменений комплекса варьируемых параметров световой среды – спектральных характеристик, интенсивности и суточной экспозиции и их реализации в виде климатической камеры для выращивания растений.

2. Определение изменения оптических свойств листьев растений в выбранном диапазоне спектрального состава освещения в процессе их развития, включая как спектрофотометрические измерения спектров поглощения светочувствительных пигментов *in vitro*, так и создание метода и установки для проведения анализа светопоглощательной способности листьев *in vivo*.

3. Получение данных об изотопном отношении $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ одновременно как в атмосферном углекислом газе около растения, так и в тканях растения в ходе его жизнедеятельности в условиях различного спектра освещения и разработка метода сбора и подготовки пробы для проведения соответствующего масс-спектрометрического анализа.

4. Получения данных о биоэлектрических потенциалах (БЭП) в системе почва-растение в условиях нормального функционирования растения без травматического стресса, отражающих характер протекания метаболических процессов в реальном времени и коррелирующих со световым и водным режимами. Разработка метода и реализующего его устройства, позволяющего проводить неинвазивные измерения, создание электродных систем, биосовместимых с корневой системой растения, пригодных для длительного проведения высокоточных измерений и автоматизации регистрации биопотенциалов в виде электрофитограмм.

Методы исследования.

В качестве методов исследования использовались: оптическая спектроскопия, изотопная и химическая масс-спектрометрия и электрические измерения биопотенциалов и токов в электродах.

Объекты исследования.

В работе исследовались как модельные растения – хлорофитум хохлатый, так и сельскохозяйственно значимые культуры – салаты сорта Азарт, Тайфун, овес посевной, ячмень яровой сорта Ленинградский.

Научная новизна работы.

1. На основе измеренных спектров поглощения листьев *in vivo* и светочувствительных пигментов *in vitro* в видимом диапазоне частот в зависимости от спектральных характеристик освещения и интенсивностей фотосинтетического потока в интервале от 40 $\mu\text{моль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ до 350 $\mu\text{моль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$, как в узких диапазонах частот (красный, зеленый, синий), так и для их комбинаций и сложных спектров освещения, включающих физиологически значимые для растений длины волны, определены скорости усвоения ФАР и потребности растений в отношении поглощения квантов различной энергии. Показано, что спектр освещения, приводящий к высокой продуктивности салата (5990 г/м²), с плотностью фотосинтетического потока фотонов $\sim 25 \mu\text{моль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ в диапазоне 400-500 нм, $\sim 150 \mu\text{моль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ в 500-600 нм, $\sim 150 \mu\text{моль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ в 600-700 нм приводит к поглощению $\sim 140 \mu\text{моль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ на грамм листовой поверхности в течение 10 дней.

2. Впервые методом сравнения изотопных отношений $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ между углекислым газом воздуха около растений и в углеродном пуле растений установлено различие в усвоении изотопа углерода ^{13}C из воздуха атмосферы в зависимости от различных спектральных составов освещения. При освещении с преобладанием красной составляющей они составляют $\sim 15\%$, а синей $\sim 9\%$. 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 меру усвоения растением фотосинтетического потока, скорости усвоения CO_2 и синтеза биомассы.

3. В процессе длительных измерений по созданной методике динамики биоэлектрических потенциалов в системе почва-растение в условиях различных водного и светового режимов показано, что при переходе из темнового в световой режим возникают воспроизводимые циклические изменения БЭП порядка 20 мВ и в ответ на полив – скачкообразные изменения БЭП порядка 100-200 мВ в зависимости от степени водodefицита, изменяющиеся по

величине по градиенту глубины почвы. Предложена модель, описывающая взаимосвязь вариации биопотенциалов и тока воды и минеральных веществ из почвы в корень.

4. Разработаны экспериментальные методики и реализующие их устройства для измерений спектров поглощения листьев растений *in vivo*; для сбора и подготовки пробы для изотопного масс-спектрометрического анализа и для обеспечения неинвазивного контакта корней растений с электродной системой для измерения биоэлектрических потенциалов.

Практическая значимость работы.

Разработан комплекс методик и реализующих их устройств для исследования механизма действия света на физико-химические процессы внутри растения, на взаимодействие растения с атмосферным воздухом и корнеобитаемой средой. Создана климатическая камера – компактный фитотрон, специализированный для лабораторного использования и проведения исследований влияния световой среды – спектра, интенсивности, длительности освещения на жизнедеятельность растений. Разработана и изготовлена установка для измерения спектров поглощения листьев растений *in vivo*, адаптированная к измерениям свойств листьев, неоднородных по длине и ширине, без причинения вреда растению и позволяющая осуществлять многодневный мониторинг изменения поглощения в зависимости от периода развития и параметров внешней среды. На основе полученных характеристик светопоглощательной способности растений предложен спектр освещения, который может быть основой для создания энергоэффективных источников света с учетом реальных данных о состоянии и физиологических показателях растений. Разработана и оттестирована система сбора и подготовки пробы, позволяющая осуществлять масс-спектрометрический анализ изотопного состава углерода в тканях растений и окружающей их воздушной среде в реальном времени в ходе развития растения. Разработана эквивалентная схема измерений БЭП с учетом электрических свойств растений и установка для автоматизированного получения электрофитограмм на основе предложенного метода обеспечения неинвазивного контакта корней растений с электродной системой за счет их прорастания. Создан прототип растительно-микробного топливного элемента на основе сельскохозяйственно значимой культуры – салата.

Положения, выносимые на защиту:

1. При освещении желто-оранжевым светом с превалированием красной составляющей и добавлением ~10-20% от общей ФАР в ближнем ИК (700-1000 нм) при выращивании растений на 1N питательном растворе Кнопа приращение интегрального поглощения на прирост биомассы составило $\sim 140 \mu\text{моль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ на грамм листовой поверхности в течение 10 дней и было наиболее эффективным из всех использованных спектров освещения.
2. Разность между изотопным составом углекислого газа в воздухе около растений и в тканях растений в зависимости от спектра освещения изменяется в 2-3 раза, причем скорость обогащения тканей растений легким изотопом углерода из атмосферного воздуха возрастает при увеличении красной составляющей в спектре.
3. В условиях достаточной влажности почвы биоэлектрический потенциал в среднем постоянен и флуктуирует стохастически в интервале от 245 мВ до 275 мВ, значение биопотенциала падает почти в два раза при уменьшении влажности до критической и восстанавливается после полива с задержкой в интервале 3-3000 с, увеличивающейся с ростом водodefицитного периода.

4. Биоэлектрический потенциал в системе почва-растение циклически изменяется с изменением светового режима: равномерно увеличивается на ~10% при включении света и в середине светового цикла равномерно падает до прежнего уровня ~240 мВ, соответствующего темновой стадии.

Достоверность результатов работы обеспечивается использованием современного научного оборудования, высокопрецизионными изотопными измерениями с точностью не хуже 0,1 %, измерениями оптических спектров с разрешением не хуже 2 нм, проведением экспериментов с достаточной воспроизводимостью; статистической обработкой полученных данных с заданной вероятностью и необходимым количеством повторных испытаний; сопоставлением результатов, полученных разными методами, а также сравнением с аналогичными результатами, полученными другими авторами.

Апробация работы. По теме диссертации опубликовано 18 печатных работ, из них 6 статей в рецензируемых журналах. Основные положения и результаты диссертационной работы представлялись и докладывались на следующих научных и научно-практических конференциях: Международной зимней школе по физике полупроводников «Свет, полупроводники и технологии» (Зеленогорск, 2015), IV Всероссийском конгрессе молодых ученых (СПб: ИТМО, 2015), Первой российской конференции «Физика – наукам о жизни» (СПб.: ФТИ, 2016), VII Всероссийской конференции с международным участием «Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы» (Москва, 2017), Второй российской конференции с международным участием «Физика – наукам о жизни» (СПб.: ФТИ, 2017), VIII Международном конгрессе «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине» (СПб, 2018), Международной конференции Физика (СПб: ФТИ, 2018), VI Съезде биофизиков России (Сочи, 2019), II Международной научной конференции «Тенденции развития агрофизики: от актуальных проблем земледелия и растениеводства к технологиям будущего», посвященной памяти академика Е.И. Ермакова (СПб: АФИ, 2019).

