

## РАСПРЕДЕЛЕНИЕ $^{13}\text{C}$ В УГЛЕВОДАХ И МЕХАНИЗМ ФОТОСИНТЕЗА

А.А. ИВЛЕВ<sup>1</sup>, А.У. ИГАМБЕРДИЕВ<sup>3</sup>, А.Ю. ДУБИНСКИЙ<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> Кафедра неорганической и аналитической химии РГАУ - МСХА имени КА. Тимирязева; <sup>2</sup> Отдел изучения растений, Университет Манитобы (Канада); <sup>3</sup> Институт прикладной математики имени М.В. Келдыша РАН)

Согласно осцилляционной гипотезе углеродный метаболизм при фотосинтезе реализуется в виде колебательного процесса. Колебания являются незатухающими и состоят из двух фаз — ассимиляции  $\text{CO}_2$  и фотодыхания. Первая соответствует карбоксилазной фазе функционирования Рубиско, вторая — оксигеназной. Распределение изотопа  $^{13}\text{C}$  в углеводах тесно связано с фотосинтетическими осцилляциями, возникающими при фотосинтезе. Углеводы образуются в каждой из фаз. Мы утверждаем, что углеводы, образовавшиеся в карбоксилазной фазе, состоят из гексоз с относительно равномерным распределением  $^{13}\text{C}$  вдоль углеродного скелета молекул, тогда как гексозы в углеводах, синтезированных в оксигеназной фазе, обладают специфическим неравномерным изотопным рисунком. Упомянутая гипотеза хорошо объясняет особенности распределения изотопов углерода и изотопный состав углеводов  $\text{C}_3$ - и  $\text{C}_4$ -растений, а также изотопные различия общего углерода углеводов, обусловленные разной степенью истощения фонда субстрата, используемого при фотодыхании.

*Ключевые слова:* изотопное фракционирование углерода, фотодыхание, Рубиско, углеводы, моделирование метаболизма.

В последние годы распределение  $^{13}\text{C}$  в углеводах привлекает внимание все большего числа исследователей [11, 28, 29, 34, 36, 61, 64]. Это связано с пониманием того, что исследования изотопного состава углеводов, являющихся первичными ассимилятами при фотосинтезе, открывают путь к выяснению природы изотопной гетерогенности остальных метаболитов и их связи с механизмами клеточных процессов. К тому же непосредственное участие самих углеводов во многих процессах (ассимиляции  $\text{CO}_2$  и фотодыхании, темновом дыхании и гликолизе) дает возможность использовать изотопные данные по углеводам для изучения этих процессов.

При исследовании распределения изотопов углерода в углеводах возникает ряд трудностей, связанных с отсутствием устойчивых закономерностей в распределении  $^{13}\text{C}$  между компонентами. Например, в одних растениях растворимые сахара и крахмал обогащены изотопом  $^{13}\text{C}$  по сравнению с другими углеводными компонентами, в других — обеднены. Изотопное распределение может заметно различаться в зависимости от того, из какого органа (лист, стебель, корень, семена) выделены углеводные компоненты [39], от условий обитания и вида растения [23]. Чтобы понять причину варибельности изотопного состава углерода углеводных компонентов, необходимо выяснить, где и как возникают изотопные эффекты при синтезе углеводов и какие факторы влияют на их изотопный состав.

Из приведенной на рисунке 1 схемы, показывающей связь между различными углеводными фондами, видно, что ключевым звеном в цепочке всего углеводного обмена является синтез глюкозо-6-фосфата (Г6Ф), который происходит в цикле Кальвина при фотосинтезе. Через Г6Ф происходит синтез других гексоз и пентоз, а также связанных с ними сахаридов. Поэтому чтобы понять, чем определяется изотопный состав различных углеводов, в первую очередь необходимо выяснить, от чего зависит изотопный состав углерода Г6Ф. При такой постановке задачи не обойтись без привлечения модели изотопного фракционирования углерода при фотосинтезе.

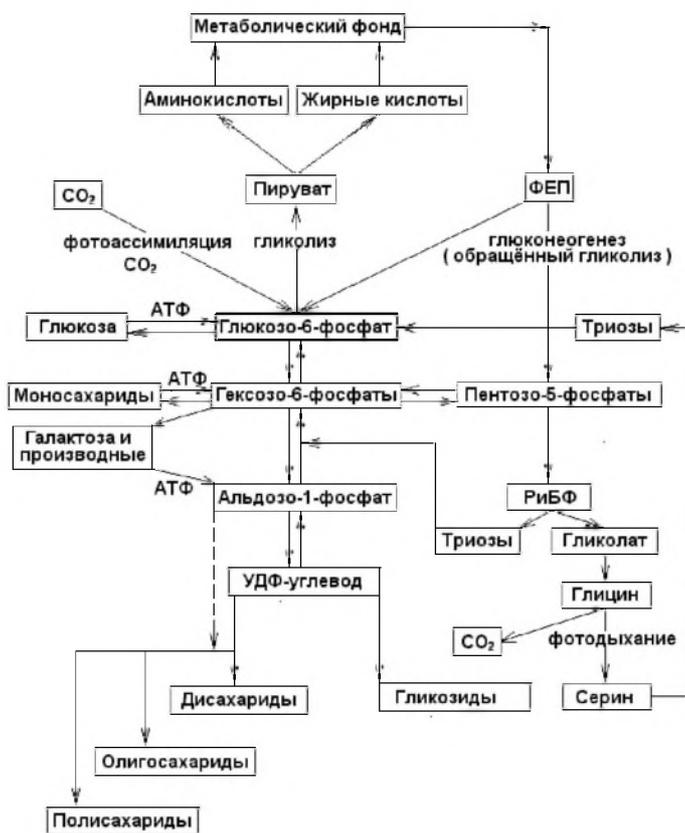


Рис. 1. Принципиальная схема углеводного обмена в клетке

**Стационарная и осцилляционная модели**, используемые для описания изотопного фракционирования углерода при фотосинтезе.

Из литературы известны два альтернативных подхода к описанию изотопного фракционирования углерода при фотосинтезе: стационарная модель, основанная на предположении, что при неизменных условиях все процессы фотосинтеза в клетке протекают одновременно и непрерывно [24, 31, 32, 47, 65, 66], и осцилляционная модель, допускающая периодический, дискретный характер протекания процессов, их определенную временную последовательность [5, 7, 8, 12, 44]. Дискретность процессов, согласно последней модели, является следствием периодического истощения фондов метаболитов, сменяющегося их заполнением.

*Стационарная модель.* Основное уравнение стационарной модели в обозначениях Фаркуара и коллег [24, 32] имеет вид:

$$\Delta = a + (b-a)p_1 / p_a \quad (1)$$

где  $\Delta$  — величина изотопной дискриминации  $^{13}\text{C}$  при фотосинтезе,  $a$  — изотопный эффект при диффузии,  $b$  — изотопный эффект при карбоксилировании РиБФ. Выражение (1) связывает величину изотопной дискриминации углерода с отношением

парциальных давлений  $\text{CO}_2$  внутри листа  $p_i$  и в атмосфере  $p_a$ . Из него легко видеть, что если диффузия контролирует скорость процесса, т.е.  $p_i \rightarrow 0$ , изотопная дискриминация приближается к величине  $a$ . Если скорость ассимиляции  $\text{CO}_2$  контролируется реакцией карбоксилирования РиБФ, т.е.  $p_i \rightarrow p_a$ , изотопная дискриминация приближается к величине  $b$ . При этом влияние внешних факторов (температуры, влажности, солености поливных вод, концентрации  $\text{CO}_2$  в атмосфере и др.) на изотопный состав углерода растений передается в модели через отношение  $p_i / p_a$ . С учетом найденных экспериментально величин  $a = -4,4\%$ , а  $b = -29\%$  [32] модель описывает диапазон природных вариаций величин  $\Delta$  и ее зависимость от факторов внешней среды.

По мере использования уравнения (1) выявилось значительное число нарушений линейной корреляции, постулируемой моделью. Потребовалась усложненная форма связи изотопной дискриминации с учетом вкладов всех процессов, где возможна изотопная дискриминация. Они и обуславливают отклонение от линейности. Одна из форм имеет вид:

$$\Delta = a_b(p_a - p_i)_i / p_a + a(p_s - p_i)_i / p_a + (e_s + a_i)(p_i - p_c)_i / p_a + b \cdot p_{ci} / p_a - 1 / p_a \cdot (eR_d / k + f\Gamma^*) \quad (2)$$

где  $p_a$ ,  $p_s$ ,  $p_a$  и  $p_c$  — парциальные давления  $\text{CO}_2$  в атмосфере, у поверхности листа, в межклетниках до растворения в цитоплазме, у мест карбоксилирования соответственно;  $a_b$  — дискриминация  $^{13}\text{C}$  при диффузии через пограничный слой,  $a$  — диффузия  $\text{CO}_2$  в воздухе,  $e_s$  — фракционирование при растворении  $\text{CO}_2$  в цитоплазме,  $a_i$  — фракционирование при диффузии в жидкости,  $b$  — изотопная дискриминация  $^{13}\text{C}$  при ферментативном карбоксилировании РиБФ в  $\text{C}_3$ -растениях;  $e$  и  $f$  — возможное фракционирование изотопов при темновом дыхании  $R_d$  и фотодыхании соответственно;  $k$  — эффективность карбоксилирования и  $\Gamma^*$  — точка компенсации, определяемая в отсутствие темнового дыхания. Все коэффициенты изотопного фракционирования в перечисленных процессах определены опытным путем в модельных процессах и *in vitro*. Получены следующие значения:  $a_b = 2,9\%$  [26, 31],  $4,4\%$ ,  $e_s = 1,1\%$  [66]  $a_i = 0,7\%$  [48].