Работа докладывалась на семинарах лаборатории физики адсорбционно-десорбционных процессов, Санкт-Петербург, «Фракционирование изотопов $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и вариации светопоглощения пигментов растений в ходе фотосинтетических реакций под действием света различного спектрального состава» 20 июня 2017 г., «Разработка устройства для концентрирования углекислого газа вымораживанием для измерения изотопных отношений углерода в процессе фотосинтеза и фотодыхания растений» 12 декабря 2017 г., «Спектрометрический метод измерения поглощения света листьями растений» 14 июня 2018 г., «Неинвазивное измерение биоэлектрических потенциалов растений» 04 декабря 2018 г.

Работа выполнялась при финансовой государственной поддержке молодых российских ученых (стипендия Президента Российской Федерации для молодых ученых и аспирантов, осуществляющих перспективные научные исследования и разработки по приоритетным направлениям модернизации российской экономики) и поддержке правительства Санкт-Петербурга и комитета по науке и высшей школе (грант для студентов и аспирантов ВУЗ, расположенных на территории Санкт-Петербурга).

Личный вклад: Личный вклад автора заключается в получении всех представленных в диссертации экспериментальных результатов. Автором был осуществлен анализ литературных источников по теме диссертации, разработаны, изготовлены и запущены

экспериментальные установки, кроме изотопного и химического масс-спектрометров и регистрирующей части оптического спектрографа, проведено их тестирование, предложены и проработаны методики, использованные в работе, осуществлена подготовка проб, проведен анализ и обработка массива экспериментальных данных, предложены алгоритмы расчета ключевых параметров. Автор самостоятельно выдвигала гипотезы, ставила задачи, предлагала пути их достижения, активно обсуждала полученные результаты, интерпретировала данные, писала тексты научных публикаций.

Структура диссертации: диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения, списка литературы из 198 наименований. Текст диссертации изложен на 180 страницах, содержит 58 рисунков, 48 формул и 20 таблиц.

Содержание работы

Во **Введении** обоснована актуальность проведенных исследований, сформулированы цель и научная новизна работы, перечислены основные положения, выносимые на защиту.

Первая глава посвящена обзору существующих методов фитомониторинга. В §1.1 описана методология фитомониторинга, позволяющая развить представление о фундаментальных закономерностях взаимодействия систем корень-почва и лист-атмосфера. §1.2 посвящен описанию условий выращивания растений, необходимым для осуществление достоверного и воспроизводимого исследования: модели регулируемой агроэкосистемы, фитотронов. В §1.3 приведены основные показатели, используемые при исследовании фотосинтетических реакций, показана ключевая роль фотосинтетически активной радиации в развитии растений. В §1.4 даны представления о работе фотосинтетического аппарата, об отличиях оптических свойств интактных растений. В §1.5 описано значение обмена изотопами углерода между растением и атмосферой при осуществлении фотосинтеза, связанного с распределением углерода в системе почва-растение-атмосфера, реакцией растительных организмов на параметры внешних условий, метаболическими потоками углерода, характеристиками световой среды. §1.6 посвящен биоэлектрическим явлениям и влиянию внешних условий на биоэлектрические потенциалы растений. Изложены основы проведения электрофизиологических исследований, приведено описание варианта применения генерируемых биотоков – растительно-микробных топливных элементов (РМТЭ).

В **выводах по главе 1** обосновано направление исследования – перспективность выявленных показателей, играющих первостепенную роль в функционировании растений, характеризующих кинетику фотосинтеза и передвижение образованных веществ в растительном организме, и чувствительных к изменению внешних параметров. Отмечена актуальность исследования влияния спектрального состава световой среды на комплекс процессов – внутри растения (поглощение квантов света и работа фотосинтетического аппарата) и при его взаимодействии с окружающей средой – атмосферой (скорость ассимиляции углекислого газа) и почвой (минеральное питание и водный режим корневой системы, характеризующиеся биоэлектрическими потенциалами в корнеобитаемой среде).

Во **Второй главе** представлены результаты измерения спектров поглощения светочувствительных пигментов *in vitro* и листьев *in vivo* в условиях вариации интенсивности, длительности и спектров освещения, описаны разработанные методики, сконструированные и изготовленные экспериментальные установки для изучения оптических свойств листьев растений. §2.1 посвящен выбору и обоснованию диапазона

изменений параметров световой среды, описана реализующая экспериментальная установка, которая представляет собой комплекс камер для выращивания растений – лабораторный фитотрон с программируемыми светодиодными источниками облучения. Проведен расчет плотности фотосинтетического потока фотонов (PPFD – photosynthetic photon flux density), выражаемого в микромолях в секунду на м², для фитосветильников на основе полученных экспериментально спектров излучения и калиброванного источника света.

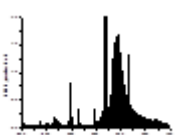
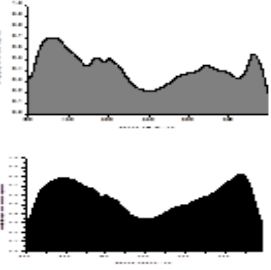
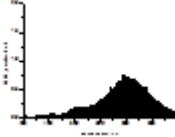
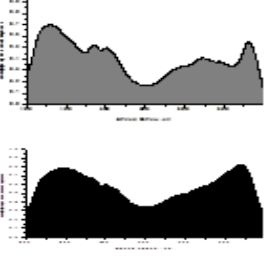
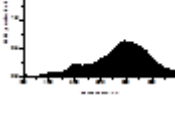
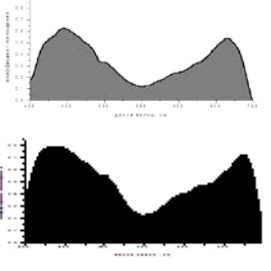
В §2.2 рассмотрена возможность использования содержания пигментов в листьях и спектры их поглощения как меру ответа организма растения на величину суммарной суточной экспозиции растений и спектра освещения. При выращивании растений в условиях светодифицита (лимитированного светового дня) изменяется не только количество светопоглощающих пигментов, но и форма спектров поглощения – возрастает относительный вклад плеча на длине волны 460 нм по сравнению с основным пиком при длине волны 430 нм, что связано с увеличением концентрации хлорофилла b по сравнению с хлорофиллом a в листьях растений. На начальных стадиях роста наблюдаются адаптивные эффекты, соответствующие увеличению количества хлорофилла, затем происходит его снижение, видимо, в результате истощения адаптивных возможностей живой системы. Действие спектра освещения выражено следующим образом: количество пигментов растет с увеличением возраста растений, освещаемых теплым белым и красно-бело-синим светом и падает для образцов, выращенных под светом с большей долей синего света. Изменение отношений максимумов поглощения показывает, что при избытке излучения в каком-либо диапазоне длин волн, пигментный аппарат растения поглощает большее количество фотонов с энергией, характерной для доминирующей области излучения, что хорошо вписывается в представления о способности к адаптации пигментной системы растительных культур, ответственной за фотосинтез. Например, при освещении синим светом, растение более приспособлено к переработке квантов, характерных для этого диапазона; и пигментный аппарат поглощает больше синей составляющей спектра. Однако имеется и противоположный процесс: при отсутствии длинноволновой части спектра освещения, фотосинтетические пигменты пытаются их уловить, повышая тем самым чувствительность к красному свету.

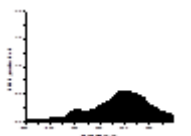
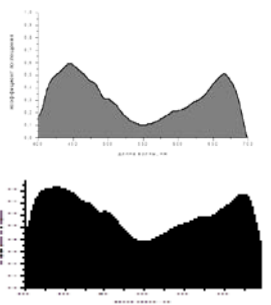

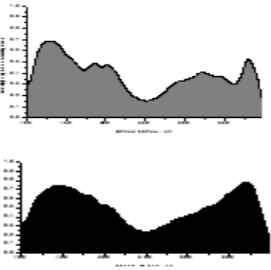

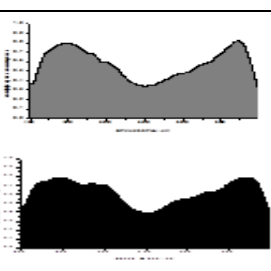

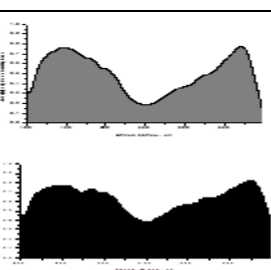
В §2.3 показано, что хотя преобразование света происходит в листьях высших растений, несомненно, в первую очередь за счет работы светочувствительных пигментов, реальное поглощение света листьями растений отличается от поглощения выделенных из них пигментов, находящихся в растворе. Для измерения спектров поглощения света листьями растений *in vivo* разработана и создана экспериментальная установка, основанная на системе измерения оптических свойств тканей, включающая в себя источник света в виде светодиодного модуля с варьируемым спектром и интенсивностью излучения в физиологически значимом для растений диапазоне, две интегрирующие сферы для захвата диффузно-отраженного от образца и прошедшего сквозь него света, ПЗС спектрометр в качестве детектора. Проведено исследование поглощения «живого» и свежесрезанного листа растения и отмечено, что их спектры поглощения в пределах 5 минут не отличаются друг от друга, однако через час после среза меняется не только интенсивность поглощения, но и форма спектра – поглощение в синей от 400 до 500 нм и красной от 665 до 685 нм частях спектра увеличивается, также наблюдается уменьшение доли поглощения в области от 630 до 660 нм по сравнению с поглощением интактного листа. Составлена «карта поглощения» поверхности листовой пластины салата от верхушки до основания. Интегральное

поглощения зависит от части листа и отличается по всей поверхности листа в пределах от 30 до 50 %.

На базе биополигона ФГБНУ АФИ исследовано влияние спектральных особенностей световой среды на фоне вариативного уровня минерального питания на оптические характеристики листовой поверхности, рост, продуктивность и биохимический состав салата. В ходе вегетационного периода салатов, освещаемых различным спектром излучения, на 21 и 31 дни развития, были сняты спектры поглощения света центральной частью и верхушкой листовой поверхности (табл. 1). Форма спектров поглощения, его сглаженность определяется коэффициентом $K=(A_{440}+A_{667})/A_{545}$ – соотношением суммы максимумов коэффициентов поглощения на длинах волн 440 нм (A_{440}) и 667 нм (A_{667}) к минимальному коэффициенту поглощения на 545 нм (A_{545}). С увеличением этого коэффициента падает продуктивность растений, следовательно, поглощение одинакового количество квантов разных энергий ведет к стимуляции и развитию пигментного аппарата, что в свою очередь повышает фотосинтез и скорость развития растений. Чем больше разница между поглощением в синей и зеленой областях спектра, тем меньше высота салата и площадь листьев.

Таблица 1 – Индекс светопоглощения для листьев салата, росшего в условиях различного по спектральному составу освещения

Источник света	Спектр освещения	PPFD, $\mu\text{моль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$			Поглощение 400-700нм 21 день→31 день			Спектры поглощения на 21 и 31 дни развития растений
		400-500нм	500-600нм	600-700нм	400-500нм, %	500-600нм, %	600-700нм, %	
S лампа ДНаТ		341±24 (+72 в ИК)			42±5%→57±3% 143→194 $\mu\text{моль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$			
		29	185	127	19→23	10→14	13→20	
Y желтый		342±24			41±6%→56±9% 140→191 $\mu\text{моль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$			
		23	156	163	19→22	9→14	13→20	
YL желтый +белый		339±24			35±5→52±5 119→176 $\mu\text{моль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$			
		32	155	142	17→23	6→12	12→17	

YG желтый +галоген		339±24 (+48 в ИК)			32±2→53±7 109→180 $\mu\text{моль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$			
		31	153	155	16→23	6→12	11→18	
P розовый		332±23			39±4%→51±11% 129→170 $\mu\text{моль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$			
		61	123	148	18→21	9→11	12→18	
W белый		325±23			58±13%→62±8% 189→201 $\mu\text{моль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$			
		69	150	106	23→24	14→16	20→21	
B белый		334±23			50±1%→62±3% 167→207 $\mu\text{моль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$			
		39	162	133	22→24	10→16	18→22	

Полученные значения суммарного поглощения в диапазоне длин волн от 400 до 700 нм варьируют от 39 до 65 %, причем наибольшая доля поглощения приходится на синюю область (400-500 нм) и составляет 16-24 %, для красной (600-700 нм) области характерны значения 8-23 % и в зеленой (500-600 нм) области листья обладают наименьшим поглощением 8-18 %. Отмечено отставание в развитии для образцов, потреблявших большее количество «красных» фотонов на ранних этапах.

Анализ данных по росту, развитию и продуктивности растений, сравнение биохимического состава растений салата показали наибольшее положительное влияние квазинепрерывного спектра в ограниченном диапазоне в желтой области с добавлением ~10-20% от общей ФАР в ближнем ИК при выращивании на 1 N питательном растворе Кнопа. Источники света по степени положительного влияния на растения их спектрального состава света расположились в ряду: лампа ДНаТ (S) >аналог лампы ДНаТ на основе светодиодов с добавлением ИК-диапазона в виде галогенного источника (YG) >светодиодный аналог лампы ДНаТ с добавлением теплого белого света и без (Y, YL)> светодиодный модуль с максимумами излучения на длинах волн 450нм, 665нм, аналог используемого в теплицах спектров освещения (P) > светодиоды с люминофором белого цвета излучения с

соотношением максимумов излучения на длинах волн 450нм к 600 нм 1:3 (В) > светодиоды белого цвета излучения с соотношением максимумов на длинах волн 450нм к 600 нм 1:1 (W).

Для оценки влияния параметров освещения на поглощение света листьями салата нами предложено использовать индекс светопоглощения $I = \Delta A / \Delta t$, описывающий приращение интегрального поглощения A на прирост биомассы m (табл. 2). Оптимальный индекс светопоглощения, характерный для наиболее продуктивных растений, показал увеличение количества поглощенной энергии фотонов на ~40% на грамм листовой поверхности растения в течение 10 дней, значение ниже 20 %/г соответствует образцам с минимальными результатами по приросту биомассы.

Таблица 2 – Индекс светопоглощения для листьев салата, росшего в условиях различного по спектральному составу освещения и разной концентрации минерального питания

Концентрация раствора Кнопа	Индекс светопоглощения при освещении различными источниками света, %/г						
	Y	P	S	W	B	YL	YG
0,5N	45±6	39±4	26±2	16±1	16±1		
0,7N	48±8	33±4	26±2		20±1		
1N	40±7	22±4	41±4	12±2	28±1	40±15	33±15

В §2.4 описана предложенная модель поглощения квантов различной энергии растениями. Измеренные с помощью разработанного метода спектры поглощения пигментов *in vitro* и листьев *in vivo* позволяют сделать заключение о скорости усвоения светового потока и влиянии особенностей спектрального состава освещения на оптические характеристики, отражающие физиологическое состояние растений. Рассмотрен механизм поглощения света в синей (400-500нм), зеленой (500-600нм), красной (600-700нм) областях спектра в виде упрощенной модели антенного комплекса (рис. 1).

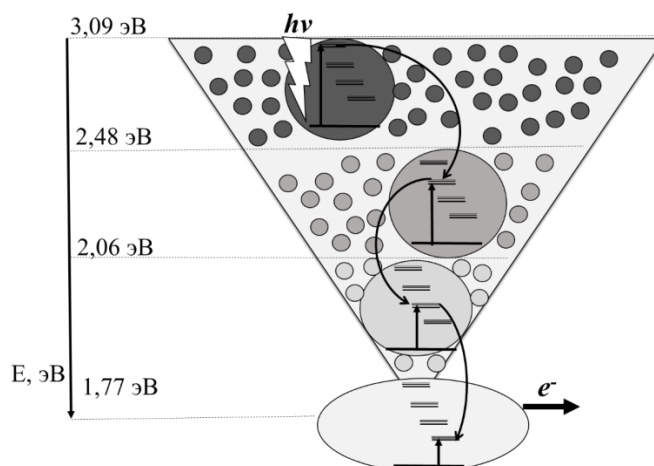


Рисунок 1 – Схема передвижения и превращения энергии фотона $h\nu$ по антенному комплексу от светособирающих пигментов к реакционному центру с переходами между возбужденными состояниями пигментов после поглощения энергии света E различных длин волн, условно разделенных на синий, зеленый и красный диапазоны

Отмечено, что наряду с высокой эффективностью усвоения света за счет обеспечения пигмент-белковыми комплексами захвата фотонов разных длин волн и транспорта энергии возбуждения в реакционные центры, в согласии с полученными экспериментальными данными, при избыточном интегральном поглощении (167 и $188 \mu\text{моль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ для вариантов

освещения белым светом) наблюдается замедленное развитие, вероятно, связанное с тем, что пигменты, возбужденные коротковолновым светом не успевают передавать энергию на пигменты, которые также перешли в возбужденное состояние, но при поглощении фотонов с большей длиной волны. Возникает конкуренция за перенос энергии на фотоактивный пигмент.