Изотопная дискриминация  $b$  при карбоксилировании РиБФ оказалась слабо зависимой от рН и при рН 9.0 равнялась 29%, а при рН 7.0 — 30% [54]. Что касается изотопного фракционирования при темновом дыхании  $e$  и фотодыхании  $f$  ими, как правило, пренебрегают и учитывают лишь тогда, когда отклонения от упрощенной модели (1) становятся ощутимыми. Предполагая, что эти отклонения связаны с обсуждаемыми эффектами, из них рассчитывают указанные коэффициенты изотопного фракционирования. У одних исследователей оценки  $e$  подтвердили их малую величину [46, 67], другие [29] пришли к выводу, что  $e$  значительно и равно 6%. Еще более спорными из-за сложности определения оказались оценки коэффициентов изотопного фракционирования при фотодыхании. Их определяли, исследуя изотопный состав  $\text{CO}_2$  воздуха вблизи точки компенсации. Руни [55] оценил величину  $f = 7\%$ . Авторы работы [67] утверждали, что, если принять  $f = 5\%$ , изменения  $\Delta$  составят 0.8%. Из косвенных оценок получили, что/для пшеницы составила величину 3.3%, для фасоли — 0.5% [35]. В работе Игамбердиева и других [41] авторы сопоставили изотопную дискриминацию у диких растений и фотодыхательных мутантов, у которых интенсивность фотодыхания была редуцирована методом геной инженерии. Из сопоставления сделана оценка эффекта фотодыхания. Последний оказался в диапазоне 10-13% для картофеля, ячменя и арабидопсиса.

Из уравнения (2) видно, что включение в уравнение (1) новых членов, учитывающих вклад в изотопную дискриминацию других процессов, хотя и позволяет объяснить выявленную экспериментально нелинейность, но сама зависимость  $A$  от большого числа параметров делает ее сложной и запутанной. Ее трудно использовать для каких-либо прогнозных оценок.

За счет введения новых параметров уравнение (2) дает возможность скорректировать наблюдаемые отклонения от линейности, но связь изотопной дискриминации с факторами внешней среды становится менее отчетливой и при этом ряд факторов остается за рамками модели. Например, остается неясным, почему в некоторых опытах по газообмену при фотосинтезе наблюдается преимущественная фиксация изотопа  $^{13}\text{C}$ , а не  $^{12}\text{C}$  [3, 20], почему некоторые первичные ассимиляты в опытах с использованием обогащенной тяжелым изотопом  $\text{CO}_2$  оказываются обогащенными  $^{13}\text{C}$  относительно питающей  $\text{CO}_2$  [2]. За рамками модели оказалось и большое число фактов, свидетельствующих об изотопной утяжеленности метаболитов фотодыхания [17, 18, 51, 52]. Ряд выводов, следующих из модели, оказался в противоречии с фактами [42].

Кроме того, стационарная модель, удовлетворительно описывающая зависимость изотопного состава общего углерода биомассы растений и ее основных фракций от внешних факторов, в то же время не может объяснить внутримолекулярные изотопные различия в метаболитах. Единственная попытка [64] объяснить изотопную гетерогенность глюкозы (Г6Ф) на основе стационарной модели путем введения в нее дополнительных и в большинстве случаев мало обоснованных параметров представляется противоречивой и малообоснованной.

Стационарная модель оперирует усредненными потоками углеродных субстратов и балансовыми оценками, а описание изотопных распределений молекул требует учета кинетических изотопных эффектов конкретных ферментативных реакций, определяющих изотопный состав индивидуальных атомов. Поэтому попытки описать изотопные рисунки молекул на основе усредненных потоков заведомо обречены на неудачу.

*Осцилляционная модель.* Альтернативная осцилляционная модель [7, 44] утверждает, что фракционирование изотопов углерода при фотосинтезе происходит в двух сопряженных процессах — ассимиляции  $\text{CO}_2$  и фотодыхания, в которых эффектзадающими реакциями являются соответственно карбоксилирование РибФ и глициндекарбоксилазная реакция. При ассимиляции  $\text{CO}_2$  происходит обогащение биомассы изотопом  $^{12}\text{C}$  относительно ассимилируемого  $\text{CO}_2$ , при фотодыхании, напротив, — обеднение, т.е. эти процессы сопровождаются изотопными эффектами с противоположными знаками. Анализ изотопных эффектов при сопряжении ассимиляции и фотодыхания привел к заключению о существовании незатухающих фотосинтетических осцилляций [44], у которых одна из фаз ассимиляция  $\text{CO}_2$ , другая — фотодыхание. Это означает, что оба процесса разделены во времени, последовательно переключаясь с одного на другой. Осцилляции возникают благодаря способности ключевого фермента фотосинтеза работать в двух ипостасях, как карбоксилаза и как оксигеназа, под воздействием периодически меняющегося в клетке отношения концентраций  $\text{CO}_2/\text{O}_2$ . В результате при ассимиляции  $\text{CO}_2$  поступает в клетки листа дискретными порциями [5].

В отличие от стационарной модели, осцилляционная модель, предполагая периодическое исчерпывание / заполнение фондов субстратов, утверждает, что при исчерпывании фондов субстрата в эффектзадающих реакциях клетки возникает изотопный эффект Релея. Последний в условиях специфичности ферментативных

взаимодействий определяет характерное внутри- и межмолекулярное распределение изотопов углерода в метаболитах, зависящее от временной организации (последовательности клеточных процессов). Ниже будет показано, что осцилляционная модель способна объяснить наблюдаемые внутримолекулярные изотопные распределения метаболитов, в т.ч. распределения в глюкозе и других углеводных молекулах.

Предполагаемые осцилляции недавно были экспериментально подтверждены измерением вариаций концентрации внутриклеточного  $\text{CO}_2$  в подустьичном пространстве листа в условиях низкой концентрации  $\text{CO}_2$  (вблизи точки компенсации [58]). Среди хаотических флуктуаций удалось выделить периодическую составляющую и построить аттрактор, указывающий на наличие колебаний, которые авторы связали с механизмом сопряжения фотоассимиляции и фотодыхания.

Другим подтверждением фотосинтетических осцилляций могут считаться данные Сатока и Катока [60]. Авторы наблюдали пик замедленной люминесценции на 5-й секунде после возбуждающего импульса в экспериментах с зелеными водорослями *Vn>opsis maxima*, что свидетельствует об обратной связи фотодыхания и световых реакций фотосинтеза, разделенных во времени. Хотя авторы работали с изолированными хлоропластами, синтез фотодыхательных интермедиатов (фосфогликолата и гликолата) может приводить к появлению обратной связи через изменения pH и окисление гликолата, которое частично связано с хлоропластами и может непосредственно передавать электроны в их электрон-транспортную цепь, приводя к эффекту обратной связи [38]. Пик обратной связи заторможенной люминесценции тот же по длительности, что и пост-иллюминационный всплеск, явление, обусловленное окислением фотодыхательного глицина после выключения света.

Обоснованность такого объяснения подтверждается теоретическим моделированием эффекта обратной связи ассимиляции  $\text{CO}_2$  и фотодыхания на электронный транспорт фотосинтеза, возникающий после импульса возбуждения в виде двух пиков заторможенной люминесценции хлорофилла, разнесенных по времени на 1.6 с [19]. Авторы показали, что когда они убирали влияние фотодыхания, один из двух пиков люминесцентного спектра исчезал.

Дискретный характер ассимиляции  $\text{CO}_2$  приводит к дискретной динамике всех метаболических процессов. Это объясняет тот факт, почему изотопное фракционирование в ферментативных реакциях часто сопровождается изотопным эффектом Релея, связанного с истощением фондов. Комбинация обоих эффектов, отражающая временную организацию клеточных процессов, была показана ранее на примере гликолиза [6].

Обогащенность изотопом  $^{12}\text{C}$  ассимилированного углерода относительно питающего  $\text{CO}_2$ , появляющаяся при карбоксилировании РиБФ, может быть описана как:

$$(\delta^{13}\text{C}_{\text{биомассы}} \cdot 10^{-3} + 1) = (\delta^{13}\text{C}_{\text{CO}_2} \cdot 10^{-3} + 1) [1 - (1 - F)^{1/a}], \quad (3)$$

где  $\delta^{13}\text{C}_{\text{биомассы}}$  и  $\delta^{13}\text{C}_{\text{CO}_2}$  - изотопный состав ассимилированного углерода (биомассы) и исходного  $\text{CO}_2$  среды.  $F$  — степень истощения поступившей порции,  $a = \kappa^{12}/\kappa^{13}$  — эффективный коэффициент изотопного фракционирования при карбоксилировании РиБФ.