В **выводах по главе 2** обобщены результаты, полученные в ходе проведенных комплексных исследований, включающих как измерение спектров поглощения листовой поверхностью и пигментов, выделенных из растений, с помощью разработанного устройства, так и анализ морфологических показателей, биохимического состава и продуктивности. Установлено, что светопоглощательные способности растений тесно связаны с его потребностями в отношении ФАР, характеризуют протекание фотосинтетических реакций и коррелируют с состоянием растения. Получение спектров поглощения светочувствительных пигментов и листьев конкретных культур позволяет предложить принцип подбора спектров освещения для выращивания растений в условиях закрытого грунта.

Третья глава посвящена изучению изотопного состава углеродного пула растений и углекислого газа атмосферы с применением масс-спектрометрического анализа. В §3.1 приведены использованные в работе масс-спектрометры – изотопный масс-спектрометр "Хеликомасс" (ФТИ им. А.Ф.Иоффе) и квадрупольный масс-спектрометр ТЕХМАС МС7-100 (ИАП) для молекулярного анализа состава газовых смесей. Изотопное отношение углерода рассчитывается по формуле $\delta^{13}\text{C} = (K * R_s / R_{\text{PDB}} - 1) * 1000$ (R_s – отношение $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ для образца, R_{PDB} – отношение $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ для стандарта PDB, K – нормировочный коэффициент). Отношение $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ определяется в газе CO_2 , концентрация которого в пробе должна быть достаточно высока (>2-3 %) и постоянна. При работе с растениями мы сталкиваемся со следующими проблемами: малой концентрацией углекислого газа в воздушной среде около растений (~0.0003% $^{13}\text{CO}_2$) и необходимостью перевода органического вещества тканей растительных организмов в газообразное состояние. В связи с этим для проведения изотопного масс-спектрометрического анализа углерода, участвующего в жизнедеятельности растений, была создана специализированная методика и реализующие ее устройства по сбору и подготовке пробы, описанные в §3.2. Установка для концентрирования углекислого газа представляет собой систему обогащения CO_2 путем вымораживания в парах азота с осушением газовой смеси и обеспечением ее циркуляции от растения через систему емкостей обратно в камеру с исследуемым объектом. После цикла вымораживания, длящегося 15 минут, концентрированный CO_2 в пробирке переводится в газообразное состояние нагреванием при комнатной температуре. Для верификации методики необходимо исключение возможной интерференции осколочных ионов органических микропримесей с ионами CO_2^+ , используемых для изотопных измерений. Поэтому после оттаивания в пробирке с концентрированной пробой объемом V осуществляется дожигание на поверхности Pt-катализатора площадью S примесей за время $\tau = 1,3 \cdot \kappa \cdot V/S$, где $\kappa = 105$ – поправочный коэффициент, полученный экспериментально.

Для определения изотопного состава углерода глюкозы в тканях растительных организмов предложено использовать реакцию окисления дрожжами с образованием углекислого газа. В ходе проведения реакции концентрация CO_2 вырастает ~ в 50 раз за 15 минут (рис. 2). Сравнение составляющих газовой смеси до и после проведения реакции показало наличие примеси органических веществ <0,005% от синтезированного CO_2 . Подобраны концентрации реагентов, выявлено, что при окислении растительной ткани дрожжами по крайней мере в течение 3 часов изотопный состав углерода не изменен.

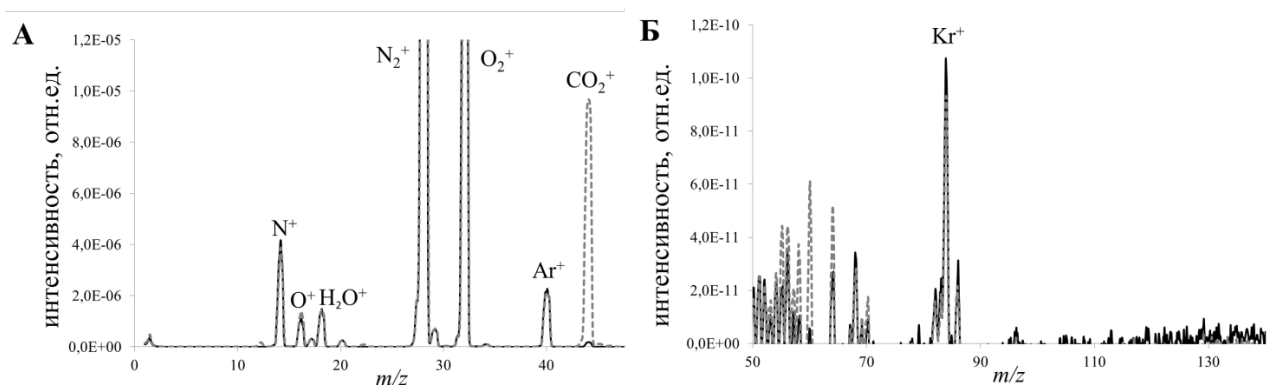


Рисунок 2 – Масс-спектр воздуха в пробирке (сплошная кривая) и газовой смеси, образующейся в ходе окисления глюкозы листьев растений дрожжами (пунктирная кривая) в диапазоне масс 0-45 (А) и 45-95 (Б) а.е.м.

При окислении дрожжами полученное отношение изотопов углерода составило $\delta^{13}\text{C} = -33,6 \pm 0,9\%$ для листа C_3 -растения, $\delta^{13}\text{C} = -33,4 \pm 1,9\%$ для свекольного сахара, выделенного из C_3 -растений, $\delta^{13}\text{C} = -14,6 \pm 1,6\%$ для тростникового сахара, синтезированного из C_4 -растения, эти значения согласуются с литературными данными для этих типов фотосинтеза, что позволяет применять предложенную методику для широкого круга объектов.

Отмечены различия в изотопном составе углерода для разных частей листа растения, что, по-видимому, связано с различиями в темпе фотосинтеза в «старой» части листа и новой развивающейся и нарастающей. Так для верхушки листа $\delta^{13}\text{C} = -36,8 \pm 0,2\%$, а для нижней части $\delta^{13}\text{C} = -31,1 \pm 0,9\%$, что свидетельствует о большем ее обогащении изотопом ^{12}C . Из этого также следует важность выбора определенной зоны отбора пробы.

Для изотопного анализа углеродного пула растений создана ячейка для газификации, состоящая из микропробирки, в которую помещается проба и платиновый катализатор, нагрев обеспечивает внешняя спираль, пробирки для накопления получаемой газовой смеси и прямой подачи на ввод в систему ввода пробы масс-спектрометра. Работа каталитической ячейки оттестирована, проведена проверка наличия органических примесей, способных вносить погрешность в измерения.

§3.3 посвящен исследованию влияния спектральных характеристик световой среды на взаимобмен изотопов углерода между атмосферным воздухом и углеродным пулом растений с применением разработанной методики подготовки образцов. Полученные значения $\delta^{13}\text{C}$ для газовой смеси вблизи растения, потенциально вовлеченной в его метаболизм, варьируют в пределах от $-15,8 \pm 1,7\%$ до $-22,3 \pm 0,6\%$, а $\delta^{13}\text{C}$ для углеродных соединений в листьях растения меняются от $-23,6 \pm 0,4\%$ до $-35,95 \pm 1,3\%$ (рис. 3). При облучении узким спектром – красным, синим светом и их смесью для изотопного состава воздуха около растений характерно преобладание тяжелого изотопа ^{13}C , в то время как при освещении полным спектром ФАР различной интенсивности – красно-бело-синим и холодным белым светом воздух больше обогащен легким изотопом ^{12}C . Это может быть связано с включением и более быстрым протеканием процессов фотодыхания – выделения углекислого газа на темновой стадии фотосинтеза. Для изотопного состава листьев наоборот в случае освещения красным, синим и красно-синим наблюдается накопление ^{12}C , при этом с возрастом увеличение количества легкого изотопа характерно для всех вариантов световой среды.

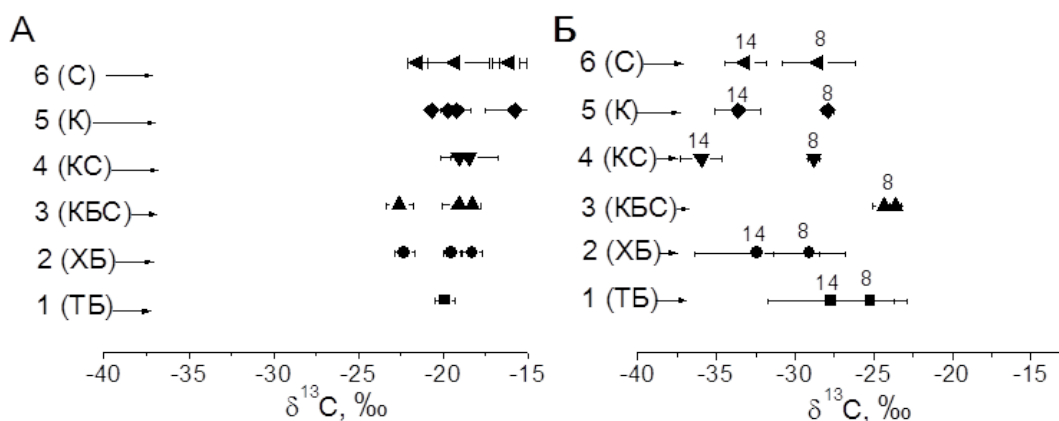


Рисунок 3 – Значения $\delta^{13}\text{C}$: А – для воздуха около 8-дневного овса, Б – для листьев 8 и 14-дневного овса, освещаемого 1 – теплым белым (ТБ), 2 – холодным белым (ХБ), 3 – красно-бело-синим (КБС), 4 – красно-синим (КС), 5 – красным (К), 6 – синим светом (С)

Скорость перераспределения изотопов углерода ^{12}C и ^{13}C между атмосферным воздухом окружающим растение и органическим веществом в тканях растения может быть охарактеризована величиной $\Delta = \delta^{13}\text{C}_{\text{атм}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{раст}}$, описывающей разницу между изотопным составом воздушной среды $\delta^{13}\text{C}_{\text{атм}}$ и углеродного пула растений $\delta^{13}\text{C}_{\text{раст}}$ (рис. 4).

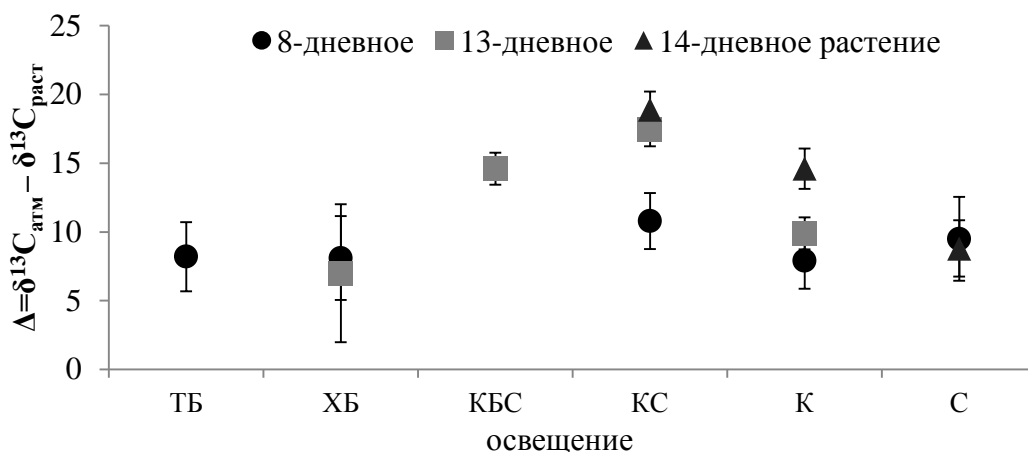


Рисунок 4 – Разница Δ между изотопным отношением углерода в атмосферной среде около растения $\delta^{13}\text{C}_{\text{атм}}$ и в тканях $\delta^{13}\text{C}_{\text{раст}}$ 8-, 13-, 14-дневного овса в зависимости от спектральных характеристик освещения теплым белым (ТБ), холодным белым (ХБ), красно-бело-синим (КБС), красно-синим (КС), красным (К), синим светом (С)

Чем больше присутствие красной составляющей спектра, тем ярче выражена разница коэффициентов. Для белого и синего освещения с увеличением возраста растений Δ практически не меняется, что говорит о постоянной скорости обмена изотопами в условиях среда-растение. Тогда как при наличии красного света разница между $\delta^{13}\text{C}$ воздуха и $\delta^{13}\text{C}$ растения растет, что связано с более быстрым обогащением легким изотопом живой ткани.

В **выводах по главе 3** подведены итоги исследования влияния спектральных характеристик освещения на степень взаимообмена изотопов углерода между атмосферным воздухом и органами растений, осуществляющими фотосинтез. Пробоподготовка обеспечила повышение точности изотопных измерений за счет концентрирования углекислого газа из пространства вокруг растения и устранения интерферирующих органических примесей. Наблюдаемые вариации изотопного состава листьев растений при различных спектрах

освещения указывают на значительную роль красной составляющей. Изотопное отношение $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ рекомендуется использовать как важный показатель скорости протекания реакции фотосинтеза, а разница между $\delta^{13}\text{C}$ для окружающего растение воздуха, вовлеченного в его метаболизм, и $\delta^{13}\text{C}$ углеродного пула тканей растительного организма потенциально отражает степень фракционирования изотопов в ходе жизнедеятельности растений.

Четвертая глава посвящена исследованию влияния параметров растительного организма, факторов внешней среды – влажности, минерального питания, светового режима, конфигурации и материала электродных систем на величины генерируемых в системе корнеобитаемая среда-растение биоэлектрических потенциалов.

В §4.1 описан разработанный неинвазивный метод регистрации биоэлектрических потенциалов, пригодный как для отслеживания состояний растительных организмов и регистрации электрофитограмм, так и для применения в технологии растительно-микробных топливных элементов. Токособирающими элементами служат проводящие коррозионностойкие материалы с порами для прорастания корневой системы растения и обеспечения тем самым поверхностного контакта. При измерении нагрузочных характеристик системы наблюдается значительное падение БЭП при подключении к системе нагрузки <10кОм и восстановление лишь на 1/3, а спустя полтора часа только наполовину. Выявлено, что лучшим биосовместимым вариантом электродных систем при измерениях БЭП в почве являются сетки из нержавеющей стали, а при выращивании в питательных растворах (гидропоника, панопоника) более эффективен графитовый войлок.

В §4.2 описано влияние на величину БЭП водного режима, почвенной структуры и освещения. В условиях достаточной влажности почвы биопотенциал выходит на средний уровень порядка 260 мВ. По мере осушения почвы наблюдается спад биопотенциала, после полива происходит его увеличение скачком и затем выравнивание до стационарного состояния (рис. 5). Время задержки изменения потенциала после полива и время достижения нового стабильного уровня увеличивается с ростом периода без увлажнения почвы, что, вероятно, характеризует сумму двух эффектов: диффузионное распространение воды в почве, и адаптивные свойства корней, переходящих из режима вододефицита в водопоглощение. При организации полива снизу не наблюдается скачок потенциала, а идет его плавное перераспределение и стабилизация за времена порядка десятков минут.

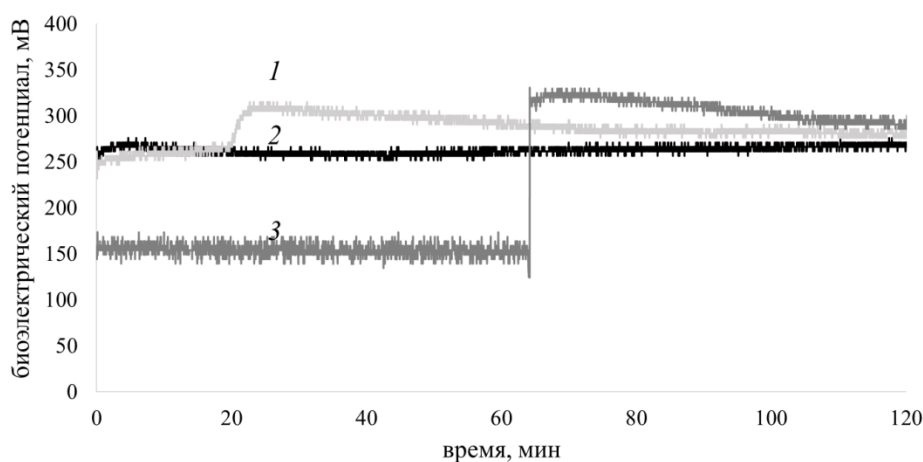


Рисунок 5 – Изменение биоэлектрического потенциала с течением времени в момент увлажнения почвы от основания хлорофитума к корневой системе через 1 – 12 дней, 2 – 3 дня, 3 – 15 дней с предыдущего полива

Определено изменение БЭП в зависимости от глубины почвы. Распространение корней по системе электродов изменяет величину БЭП в связи с диффузией питательных веществ из почвы и выделением ризодепозитов. В первые дни значения практически не отличаются, однако через некоторое время наблюдается постепенное увеличение величин биопотенциалов между электродами, связанное, по-видимому, с ростом корней и их контактом по градиенту глубины почвы. По изменению биоэлектрических потенциалов можно судить о росте корней в глубину почвы и, вероятно, о состоянии и развитии растений.