Для фотодыхания соответствующее выражение имеет аналогичный вид:

$$(\delta^{13}\text{C}_{\text{CO}_2} \cdot 10^{-3} + 1) = (\delta^{13}\text{C}_{\text{Г6Ф}} \cdot 10^{-3} + 1) [1 - (1 - F)^{1/a}], \quad (4)$$

где  $\delta^{13}\text{C}_{\text{Г6Ф}}$  и  $\delta^{13}\text{C}_{\text{CO}_2}$  — изотопный состав ассимилированного углерода (Г6Ф) и  $\text{CO}_2$  фотодыхания.  $F$  — степень истощения субстрата (Г6Ф), поступившего в фотоды-

хательную цепь,  $a' = \kappa^{12}/\kappa^{13}$  — эффективный коэффициент изотопного фракционирования при ферментативном декарбоксилировании глицина.

Как упомянутые утверждения применить к описанию распределения в Г6Ф?

### Внутримолекулярное изотопное распределение в Г6Ф в рамках осцилляционной модели

Прежде всего, в соответствии с осцилляционной моделью, проанализируем последовательность метаболических событий в углеродном метаболизме фотосинтеза и место в ней цикла Кальвина, где происходит синтез Г6Ф.

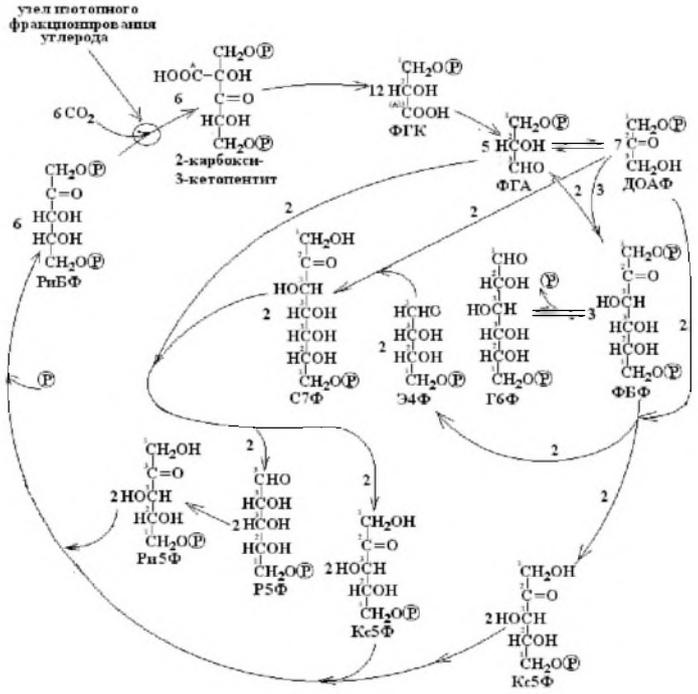
В карбоксилазную фазу функционирования Рубиско порция  $\text{CO}_2$  входит в клетку, и часть этой порции через цикл Кальвина превращается в углеводы. На входе в цикл весь ассимилированный углерод, в т.ч. углерод Г6Ф, при карбоксилировании РиБФ обогащается  $^{12}\text{C}$  относительно ассимилируемого  $\text{CO}_2$ . Через Г6Ф углеводы, образующиеся в карбоксилазной фазе, также обогащаются  $^{12}\text{C}$ . Степень обогащения определяется величиной исчерпывания вошедшей в клетку порции  $\text{CO}_2$ . Часть углеводов, предположительно в форме крахмала, запасается для обеспечения субстратами гликолитической цепи в темноте. Остальная часть Г6Ф остается в лабильном растворенном виде, и при переключении Рубиско на оксигеназную функцию углеводный поток через цикл Кальвина устремляется в фотодыхательную петлю, которая состоит из гликолатного цикла, сопряженного с циклом Кальвина. После прохождения гликолатного цикла поток углерода ресинтезирует в цикле Кальвина Г6Ф и образует углеводные фонды преимущественно лабильных сахаров.

В оксигеназную фазу функционирования фермента фракционирование изотопов происходит в глициндегидрогеназной реакции. Выделяющийся в ней  $\text{CO}_2$  обогащен  $^{12}\text{C}$  относительно углерода углеводов, образовавшихся в карбоксилазной фазе. В то же время оставшийся углеводный фонд накапливает  $^{13}\text{C}$ . Фотодыхательные метаболиты, которые образуются параллельно при вращении потока в фотодыхательной петле, также накапливают «тяжелый» изотоп. И снова благодаря эффекту Релея степень обогащения метаболитов фотодыхания изотопом  $^{13}\text{C}$  от степени исчерпывания углеводного фонда.

*Анализ изотопного распределения изотопов углерода в Г6Ф и карбоксилазную фазу* Работа цикла Кальвина в карбоксилазную фазу функционирования Рубиско хорошо известна и описана во многих учебниках по фотосинтезу [30]. Пользуясь общепринятой схемой цикла (рис. 2), можно оценить изотопное распределение, возникающее в продукте цикла — Г6Ф. Обозначив атомы  $\text{CO}_2$  и РиБФ акцептора, входящих в цикл, как показано на рисунке 2, можно получить уравнения материального и изотопного баланса для каждого из атомов, входящих в цикл субстратов (см. приложение). Это позволяет рассчитать изотопное распределение углерода Г6Ф на каждом обороте цикла Кальвина в карбоксилазной фазе. Зависимость изотопного распределения от числа оборотов цикла дается простыми рекуррентными уравнениями, учитывающими смешение атомов в транскетолазных и трансальдолазных реакциях цикла и специфичность ферментативных взаимодействий [11]. В отличие от Черкеза и др. [64], мы полагаем, что в цикле Кальвина нет изотопного фракционирования углерода, так как на это ничто не указывает. Что касается косвенных фактов, например, изотопных эффектов в ферментативных реакциях *in vitro*, на которые опираются упомянутые авторы, то они не могут быть аргументами ни «за», ни «против», поскольку реакции *in vitro* не могут воспроизвести условия сопряженности реакций, существующие в клетке, от которых зависит изотопный эффект. Различия могут возникать не только по величине, но и по знаку [40, 43, 44].

Результаты расчета изотопного распределения Г6Ф с использованием алгоритма, данного в Приложении, представлены в таблице 1.

Поскольку при карбоксилировании РиБФ изотопный эффект возникает на входе в цикл Кальвина, изотопный состав каждого фиксированного атома углерода претерпевает изотопные смещения, равные величине изотопной дискриминации. Имея ввиду отсутствие изотопного фракционирования в цикле и эффективное перемешивание атомов в транскетолазных и трансальдолазных реакциях цикла (своеобразном изотопном миксуре), следует предположить, что все метаболиты цикла, включая Г6Ф, имеют равномерное изотопное распределение, несмотря на исходную изотопную неравномерность



**Рис. 2.** Схема функционирования цикла Кальвина в карбоксилазной фазе фотосинтетических колебаний. Цифры перед изображением молекул показывают количество молекул, участвующих или образующихся в превращениях цикла. Цифры над изображением атомов показывают номера углеродных атомов в ФГК. По атомам ФГК прослеживаются их перемещения при каждом обороте

Т а б л и ц а 1

**Изотопный состав углеродных атомов Г6Ф и РиБФ, образующихся в цикле Кальвина на п-м обороте в карбоксилазную фазу функционирования РБФКО**