Динамика БЭП в ответ на световой режим показала рост активности растения при включении света, видимо, коррелирующий с поглощением воды и движением минеральных веществ вместе с водным потоком, и постепенное угасание до начального уровня с середины светового дня (рис. 6). Возникновение таких автоколебаний, возможно, связано с водным обменом растений, интенсивностью транспирации, скоростью жидкости в транспортной системе растения и уровнем освещенности, что было показано и другими авторами [Карманов В.Г. и др., 1974] на примере изменения амплитуды колебаний транспирации в зависимости от условий выращивания.

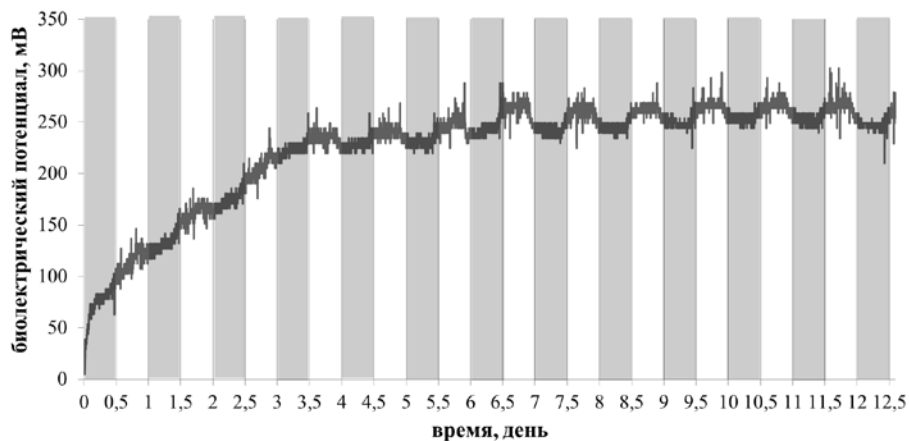


Рисунок 6 – Корреляция динамики БЭП со световым режимом (белые области) и, видимо, с активностью растения в отношении усвоения воды и питательных веществ при включении света и освещении каждые полсуток

Воздействие спектральных характеристик на динамику биоэлектрических потенциалов не очевидно. Можно лишь отметить, что среднее значение БЭП составляет при выращивании под белым светом с добавлением в пропорции 1:1 красного света составляет ~135мВ, зеленого 250мВ, синего 75мВ. Исследуемые образцы, выращенные под сине-белым освещением, обладают наименьшим сопротивлением почвы, возможно связанным с более медленным поглощением воды растением или испарением.

В §4.3 описан возможный механизм изменения БЭП в системе почва-растение при варьировании водного режима. Предложена следующая модель, описывающая протекающие в системе эффекты при поливе: сначала происходит увлажнение почвы, но в растение еще не начала поступать вода, и его физиологическое состояние соответствует тому, что имело место до начала полива. Длительность этого процесса определяется свойствами почвы и зависит от степени ее высыхания. Затем, растение начинает активно всасывать воду из почвы. С электрической точки зрения это можно трактовать как увеличение величины эквивалентной ЭДС за счет увеличения транспорта ионов в корнях после полива. При этом увлажненная почва с более низким сопротивлением начинает шунтировать имеющиеся БЭП,

однако рост ЭДС компенсирует эти утечки, более того, резко включающийся механизм всасывания ионов ведет к перекомпенсации, проявляющийся как максимум на временных зависимостях БЭП. Время выхода на максимум не зависит от длительности выдержки растения без полива, это локальный процесс, относящийся только к корневой системе, на который не влияют ни физические свойства почвы, ни глубина вододефицитного стресса. На следующей стадии растение находится в фазе адаптации к новым условиям увлажненности. Время выхода на стабильный уровень БЭП, при этом, зависит от того, насколько организм растения был обезвожен в результате длительного перерыва в поливе. Когда происходит полив сверху, то поступление воды идет в первую очередь через верхние каналы. Если рассматривать корень как проводник с постоянным удельным сопротивлением ρ и одинаковой площадью сечения S по всей длине L , то разность между значениями потенциала $\Delta\varphi$ в начале и в конце участка цепи пропорциональна длине корня: $\Delta\varphi_1 = \varphi_{11} - \varphi_{12} = IR = I\rho L/S \sim L$. То есть БЭП постепенно увеличивается при поступлении воды сверху вниз – от проводящих каналов в основании растения к нижней части корневой системы, и, соответственно, с увеличением длины проводника – корня (рис.7А): $\Delta\varphi_1 \sim L_1 < \Delta\varphi_2 \sim L_2 \dots < \Delta\varphi_n \sim L_n$. В случае же полива снизу, вода диффундирует сквозь почву и поступает в корни сперва через самые нижние каналы (рис. 7Б). При этом разность потенциалов пропорциональна сразу всей длине проводника от основания до конца корней и постоянна $\Delta\varphi \sim L \sim \text{const}$. Финальный уровень БЭП, и видимо, физиологическое состояние растения одинаковы при обоих видах полива.

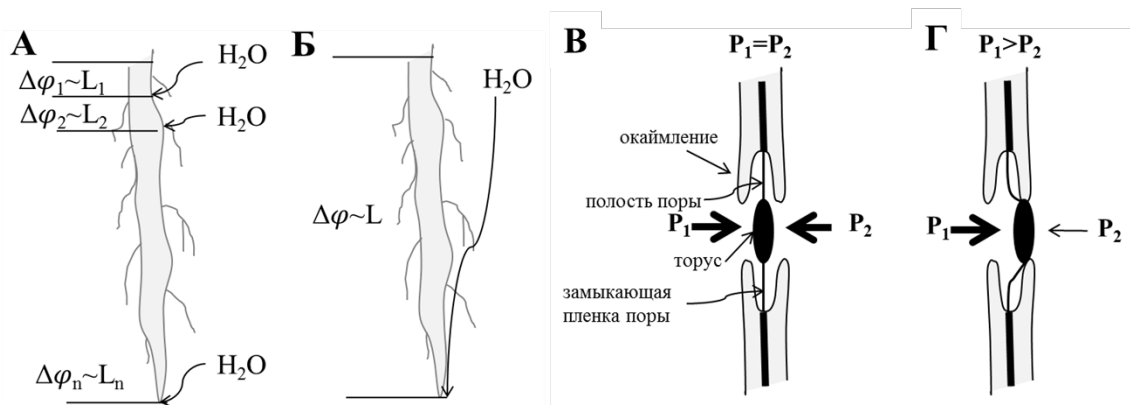


Рисунок 7 – Модель поглощения воды корнем и связанное с этим изменение БЭП при А – поливе сверху $\Delta\varphi_1 < \Delta\varphi_2 < \Delta\varphi_n$, Б – поливе снизу $\Delta\varphi \sim \text{const}$, В – строение окаймленной поры [Эзау К., 1980] и градиент давления во время массового потока воды и Г – его блокирование

Время задержки изменения биоэлектрического потенциала связано со строением поры и градиентом давления – основной движущей силой водного потока от почвы через растение. Так как поровая мембрана эластична, окаймленные поры функционируют как клапаны – при определенном давлении торус смещается к одной или другой стороне окаймления, закрывая поровое отверстие. В случае, когда давление воды со стороны клетки P_1 равно давлению P_2 со стороны почвы пора открыта (рис. 7В), осуществляется транспорт воды за счет корневого давления и транспирации. При малом водном потоке со стороны почвы (засухе) на торус действует большее давление P_1 со стороны клетки и пора закрывается (рис. 7Г). Таким образом, чем суше почва, тем больше времени нужно на открытие поры.

В §4.4 при выборе конфигурации растительно-микробного топливного элемента – расположения и материалов электродных систем, субстрата для растений за основу была взята система выращивания растений на тонкослойном и малообъемном аналоге почв –

панопоника (ФГБНУ АФИ). На дно емкости объемом 0,0023 м² помещается анод, сверху устанавливалась подставка, покрытая пористой тонкослойной корнеобитаемой средой, поднимающей питательный раствор до растения за счет капиллярного эффекта, на подставку устанавливался катод, который покрывается малообъемным аналогом почвы и высаживаются семена. Максимально полученное значение тока в прототипах РМТЭ составило 83 нА на 25 день роста, среднее значение тока варьировало в пределах 50-65 нА на объем емкости. Наилучшим вариантом для использования и в качестве анода, и в качестве катода для РМТЭ на примере салата при выращивании его на питательном растворе, является графитовый войлок. Внесение микроорганизмов на данном этапе не изменило величину генерируемого в системе тока.