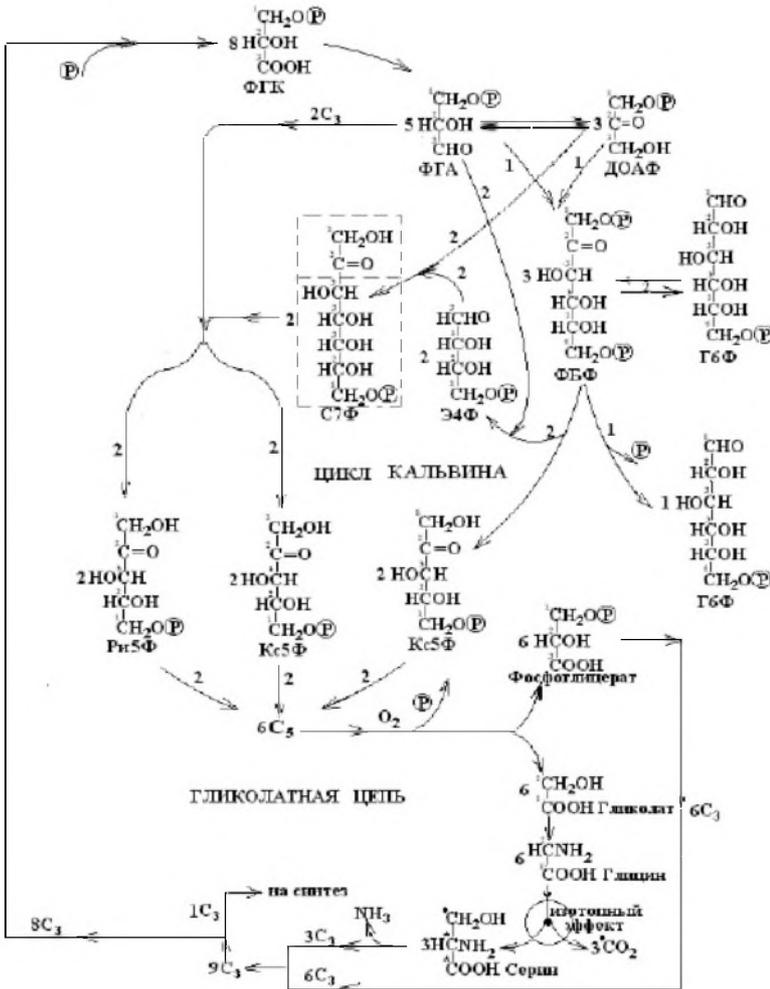
Число оборотов п		1		5		10		15		20	
N атома	Исх. RuBP	G6P	RuBP	G6P	RuBP	G6P	RuBP	G6P	RuBP	G6P	RuBP
1	-25.0	-25.0	-25.0	-24.0	-22.9	-22.9	-21.2	-22.1	-20.5	-21.7	-20.2
2	-25.0	-25.0	-25.0	-24.0	-22.9	-22.9	-21.2	-22.1	-20.5	-21.7	-20.2
3	-25.0	-22.5	-22.5	-21.0	-20.1	-20.3	-20.0	-20.3	-20.0	-20.3	-20.0
4	-25.0	-22.5	-24.2	-21.0	-22.0	-20.3	-20.8	-20.3	-20.3	-20.3	-20.1
5	-25.0	-25.0	-24.2	-24.0	-22.0	-22.9	-20.8	-22.1	-20.3	-21.7	-20.1
6		-25.0		-24.0		-22.9		-22.1		-21.7	

П р и м е ч а н и е . Принято, что изотопная дискриминация  $\Delta^{13}C$  относительно  $CO_2$  среды ( $\delta^{13}C = 0\%$ ) равна  $-20\%$ . Изотопный состав углеродных атомов выражен в промилле относительно изотопного состава углерода ассимилируемого  $CO_2$ .

РиБФ [4] и на различия исходного углерода  $\text{CO}_2$  и его акцептора РиБФ. Из таблицы 1 видно, что уже после 20-го оборота цикла достигается практически равномерное распределение изотопов, даже если принять встречаемые в растениях максимально возможные различия в изотопном составе первичных ассимилятов и продуктов вторичного метаболизма (в примере, приведенном в таблице, изотопный состав фиксированного углерода принята за 20%, изотопный состав РиБФ — за 25 % соответственно), определяющих различия исходных субстратов. С ростом числа оборотов цикла (что эквивалентно количеству молекул  $\text{CO}_2$ , приходящихся на одну молекулу РиБФ, поступающих в цикл) изотопный состав каждого атома углерода Г6Ф стремится к изотопному составу питающего  $\text{CO}_2$  (в данном примере к 20 %). Следует заметить, что окончательное распределение Г6Ф практически не зависит от исходного распределения в РиБФ. Именно поэтому в расчетах мы считали его равномерным,

что упрощало анализ изменений изотопного состава атомов при оборотах цикла.

*Анализ изотопного распределения углерода Г6Ф оксигеназной фазы.*  
Работа цикла Кальвина в оксигеназную фазу обеспечивается углеродом, источником которого является Г6Ф, синтезированный в предшествующую карбоксилазную фазу (рис. 3). Изотопное распределение глюкозы (Г6Ф), синтезированной в оксигеназную фазу, оценивалось аналогично тому, как это делалось в предыдущем случае. С учетом специфичности взаимодействий и перемешивания углеродных атомов в цикле, а также изотопного фракционирования в глициндегидрогеназной реакции составлялся мате-



**Рис. 3.** Схема функционирования цикла Кальвина в оксигеназной фазе фотосинтетических колебаний. Обозначения имеют тот же смысл, что на рисунке 1. Пунктирной линией показан узел изотопного фракционирования в глициндекарбоксилазной реакции

риальный и изотопный баланс по каждому атому участвующих в цикле субстратов. Зависимость изотопного состава атомов от числа оборотов цикла определялась с помощью соответствующих рекуррентных формул (см. приложение). Результаты расчета изотопного распределения Г6Ф приведены в таблице 2.

Таблица 2

**Результаты расчёта распределения изотопов углерода Г6Ф, остающегося в фотодыхательном фонде по мере его исчерпания за n оборотов цикла Кальвина**

N атома	Исходн. Г6Ф	Число оборотов n								
		10	20	30	40	50	60	70	80	90
1	-20.0	-20.3	-20.7	-21.1	-21.4	-21.9	-22.4	-23.0	-23.7	-24.6
2	-20.0	-19.7	-19.4	-19.1	-18.7	-18.3	-17.8	-17.2	-16.4	-15.2
3	-20.0	-19.5	-18.8	-18.1	-17.3	-16.4	-15.2	-13.8	-11.9	-8.8
4	-20.0	-19.5	-18.8	-18.1	-17.3	-16.4	-15.2	-13.8	-11.9	-8.8
5	-20.0	-19.7	-19.4	-19.1	-18.7	-18.3	-17.8	-17.2	-16.4	-15.2
6	-20.0	-20.0	-20.7	-21.1	-21.4	-21.9	-22.4	-23.0	-23.0	-24.6

**Примечание.** Расчёт проводили с учётом величины кинетического изотопного эффекта декарбоксилирования глицина, равной  $\alpha =^{12}k/^{13}k = 1,020$ . Принято, что в фонд фотодыхательной глюкозы после карбоксилазной фазы поступает 100 молекул. Изотопный состав углеродных атомов Г6Ф, поступающего в цикл после карбоксилазной фазы, принят равным -20‰. При каждом 10 оборотах цикла степень исчерпания фонда составляет 10%.

Главное отличие глюкозы, синтезированной в оксигеназную фазу, от глюкозы, синтезированной в карбоксилазную фазу, в том, что распределение последней неравномерно и характеризуется сильным обогащением тяжелым изотопом по положениям C-3 и C-4 и соответствующим облегчением (обогащением  $^{12}C$ ) от середины к концам молекулы. Легкий изотоп как бы «вымывается» из центра к периферии молекулы. Причем с ростом числа оборотов цикла внутримолекулярная изотопная неоднородность увеличивается при обогащении общего углерода молекулы изотопом  $^{13}C$ .

Различия изотопных распределений в глюкозе, синтезируемой в разных фазах, легко объясняются тем, что в карбоксилазную фазу исходные изотопные различия субстратов цикла на каждом новом обороте размываются вновь поступающим  $CO_2$ , а в оксигеназную фазу изотопный эффект, порождающий изотопные различия, на каждом обороте воспроизводится.

**Распределение  $^{13}C$  в глюкозе крахмала запасующих органов растений**

Экспериментально исследовалось изотопное распределение глюкозы крахмала запасующих органов ряда растений. Для интерпретации изотопного распределения в глюкозе достаточно знать изотопное распределение Г6Ф, которое ею полностью наследуется (см. рис.1). Данные Эйблсона и Хоуринга [21] позволяют предполагать, что процессы полимеризации при образовании крахмала и при его деполимеризации до глюкозы не сопровождаются заметными изотопными эффектами. Поскольку атомы углерода глюкозы не обменоспособны, считается, что распределение  $^{13}C$  в глюкозе крахмала отражает изотопное распределение Г6Ф, использованного на его синтез.

Экспериментально изученное независимыми исследователями изотопное распределение глюкозы крахмала запасующих органов у ряда растений представлено в таблице 3, из которой видно, что у всех изученных растений внутримолекулярное

Распределение изотопов углерода в глюкозе крахмала  
запасяющих органов ряда растений [14, 33, 57]

Объект	$\delta^{13}\text{C}$ глюкозы	$\Delta^{13}\text{C} = \delta^{13}\text{C}_i - \delta^{13}\text{C}_{\text{глюкозы}}$ $i$ — номер атома					
		$\text{OCH}_{(1)} - \text{HC}_{(2)}\text{OH} - \text{OHC}_{(3)}\text{H} - \text{HC}_{(4)}\text{OH} - \text{HC}_{(5)}\text{OH} - \text{C}_{(6)}\text{H}_2\text{OH}$					
		$\text{C}_1$	$\text{C}_2$	$\text{C}_3$	$\text{C}_4$	$\text{C}_5$	$\text{C}_6$
Beta vulgaris, клубень	-25.2	-1.6	-0.4	+2.1	+6.3	-1.7	-5.1
Zea mays, семена	-10.8	-1.7	-0.1	+1.1	+3.6	-0.2	-3.6
Zea mays, семена	-12.5	-3.1	+1.9				-1.9
Triticum aestivum, семена	-23.1	-7.1	+3.5*				-7.1
Solanum tuberosum, клубень	-24.9	-9.1	+4.5*				-9.1
Oryza sativa, семена	-26.1	-6.9	+3.5*				-6.9
Pisum sativum, семена	-24.9	-4.1	+2.1*				-4.1

Примечание. Изотопные сдвиги углеродных атомов  $\Delta^{13}\text{C}$  (‰) приведены относительно общего углерода глюкозы. Величины  $\delta^{13}\text{C}$  глюкозы даны относительно стандарта PDB. \* Величины  $\delta^{13}\text{C}$  атомов C-3 и C-4 рассчитывались по данным [33] из предположения, что изотопный состав углерода остальных атомов равен изотопному составу атомов C-1.

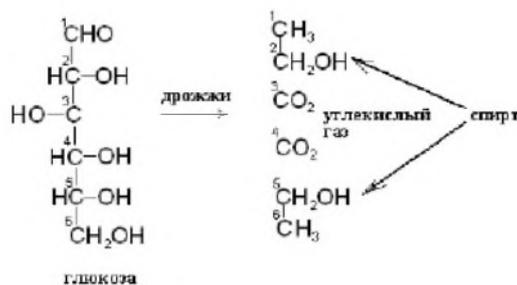


Рис. 4. Схема, иллюстрирующая наследование атомов в процессе ферментации глюкозы

распределение изотопов углерода в глюкозе (Г6Ф) одинаково. Главная его особенность состоит в том, что углеродные атомы глюкозы в положении C-3 и C-4 обогащены изотопом  $^{13}\text{C}$  относительно общего углерода молекулы и концевых атомов.

Практически такие же результаты были получены в экспериментах по ферментации глюкозы и сахарозы, конечными продуктами которой являются спирт и  $\text{CO}_2$ . Из рисунка 4 можно видеть, что спирт наследует атомы глюкозы из позиций C-1, C-6, C-2 и C-5, а  $\text{CO}_2$  наследует атомы глюкозы C-3 и C-4. Поэтому мож-

но проанализировать изотопные различия атомов в соответствующих положениях глюкозы (табл. 4). Во всех случаях  $\text{CO}_2$ , выделяемый при ферментации, оказался обогащенным  $^{13}\text{C}$  по сравнению с углеродом этанола, т.е. опыт подтвердил полученный ранее результат.

Установленное распределение в глюкозе крахмала очень напоминает рисунок распределения, полученный для Г6Ф оксигеназной фазы (см. табл. 3), за исключением некоторых деталей. Обогащенность атомов углерода в положениях C-3 и C-4 асимметрична. В положении C-4 углерод обогащен тяжелым изотопом в большей степени, чем в положении C-3. Небольшая асимметричность прослеживается и для пары C-2 и C-5. Атом C-2 в большей степени обогащен  $^{13}\text{C}$ .

Мы полагаем, что причиной этих различий является межмолекулярный изотопный обмен, который происходит в обратимых реакциях кето-енольной изомеризации триоз (рис. 5). Причем это не обмен между атомами Г6Ф и триозами, как



лы), в опытах по газообмену обнаружил идентичное распределение  $^{14}\text{C}$  между положениями С-1 и С-6 и очень тесную корреляцию между распределением  $^{14}\text{C}$  и природным распределением  $^{13}\text{C}$  по остальным положениям ( $r^2 = 0,81 - 0,87$ ) [39].

Косвенные доказательства, подтверждающие, что изотопная гетерогенность Г6Ф связана с фотодыханием, позволяют сопоставить изотопный состав углеродных атомов в глюкозе крахмала  $\text{C}_3$ - и  $\text{C}_4$ -растений (табл. 5). Известно, что в  $\text{C}_4$ , в отличие от  $\text{C}_3$ -растений, в силу анатомических особенностей фотодыхание редуцировано [30]. Следовательно, углеводный фонд у них должен быть образован преимущественно из Г6Ф карбоксилазной фазы, и внутримолекулярная изотопная неоднородность в глюкозе должна быть значительно менее выражена.

Таблица 5

**Сравнение внутримолекулярных изотопных распределений углерода в глюкозе  $\text{C}_3$ - и  $\text{C}_4$ -растений. Данные получены на основе анализа изотопного состава продуктов деструкции глюкозы при ферментации [39]**

Позиция	$\Delta(\text{C}_3)$	$\Delta(\text{C}_4)$	$\Delta(\text{C}_3 - \text{C}_4)$
С-1	-1.3	+0.9	-2.2
С-2	-0.9	-0.1	-0.8
С-3	+1.9	-0.7	+2.6
С-4	+6.3	+5.2	+1.1
С-5	-1.1	-0.1	-1.0
С-6	-4.9	-4.8	-0.1

**Примечание.** Величины, характеризующие изотопный состав по каждому из положений углеродных атомов, рассчитывались как разница между изотопным составом углерода в данном положении и углеродом всей глюкозы  $\Delta_i = \delta^{13}\text{C}_i - \text{C}_{\text{общ}}$ .

Действительно, можно видеть (3-я колонка таблицы 5), что различия в изотопном составе каждого из 6 атомов углерода глюкозы у  $\text{C}_3$  и  $\text{C}_4$ -растений свидетельствуют о том, что у первых внутримолекулярная изотопная неоднородность больше, что соответствует более интенсивному фотодыханию.

Много фактов указывают на то, что запасающие органы растений формируются на поздних стадиях онтогенеза. На этой стадии биохимические сдвиги метаболизма указывают на усиление фотодыхания. Это проявляется в усилении вклада гликолатного пути, накоплении окисленных продуктов [1], существенном усилении оксидазной активности в старых листьях по сравнению с молодыми и в других признаках [16]. Было также обнаружено, что ингибиторы фотодыхания тормозят старение [53].

Указанные метаболические сдвиги соответствуют наблюдаемому накоплению  $^{13}\text{C}$  в биомассе растения по мере его старения. В старых листьях отмечается обогащение биомассы изотопом  $^{13}\text{C}$  по сравнению с молодыми [15,45]. Сильное снижение изотопной дискриминации  $^{13}\text{C}$  было обнаружено у пшеницы на стадии созревания [15]. Аналогичные изменения были обнаружены в листьях фасоли [68] и хлопка [59]. Все эти факты позволяют утверждать, что наблюдаемая изотопная гетерогенность углеводов единиц, гексоз, в крахмале запасающих органов, равно как их «тяжелый» изотопный состав, связана с Г6Ф, производимым в оксигеназной фазе функционирования Рубиско.

## Другие факты по изучению изотопного состава углерода сахаридов и их интерпретация в рамках осцилляционной модели

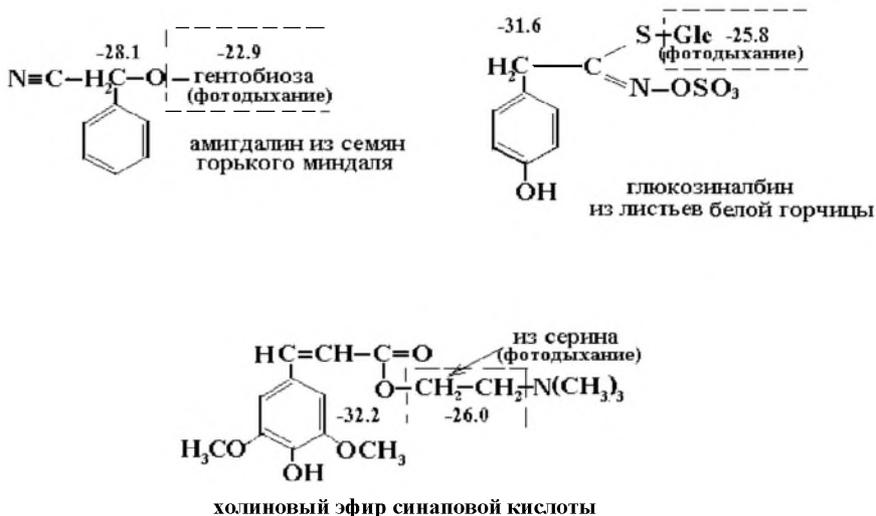
Приведенные данные демонстрируют существование в клетке двух изотопно-различающихся потоков углеродных субстратов, образующихся в карбоксилазную и оксигеназную фазу работы Рубиско и являющихся результатом фотосинтетических осцилляций. Логическим выводом из сказанного является утверждение о существовании в клетке двух изотопно-различающихся фондов углеводов, питающих упомянутые потоки [44]. Вопрос заключается в том, как эти два потока, проходя через цикл Кальвина, через общие участки метаболического пути не перемешиваются? Ответ может быть только один. Фонды работают *разновременно*. В карбоксилазную фазу ГбФ, образующийся в цикле Кальвина, сразу же утилизируется (в пределах исчерпывания поступившей порции  $\text{CO}_2$ ) на синтез резервного углеводного фонда для питания гликолитической цепи в темновой период и на синтез лигнинов. Они хранятся в полимеризованном виде и не могут участвовать в реакциях оксигеназной фазы.