В **выводах по главе 4** обобщены результаты исследования отклика БЭП на воддефицитный стресс и полив, градиент потенциалов в почве и динамика БЭП, связанная со световым режимом, за счет применения разработанного метода неинвазивного автоматического измерения БЭП в системе почва-растение, основанного на новом способе обеспечения поверхностного контакта корневой системе с электродами.

В **Заключении** обобщены результаты работы:

1. Выделены три направления, позволяющие охарактеризовать процессы, протекающие под действием света как внутри растения – оптические свойства листьев, так и при взаимодействии растения с атмосферой – фракционирование изотопов углерода из углекислого газа атмосферы в углеродный пул растений, а также растения и корнеобитаемой среды – биоэлектрические потенциалы в системе почва-растение.

2. Разработан и изготовлен лабораторный фитотрон, обеспечивающий стандартизацию условий роста растений. Сконструированы и собраны программируемые светодиодные источники облучения, позволяющие варьировать спектр излучения и длительность светового дня. Проведен расчет плотности фотосинтетического потока фотонов PPFD, выражаемого в микромолях в секунду на м², для фитосветильников на основе спектров излучения и калиброванного источника света.

3. Предложено использовать содержание светочувствительных пигментов и спектры их поглощения как меру ответа организма растения на величину суммарной суточной экспозиции растений и спектра освещения. В условиях светодифицита – освещения менее 1 часа в день, отмечено изменение количества светопоглощающих пигментов ~ в 10 раз и различие в форме спектров их поглощения при разной длительности светового дня. При избытке излучения в каком-либо диапазоне длин волн, пигментный аппарат растения поглощает большее количество фотонов с энергией, характерной для доминирующей области излучения (до 24%). Однако при отсутствии длинноволновой части спектра освещения, фотосинтетические пигменты пытаются их уловить, повышая тем самым чувствительность к красному свету. По результатам спектрофотометрического анализа поглощения пигментной системы показано, что оптимальным для освещения растений является излучение во всей области длин волн от 400 до 700 нм с доминированием красной составляющей, в согласии с результатами, полученными ранее другими авторами, на основании морфологических измерений.

4. Разработана экспериментальная установка для измерения спектров поглощения света листьями растений *in vivo*, основанная на системе измерения оптических свойств тканей с помощью двух интегрирующих сфер. В ходе тестирования установки установлено, что спектр поглощения «живого» и свежесрезанного листа в пределах 5 минут не отличаются друг от друга, однако через час после среза интенсивность поглощения срезанного листа

уменьшается на ~10%, а также меняется форма спектра – снижается доля поглощения в области от 630 до 660 нм.

5. Исследовано влияние спектральных особенностей световой среды на фоне вариативного уровня минерального питания на оптические характеристики листовой поверхности салата, а также на рост, продуктивность и биохимический состав растений. Анализ данных по росту, развитию и продуктивности растений, биохимическому составу растений салата с учетом полученных спектров поглощения листьев показали наибольшее положительное влияние желто-оранжевого света с превалированием красной составляющей и добавлением ~10-20% от общей ФАР в ближнем ИК при выращивании на 1 N питательном растворе Кнопа. Для оценки влияния параметров освещения на поглощение света листьями салата предложено использовать индекс светопоглощения $I = \Delta A / \Delta m$, описывающей приращение интегрального поглощения A на прирост биомассы m .

6. Для осуществления сбора и подготовки пробы, предшествующих изотопному анализу углерода, участвующего в жизнедеятельности растений, был разработан ряд методик и создан аппаратный комплекс, а именно: а) разработана и изготовлена установка для концентрирования углекислого газа с каталитическим дожиганием органических микропримесей, выполнен теоретический расчет времени, необходимого для сгорания примесей, введен вычисленный экспериментально поправочный коэффициент $\kappa = 105$; б) предложена методика проведения реакции окисления глюкозы листьев растений дрожжами с образованием углекислого газа, подобраны концентрации реагентов, выявлено, что при окислении растительной ткани дрожжами по крайней мере в течение 3 часов изотопный состав углерода не изменен; в) создана каталитическая ячейка для газификации пробы, ее работа отгестирована, проведена проверка наличия остаточных органических веществ в получаемой газовой смеси, суммарное количество органических примесей в полученной пробе при газификации листа растения составило ~0.2% от содержания углекислого газа, а при газификации сахара ~0.01%; г) предложен алгоритм расчета $\delta^{13}\text{C}$ из данных, полученных на изотопном масс-спектрометре, с учетом изотопной распространенности углерода и кислорода, параметров регистрирующей системы, нормировки на сертифицированный стандарт (PDB).

7. Впервые показано, что имеют место различия в изотопном составе углерода для разных частей листа растения: $\delta^{13}\text{C} = -36,8 \pm 0,2\%$ для верхушки листа, $\delta^{13}\text{C} = -36,3 \pm 0,2\%$ для середины, $\delta^{13}\text{C} = -31,1 \pm 0,9\%$ для нижней части, из чего следует важность выбора определенной зоны отбора пробы.

8. Полученные отношение изотопов углерода методом окисления органического образца дрожжами составили $\delta^{13}\text{C} = -33,6 \pm 0,9\%$ для листа C_3 -растения, $\delta^{13}\text{C} = -33,4 \pm 1,9\%$ для свекольного сахара, выделенного из C_3 -растений, $\delta^{13}\text{C} = -14,6 \pm 1,6\%$ для тростникового сахара, синтезированного из C_4 -растения, что согласуется с литературными данными для этих типов фотосинтеза.

9. При газификации в каталитической ячейке изотопное отношение составило: для листа растения $\delta^{13}\text{C} = -32,7\%$, для свекольного сахара $\delta^{13}\text{C} = -33,4\%$, что соответствует литературным данным и значениям, полученным при применении методики окисления дрожжами.

10. Предложено использовать Δ – разницу между изотопным составом углерода в воздухе около растений и в их листьях, как характеристику скорости ассимиляции углерода за счет протекания фотосинтетических реакций. При исследовании влияния спектральных характеристик световой среды на взаимообмен изотопов углерода между атмосферным

воздухом и углеродным пулом растений, найдено, что значение Δ менялось в пределах от 7 до 19 %.

11. Выявлена непригодность известного метода измерения биоэлектрических потенциалов, основанного на введении игольчатых электродов в ткань растений, поскольку такой путь вызывает стрессовый ответ и снижение разности потенциалов с 70 мВ до 0 мВ в течение 30 минут. Предложена система неинвазивной установки электродов за счет прорастания сквозь них корней растений и создана установка для автоматической регистрации биоэлектрических потенциалов в системе почва-растение, позволяющая изучать электрофизиологический сигнал растительного организма непосредственно в условиях нормальной жизнедеятельности.

12. Измерены биоэлектрические потенциалы в условиях варьируемой влажности почвы и организации распространения воды вдоль и против направления роста корней. В условиях достаточной влажности почвы биопотенциал в среднем постоянен и флуктуирует стохастически в интервале от 245 мВ до 275 мВ. При высыхании грунта значения биоэлектрического потенциала падают почти в два раза, он восстанавливается после полива, причем время задержки его восстановления увеличивается с ростом водodefицитного периода. Предложена модель, описывающая эффекты, протекающие в системе при водodefицитном режиме и поливе.

13. Определено изменение биоэлектрического потенциала в зависимости от глубины почвы с шагом 50мм до уровня в 400мм. В почве без растения потенциалы стационарны и спадают с уменьшением расстояния между электродами, в то время как распространение корней по системе электродов изменяет величину биопотенциала в ~ 2 раза в связи с диффузией питательных веществ из почвы и выделением ризодепозитов.

14. Исследовано влияние спектральных характеристик освещения на биоэлектрический потенциал. Отмечено циклическое увеличение потенциала при включении света и в середине светового цикла равномерное падение до прежнего уровня ~ 240 мВ, соответствующего темновой стадии.