В темновой период «легкий» фонд, образованный в карбоксилазную фазу, питает гликолитическую цепь и сопряженный синтез жирных кислот и аминокислот, а также синтез лигнинов. В этом причина их относительно «легкого» изотопного состава. Он также обеспечивает субстратами темновое дыхание через декарбоксилирование пирувата и функционирование цикла Кребса [4].

В оксигеназную фазу лабильный фонд ГбФ питает фотодыхательную петлю и «утяжеляется» с каждым оборотом цикла. Фонд используется для образования фондов преимущественно лабильных углеводов (сахарозы, фруктанов), а также фотодыхательных субстратов, таких как пролин, глицин, серии, оксалаты и т.д. Синтез органических кислот, который происходит в темновой период, также использует углеводный фонд, образованный в оксигеназную фазу. Изотопный состав образующихся метаболитов определяется степенью исчерпывания фонда, связанного с фотодыхательной петлей. Причем метаболиты, образующиеся при разных степенях исчерпывания, будут различными по изотопному составу. Следует заметить, что у некоторых видов растений могут существовать альтернативные пути биосинтеза перечисленных метаболитов, использующих углерод, проходящий через гликолитическую цепь, и тогда их изотопный состав будет иным.

На рисунке 6 представлены примеры сложных метаболитов, у которых синтез одной из частей молекулы связан с «легким» потоком субстратов, другой — с «тяжелым». Это растительные гликозинолаты, изученные Шмидтом и др. [62], а именно амигдалин из семян горького миндаля, глюкоинальбин и холиновый эфир синаповой кислоты из листьев белой горчицы.

Две первые молекулы имеют две различные по изотопному составу части. Одна из них агликоновая (неуглеводная) синтезирована через гликолитическую цепь и связана с «легким» углеводным фондом, образованным в карбоксилазной фазе. Другая часть углеводного происхождения, предположительно связанная с фондом, образованным в оксигеназную фазу, и потому обогащена изотопом  $^{13}\text{C}$  относительно первой части. Третий глюкозинолат (см. рис. 6) не имеет углеводной части, но имеет фрагмент, наследующий скелет серина, который тоже образуется в оксигеназной фазе и тоже обогащен  $^{13}\text{C}$ .



**Рис. 6.** Изотопное распределение углерода в некоторых растительных глюкозилонатах. Цифры рядом с молекулами показывают величины  $\delta^{13}\text{C}$  соответствующих фрагментов молекул

Далее показано, как изотопные данные по общему углероду молекул соответствуют осцилляционной гипотезе. Экспериментальные данные, представленные в таблицах 6-9, приводят к следующим выводам:

1. Среди биохимических фракций биомассы углеводная фракция самая «тяжелая»;
2. Индивидуальные углеводы различаются по изотопному составу углерода;
3. Углеводные фонды из разных органов растений имеют разный изотопный состав углерода;
4. В зависимости от времени отбора проб изотопный состав одних и тех же фракций углеводов различается.

Таблица 6

**Вариации изотопного состава углерода углеводных и структурных компонентов тропического растения  $\text{C}_3$ -CAM типа *Clusia minor* в зависимости от факторов внешней среды [23]**

Фракции и компоненты биомассы	Влажный сезон		Сухой сезон	
	экспонированный лист	затененный лист	экспонированный лист	затененный лист
Структурные компоненты	-27.2 ± -26.6	-31.2 ± -31.4	-27.1 ± -27.5	-31.0 ± -31.8
Липиды, пигменты	-28.2 ± -28.7	-32.2 ± -33.3	-27.1 ± -27.7	-30.8
Аминокислоты	-30.2 ± -31.7	-32.0 ± -32.6	-31.2 ± -32.3	-32.4 ± -32.7
Растворимые сахара	-21.2 ± -23.6	-29.2 ± -30.5	-17.9 ± -20.4	-21.4 ± -24.3
Глюканы	-22.3 ± -22.6	-27.6 ± -27.5	-23.6 ± -26.8	-23.6 ± -26.8
Крахмал	-22.3 ± -22.1	-27.2 ± -27.8	-23.1 ± -23.6	-26.6 ± -27.9
Органические кислоты	-20.6 ± -22.3	-27.6 ± -27.7	-17.6 ± -21.1	-21.8 ± -24.5

Примечание. Величины  $\delta^{13}\text{C}$  приведены в промилле относительно стандарта PDB.

Таблица 7

**Вариации изотопного состава углерода некоторых углеводов компонентов из листа и корня сахарной свеклы ( $C_3$ -растение) в течение светового периода [37]**

Орган	Время отбора пробы	10.00	14.00	17.00
Лист	Крахмал	- 28.9	- 28.2	- 27.5
	Сахара	- 24.8	- 24.3	- 23.9
	Целлюлоза	- 26.8	- 27.4	- 26.8
Корень	Сахара	- 26.1	- 26.4	- 25.7
	Целлюлоза	- 28.4	- 27.5	- 27.1

Примечание. Величины  $\delta^{13}C$  даны в ‰ относительно стандарта PDB.

Таблица 8

**Сопоставление изотопного состава углерода некоторых компонентов углеводной фракции с изотопным составом общего углерода белковой и липидной фракций для листа САМ растения *Bryophyllum daigramontiana* Berger [27]**

Фракции		Утро	Вечер
Углеводы	Целлюлоза	-16.8+ -17.7	-16.2+ -16.8
	Крахмал	-13.3+ -13.8	-12.5+ -13.4
Белки, общий углерод		-22.1+ -22.6	-22.6+ -22.7
Липиды, общий углерод		-25.8 + -27.3	-24.6 + -27.3

Таблица 9

**Изотопный состав биохимических фракций биомассы морской водоросли *Chlorella stigmatophora* при различной солености воды [13]**

Index	Концентрация NaCl в среде, mM		
	0	425	595
$\delta^{13}C$ липидов, ‰	- 66.0	- 65.0	- 63.8
$\delta^{13}C$ белков, ‰	- 42.1	- 49.0	- 47.3
$\delta^{13}C$ пролина, ‰	- 29.0	—	- 30.5
$\delta^{13}C$ растворимых сахаров, ‰	- 30.0	—	- 31.5

$\delta^{13}C$  питающей  $CO_2$  = -21‰.

Согласно рассмотренной гипотезе обогащенность углеводов изотопом  $^{13}C$  относительно других фракций объясняется тем, что значительная ее часть образуется за счет оксигеназной функции Рубиско.

Различия в изотопном составе индивидуальных углеводных фондов объясняются тем, что они накапливаются в оксигеназной фазе при разных степенях истощения фотодыхательного фонда. Ранее такой же механизм появления изотопных различий был доказан для метаболитов, синтезируемых при гликолизе [10].

Рассмотренный выше механизм ответственен за изотопные различия одноименных метаболитов, синтезируемых разными органами растений. Мы полагаем, что это связано с тем, что их синтез использует Г6Ф при разных степенях истощения фотодыхательного фонда, т.е. синтез одного и того же метаболита происходит в различных органах при разных условиях, что и приводит к сдвигу в последователь-

ности синтеза метаболитов и к соответствующим изменениям в изотопном составе углерода.

Значительная зависимость изотопного состава углерода углеводов от времени отбора пробы — результат разного вклада в метаболизм (биомассу) Г6Ф, синтезируемого в карбоксилазную фазу и в оксигеназную фазу, и в синтез соответствующих углеводных фондов, т.е. это результат биохимической адаптации растения к суточным изменениям, в т.ч. к изменению освещенности [22, 28].

Аналогичным образом реагирует изотопный состав углеводов и биомассы на влияние других факторов среды [9].

Несмотря на вариабельность изотопного состава углерода углеводов, определяемую внешними факторами, определенные закономерности в изотопном распределении углеводов можно проследить. Например, структурные компоненты (целлюлоза, гемицеллюлоза), как правило, обогащены  $^{12}\text{C}$  и близки по изотопному составу. Это означает, что они образуются практически одновременно (при одинаковых степенях истощения фотодыхательного фонда). В то же время лабильные сахара обычно обогащены  $^{13}\text{C}$ , а крахмал и глюканы имеют промежуточный изотопный состав. Иногда этот порядок нарушается в результате действия каких-либо факторов среды. Во влажный сезон в затененных листьях растворимые сахара резко обогащаются  $^{12}\text{C}$ , такие же значения изотопного состава характерны для крахмала в сухой сезон в затененных листьях [23]. Это означает, что в ходе эволюции и в результате адаптации к текущим условиям среды изменения в изотопном составе углеводов в распределении  $^{13}\text{C}$  между ними отражают изменения во временной последовательности синтеза метаболитов, вплоть до включения в синтез альтернативных путей.

Изотопный состав углерода углеводов часто сравнивают с изотопным составом лигнинов, так как в их синтезе много общего (рис. 7). Синтез лигнинов сопряжен с работой цикла Кальвина, в котором образуются нужные для синтеза эритрозы. Эритрозы взаимодействуют с двумя молекулами пирувата и образуют фенилпропаноидные структуры ( $\text{C}_6$  -  $\text{C}_3$ ). Эти структуры претерпевают полимеризацию и в конечном счете превращаются в лигнин. Было обнаружено, что лигнины, независимо от типа растения ( $\text{C}_3$  или  $\text{C}_4$ ), всегда обогащены  $^{12}\text{C}$  относительно целлюлозы (табл. 10).

Причину разного изотопного состава углерода углеводов (целлюлозы) и лигнинов следует искать в различии механизмов изотопного фракционирования на путях их синтеза. «Легкий» изотопный состав углерода лигнинов, который близок к изотопному составу липидов, позволяет предположить, что эритрозы образуются в карбоксилазной фазе работы цикла Кальвина. Это подтверждается тем фактом, что обе молекулы фосфоенопирувата (ФЕП), которые далее взаимодействуют с эритрозой, также принадлежат потоку, поднимающемуся по гликолитической цепи при глюконогенезе [4]. Источником для последнего являются углеводы, образующиеся в карбоксилазной фазе. Таким образом, стабильную разницу в изотопном составе между целлюлозой и лигнинами (см. табл. 10) можно объяснить тем, что первые связаны с

Таблица 10

**Сопоставление изотопного состава углерода целлюлозы и лигнина (D =  $\delta^{13}\text{C}_{\text{целлюлоза}}$  -  $\delta^{13}\text{C}_{\text{лигнин}}$ ) для различных тканей  $\text{C}_3$  и  $\text{C}_4$  растений [39]**

Сопоставляемые объекты	$\text{C}_3\%$	$\text{C}_4\%$	Тип ткани
Целлюлоза - лигнин	3.5	-	Древесина
Целлюлоза - лигнин	4.1	6.2	Различные ткани
Целлюлоза - лигнин	4.6	5.1	Листья
Целлюлоза - лигнин	2.5	4.6	Корень

углеродом субстратов, образующихся в карбоксилазной фазе, а вторые тем, что их синтез происходит из субстратов оксигеназной фазы.

Из таблицы 10 можно также заметить, что различия в изотопном составе целлюлозы и лигнинов у  $C_3$ -растений больше, чем у  $C_4$ -растений. На наш взгляд, причина этих различий кроется вне изотопного фракционирования в углеводном метаболизме и связана с изотопным фракционированием углерода, происходящим в гликолитической цепи в темноте.

Ключевой эффект задающей реакцией при этом является ферментативное декарбоксилирование пирувата. Изотопный состав

углерода ФЕИ, используемого на синтез лигнина, определяется изотопным составом пирувата. Последний, как и изотопный состав глицина при фотодыхании в гликолатной цепи, связан с величиной истощения фонда субстрата, другими словами, определяется эффектом Релея. В случаях, когда ФЕИ используется на синтез лигнина, происходит истощение пируватного фонда. Более «тяжелый» изотопный состав лигнинов у  $C_3$ -растений можно трактовать как результат более интенсивного синтеза лигнинов  $C_3$ -растениями (или большей концентрацией в них лигнинов), вследствие чего отмечается большее истощение фонда и более «тяжелый» изотопный состав лигнинов у  $C_3$ -растений.

Сказанное косвенно подтверждается корреляцией ( $\Delta = 5^{13}C_{\text{cellulose}} - 5^{13}C_{\text{lignin}}$ ) с содержанием лигнинов на рисунке 8. Корреляция изучалась для древесных растений и травянистых растений  $C_3$ - и  $C_4$ -типа [39]. Чем

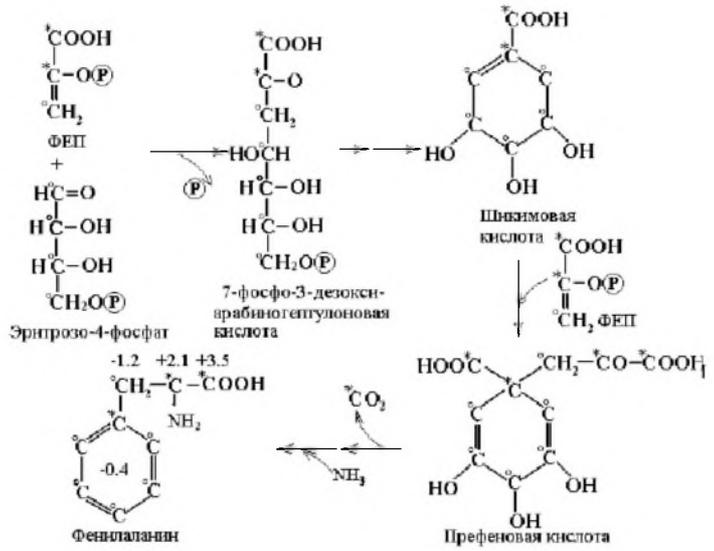


Рис. 7. Шикиматный путь синтеза пировиноградной кислоты, углеродный скелет которой используется для биосинтеза лигнина в растениях. Цифры над атомами показывают величину изотопных сдвигов атомов относительно среднего изотопного состава. Звездочки и кружочки показывают места, куда попадают атомы, унаследованные от исходных субстратов

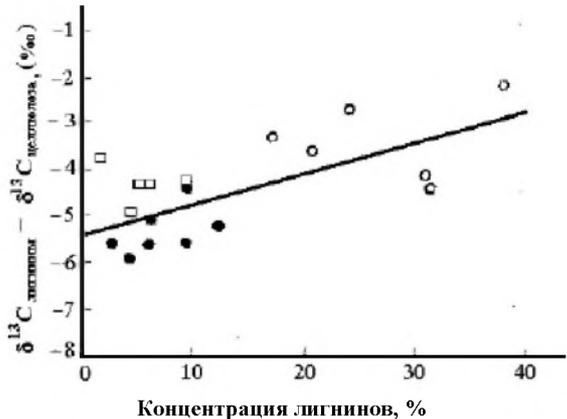
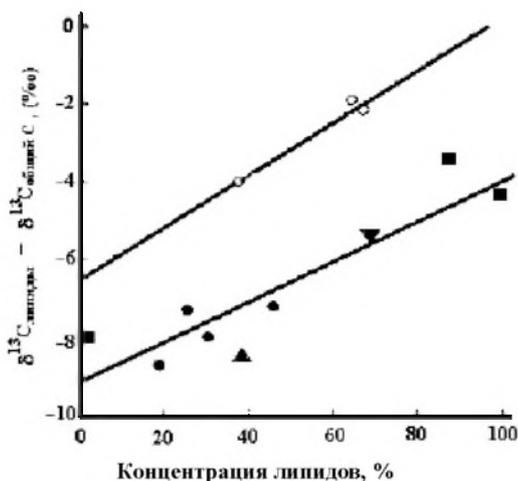


Рис. 8. Корреляция между концентрацией лигнина и изотопным сдвигом лигнина относительно целлюлозы [39]. Пустые кружочки — деревья; заливные кружочки —  $C_4$ -травы; пустые квадратики —  $C_3$ -травы. Подробности в тексте



**Рис. 9.** Корреляция между концентрацией липидов и изотопным сдвигом липидов относительно углерода общей биомассы листы для древесной и недревесной растительности [39]. Пустые кружочки — деревья; заливные кружочки —  $C_4$ -травы; заливные квадратики —  $C_3$ -травы; треугольники кверху — папоротники; треугольники книзу — кустарники

сти. Причина подобия очевидна. Одинаковая причина объясняет одинаковый характер корреляции.

Тем не менее, приведенное объяснение мы рассматриваем как предварительное, пока еще экспериментальных данных недостаточно.

### Закключение

Распределение  $^{13}C$  в углеводах тесно связано с механизмом фотосинтеза. В соответствии с осцилляционной моделью углеродный метаболизм фотосинтеза предствляет собой незатухающие колебания, состоящие из двух фаз - ассимиляции  $CO_2$  и фотодыхания. Рубиско регулирует эти осцилляции, переключая их с ассимиляции на фотодыхание и обратно в зависимости от периодически меняющегося в клетке отношения концентраций ССК/СК. В разные фазы колебаний в клетке возникают два различающихся по изотопному составу углеводных фондов. Изотопный состав и распределение изотопов углерода в ГбФ этих фондов определяются двумя разными по знаку изотопными эффектами. Один из них, изотопный эффект карбоксилирования РиБФ, появляется в фазе ассимиляции  $CO_2$  (в карбоксилазной фазе функционирования Рубиско), другой изотопный эффект в глициндекарбоксилазной реакции появляется в фазе фотодыхания (в оксигеназной фазе функционирования Рубиско). Оба эффекта имеют кинетическую природу и сопряжены с истощением фондов субстратов.

Глюкозо-6-фосфат (ГбФ) - главная единица углеводного метаболизма в обеих фазах — играет определяющую роль в формировании изотопного состава углерода индивидуальных углеводов и их изотопных распределений. В карбоксилазной фазе главный продукт функционирования цикла Кальвина ГбФ благодаря изотопному эффекту РиБФ карбоксилирования и рандомизации атомов в транскетотазных и трансальдозазных реакциях приобретает «легкий» изотопный состав (обогащенность изотопом  $^{12}C$ ) и близкое к равномерному распределение изотопов углерода. Степень обогащенности  $^{12}C$  зависит от степени использования порции

больше концентрация лигнинов в указанном ряду (больше степень истощения пируватного фонда), тем «тяжелее» лигнины и меньше разница между изотопным составом целлюлозы и лигнинов.