15. Показана возможность использования разработанной технологии измерения биоэлектрического потенциала для создания длительно работающих растительно-микробных топливных элементов, выбрана и апробирована их конфигурация. Лучшим вариантом для использования и в качестве анода, и в качестве катода для растительно-микробного топливного элемента на примере салата при выращивании его на питательном растворе стал графитовый войлок. Максимально полученное значение тока 36 мА на м^2 зоны роста растений. При подключении к системе нагрузки $< 10 \text{ кОм}$ биопотенциал значительно падает и восстанавливается лишь на $1/3$, а спустя полтора часа только наполовину. При внешнем сопротивлении в 10 МОм мощность составила $0,6 \text{ мВт/м}^2$, при 100 кОм – 51 мВт/м^2 , а при 10 кОм – 245 мВт/м^2 , однако при этом наблюдались уже значительные утечки тока, ухудшающие работу растения.

Выводы

1. Желто-оранжевый свет, излучающий $\sim 25 \mu\text{моль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ в диапазоне 400-500нм, $\sim 150 \mu\text{моль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ в 500-600 нм, $\sim 150 \mu\text{моль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ в 600-700 нм и ~ 10 -20% от общей фотосинтетически активной радиации в ближнем ИК приводит к высокой продуктивности и наиболее эффективен для выращивания растений в светокультуре.

2. Обогащение листьев легким изотопом ^{12}C происходит быстрее при преобладании в спектре освещения красной составляющей.

3. Изотопный состав углерода разных частей листовой поверхности различается – «старая» часть листовой пластинки содержит большее количество ^{12}C , чем «новая», что связано с разной интенсивностью фотосинтеза.

4. Биоэлектрические потенциалы в системе почва-растение, измеренные неинвазивным методом, хорошо коррелируют с условиями выращивания (световая среда, водный режим) и могут быть эффективным средством фитомониторинга.

Благодарности

Автор работы выражает глубокую благодарность своему научному руководителю **Галлю Н.Р.** за поддержку, обучение и знания, важные как в научном, так и практическом плане, коллективу лаборатории физики адсорбционно-десорбционных процессов **Рутькову Е.В.**, **Лапушкину М.Н.**, **Бернацкому Д.П.**, **Блашенко Н.М.** за консультирование и ценные замечания, **Павловой Е.С.** за введение в изотопный масс-спектрометрический анализ, и проведение совместных экспериментов, **Смирнову Н.А.** за помощь в изготовлении деталей; сотрудникам Института аналитического приборостроения **Галль Л.Н.** за фундамент в науке и полет творческой мысли, **Кулешову Д.О.** за поддержку, **Кузьмину А.Г.** и **Титову Ю.А.** за помощь в верификации методик; коллегам из Агрофизического института **Пановой Г.Г.** за предоставления поля для деятельности и обсуждения, **Черноусову И.Н.** за введение в светокультуру, **Удаловой О.Р.** за обучение основам работы с растениями; **Блашенко М.Н.**, **Щеглову С.А.**, **Одноблюдову М.А.**, **Середину И.С.** за помощь в оптических измерениях, консультацию и предоставление оборудования.

Публикации по теме диссертации

Статьи в рецензируемых российских и зарубежных журналах

1. **Березкина Т.Э.**, Блашенко М.Н., Кулешов Д.О. Активность растений в зависимости от особенностей спектра освещения // Сборник трудов IV Всероссийского конгресса молодых ученых – СПб: Университет ИТМО. 2015. С. 62-66.
2. **Березкина (Кулешова) Т.Э.**, Блашенко М.Н., Кулешов Д.О., Галль Н.Р. Экспериментальный лабораторный фитотрон с программируемым светодиодным источником для изучения влияния длительности светового дня и спектра излучения на растения. // Приборы и техника эксперимента. 2016. № 6. С. 129-130.
3. **Кулешова Т.Э.**, Блашенко М.Н., Кулешов Д.О., Галль Н.Р. Разработка лабораторного фитотрона с возможностью варьирования спектра излучения и длительности суточной экспозиции и его биологическое тестирование. // Научное приборостроение. 2016. Т. 26. № 3. С. 35-43.
4. **Кулешова Т.Э.**, Лихачев А.И., Павлова Е.С., Кулешов Д.О., Нащекин А.В., Галль Н.Р. Взаимосвязь спектров поглощения пигментов растений и светодиодного освещения с различным спектральным составом // ЖТФ, 2018. Т. 88. № 9. С. 1285-1286.
5. **Kuleshova T.E.**, Seredin I.S., Cheglov S.A., Blashenkov M.N., Chumachenko A.V., Feofanov S.V., Kiradiev V.K., Odnoblyudov M.A. Spectrometric method for measuring light absorption by plant leaves // J. Phys.: Conf. Ser. 2018. V. 1135. 012013. doi:10.1088/1742-6596/1135/1/012013.
6. **Кулешова Т.Э.**, Бушлякова А.В., Галль Н.Р. Неинвазивное измерение биоэлектрических потенциалов растений // Письма в ЖТФ. 2019. Т. 45. Вып. 5. С. 6-8.

Материалы конференций

7. **Березкина Т.Э.** Измерение электрической активности и анализ содержания хлорофилла в растениях в зависимости от длительности освещения // Международная зимняя школа по физике полупроводников. Научные сообщения молодых ученых. 2015. С. 28-30.
8. **Березкина Т.Э.,** Кулешов Д.О., Блашенков М.Н., Галль Н.Р., Галль Л.Н. Изучение влияния светового потока и низкочастотного электромагнитного излучения на биохимический состав растений // I российская конференция «Физика – наукам о жизни». Сборник тезисов. 2016. С. 175.
9. **Кулешова Т.Э.,** Павлова Е.С., Галль Н.Р. Биологическое фракционирование изотопов углерода при фотосинтезе в зависимости от освещения //Тезисы докладов II российской конференции с международным участием «Физика–наукам о жизни». 2017. С. 68.
10. **Кулешова Т.Э.,** Лихачев А.И., Нащекин А.В., Галль Н.Р. Взаимосвязь спектров поглощения пигментов растений и светодиодного освещения с различным спектральным составом // Тезисы докладов II российской конференции с международным участием «Физика – наукам о жизни». 2017. С. 69.
11. **Кулешова Т.Э.,** Павлова Е.С., Галль Н.Р. Влияние низкочастотного слабоинтенсивного магнитного поля на ход фотосинтетической реакции в растениях при различном спектральном составе освещения // I Всероссийская конференция с международным участием «Физика и экология ЭМИ». 2017. Научные труды конференции. Т. 1. С. 35.
12. **Кулешова Т.Э.,** Павлова Е.С., Галль Н.Р. Фракционирование изотопов $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в ходе фотосинтезирующих реакций в растениях под действием света различного спектрального состава // Тезисы VII Всероссийской конференции с международным участием «Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы». 2017. С. 40.
13. **Кулешова Т.Э.** Влияние спектра и интенсивности светодиодного излучения на спектры поглощения пигментов растений // Двадцать вторая Санкт-Петербургская Ассамблея молодых ученых и специалистов: Сборник тезисов – СПб.:Изд-во СПбГУПТД. 2017. С. 193.
14. Бушлякова А.В., **Кулешова Т.Э.,** Галль Н.Р. Регистрация биоэлектрических потенциалов растений - система мониторинга транспирации // Сборник тезисов докладов конгресса молодых ученых. СПб:ИТМО. <http://openbooks.ifmo.ru/ru/file/6593/6593.pdf>
15. Бушлякова А.В., **Кулешова Т.Э.,** Галль Н.Р. Автоматизация и тестирование регистрации биоэлектрических потенциалов растений // VI Научно-практическая конференция с международным участием «наука настоящего и будущего» для студентов, аспирантов и молодых ученых. Сборник материалов конференции. СПб.: Изд-во СПбГЭТУ «ЛЭТИ», 2018. С. 389-391.
16. **Кулешова Т.Э.,** Бушлякова А.В., Галль Н.Р. Система неинвазивного снятия биоэлектрических потенциалов растений и влияние водного режима на их изменение // Научные труды VIII Международного конгресса «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине». СПб. 2018. Т. 8. С. 132-133.
17. **Кулешова Т.Э.,** Середин И. С., Щеглов С. А., Блашенков М. Н., Чумаченко А. В., Феофанов С. В., Кирадиев В. К., Одноблюдов М. А. Спектрометрический метод измерения поглощения света листьями растений // Тезисы докладов международной конференции Физика.СПб. 2018. С. 36-37.
18. **Кулешова Т.Э.,** Иванова А.Г., Кручинина И.Ю., Шеина И.Ю., Удалова О.Р., Жестков А.С., Галушко А.С., Панова Г.Г., Галль Н.Р. Растительно-микробные топливные элементы на основе неинвазивных электродных систем // Сборник научных трудов VI съезда биофизиков России. Т. 1. 2019. С. 382-383.