В качестве другого косвенного аргумента можно привести аналогичную корреляцию между разницей в изотопном составе липидов углерода и общего углерода растения и содержанием в нем липидов, обнаруженную Парком и Эпстайном еще в 1961 г. [49] и позднее подтвержденную в работе [25]. Синтез липидов также связан с потоком, проходящим через гликолитическую цепь в темновой период, а их изотопный состав определяется изотопным эффектом декарбоксилирования пирувата и зависит от степени истощения пируватного фонда [4]. На рисунке 9 можно видеть практически аналогичный характер корреляции: одна для деревьев, другая — для недревесной растительности.

CO<sub>2</sub>, поступившей при ассимиляции в клетку. Ассимилированный углерод утилизируется для создания углеводного фонда, чтобы в темновой период питать гликолитическую цепь и сопряженный синтез большинства липидов, протеинов, лигнинов и некоторых других метаболитов. Все продукты обогащены <sup>12</sup>C относительно питающей CO<sub>2</sub>. Параллельно с вышеназванным создается лабильный фонд Г6Ф для питания фотодыхательной петли, состоящей из гликолатного цикла, сопряженного с циклом Кальвина.

В оксигеназной фазе углеродный поток в цикле Кальвина меняет свое направление на противоположное. Субстраты лабильного фонда, проходя через фотодыхательную петлю, подвергаются воздействию изотопного эффекта глициндекарбоксилазной реакции и возвращаются в фонд с другим изотопным составом. Г6Ф, ресинтезированный в фотодыхательной петле, имеет «тяжелый» изотопный состав (обогащенный <sup>13</sup>C) и неравномерное распределение изотопов углерода. Степень обогащенности углеводов <sup>13</sup>C и их изотопной гетерогенности определяется числом оборотов потока субстратов в фотодыхательной петле. В ходе фотодыхания фонд Г6Ф используется для синтеза различных углеводных фондов, органических кислот, разнообразных фотодыхательных продуктов (гликолата, оксалатов, пролина, серина, глицина). Таким образом, мы утверждаем важную биосинтетическую роль оксигеназной фазы.

Осцилляционная модель объясняет существование в клетке двух изотопноразличающихся потоков углеродных субстратов, создаваемых двумя различными по изотопному составу фондами углеводов, образованных в карбоксилазной и оксигеназной фазах. Это может быть полезно при поиске метаболических связей между фондами разных метаболитов. Модель объясняет внутримолекулярный изотопный рисунок глюкозы крахмала запасующих органов и различия в изотопных распределениях глюкозы C<sub>3</sub>- и C<sub>4</sub>-растений. Изотопная гетерогенность ряда сложных растительных глюкозилонатов объясняется участием в синтезе их фрагментов субстратов из двух разных по изотопному составу потоков, связанных с соответствующими углеводными фондами, образованными в разных фазах осцилляций.

Показано, что субстраты для синтеза лигнинов появляются в карбоксилазной фазе фотосинтетических осцилляций, но их изотопный состав определяется еще и изотопным эффектом декарбоксилирования пирувата. Модель объясняет одинаковую природу корреляций, одна из которых связывает разницу между изотопным составом углерода целлюлозы и лигнинов ( $D = 5^{13}C_{\text{cellulose}} - 5^{13}C_{\text{lignin}}$ ) с содержанием лигнинов в биомассе, другая - изотопный сдвиг между изотопным составом липидов и биомассы ( $D = 5^{13}C_{\text{биомасса}} - 5^{13}C_{\text{липиды}}$ ) с содержанием липидов в биомассе. Обе корреляции обусловлены зависимостью изотопного состава и лигнинов, и липидов от одних и тех же факторов, изотопного эффекта в реакции декарбоксилирования пирувата, степени истощения пируватного фонда, а также от балансовых соотношений фракций в биомассе.

### Библиографический список

1. Абдурахманова З.Н., Алиев А. К., Абдуллаев А. 1990. Фотосинтетический метаболизм углерода и превращение [1-<sup>14</sup>C] гликолевой кислоты в онтогенезе в листе хлопка. *Физиология растений* 37: 513-518.
2. Вознесенский В. Л., Глаголева Т.А., Зубкова Е.А., Мамушина Н. С., Филипова Л.А., Чулановская М.В. 1982. Метаболизм <sup>14</sup>C при длительном выращивании хлореллы в присутствии <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>. *Физиология растений* 29: 564-571.
3. Иванов М.В., Закун А.М., Гогова Г.П., Бондарь В.А. 1978. Разделение изотопов углерода фотосинтезирующими бактериями, растущими на бикарбонате, обогащенном изотопом <sup>13</sup>C. *Докл. АН СССР* 242: 1417-1420.
4. Целее А.А. 1985. О природе изотопных эффектов углерода в живой клетке. *Биофизика* 30: 506-516
5. Целее А.А. 1989. О дискретности процесса ассимиляции CO<sub>2</sub> на свету C<sub>3</sub>-растениями. *Биофизика* 34: 887-891.

6. Ивлев АА. 1992. Изотопные эффекты углерода и сопряженный механизм фотосинтеза и фотодыхания. *Физиология растений* 39: 545-552.
7. Пелее Л.Л. 1993. О потоках «лёгкого» и «тяжёлого» углерода при сопряжении фотосинтеза и фотодыхания. *Физиология растений* 40: 872-880.
8. Пелее АА. 2002. Изотопноуглеродный ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) эффект фотодыхания у фотосинтезирующих организмов. Доказательства существования. Вероятный механизм. *Биофизика* 47: 55-70.
9. Пелее А.А. 2004а. Вклад фотодыхания в изменения изотопноуглеродных характеристик растений при воздействии стрессовых факторов. *Физиология растений* 51: 303-313.
10. Пелее АА. 2004б. Внутримолекулярные изотопные распределения метаболитов в гликолитической цепи. *Биофизика* 49: 436-452.
11. Пелее А. А. 2005. Изотопный эффект в глициндегидрогеназной реакции — причина внутримолекулярной изотопной неоднородности углерода глюкозы крахмала, синтезируемого при фотодыхании. *Биофизика* 50: 1079-1087.
12. Пелее А.А. 2008. Изотопные эффекты углерода и клеточные механизмы углеродно-го метаболизма в фотосинтезирующей клетке. М.: РГАУ - МСХА. 74с.
13. Пелее АА, Калинин ЛГ. 2001. Экспериментальные свидетельства существования изотопного эффекта фотодыхания. *Физиология растений* 48: 467-480.
14. Пелее А.А., Латин А.В., Бризаное Л.Я. 1987. Распределение изотопов углерода ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) в глюкозе крахмала кукурузы. *Физиология растений* 34: 493-498.
15. Пелее АА, Пичуржкин ВП, Князев ДА. 2001. Изменения изотопного состава углерода органов пшеницы в онтогенезе и их возможная связь с фотодыханием растений. *Физиология растений* 46: 443—4-51.
16. Псамбердиев А. К 1991. Пероксисомальное окисление в растениях. *Физиология растений* 38: 774-786.
17. Калинин Л.Г., Удельное Т.М. 1990. Влияние фотодыхания на фракционирование стабильных изотопов углерода у морской хлореллы. *Физиология растений* 37: 72-78.
18. Калинин Л.Г., Удельное Т.М. 1991. Механизм вовлечения гликолатного пути в накопление свободного пролина у морской водоросли в условиях засоления. *Физиология растений* 1991. *Физиология растений* 38: 948-958.
19. Кукушкин А.К., Солдатова ЕА. 1996. Влияние фотодыхания на индукцию замедленной миллисекундной люминесценции хлорофилла фотосистемы II высших растений: теоретическое исследование. *Биофизика* 41: 440-444.
20. Санадзе ГА, Блэк Л.Л., Тевзадзе П.Т., Тархшивили Г.М. 1978. Изменение отношения  $^{13}\text{C}_2/^{12}\text{C}_2$  при фотосинтезе растениями  $\text{C}_3$  и  $\text{C}_4$  // *Физиология растений*. 25: 171-172.
21. Abelson P.П., Hoering T.C. 1961. Carbon isotope fractionation in formation of amino acids by photosynthetic organisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 47: 623-631.
22. Borland A.M., Griffiths П., Broadmeadow M.S.J., Fordham M.C., Maxwell C. 1993. Short-term changes carbon isotope discrimination in the  $\text{C}_3$ -CAM intermediate *Clusia minor* L. growing in Trinidad. *Oecologia* 95: 444-453.
23. Borland A.M., Griffiths П., Broadmeadow M.S.J., Fordham M.C., Maxwell C. 1994. Carbon isotope composition of biochemical fractions and the regulation of carbon balance in leaves of the  $\text{C}_3$ -Crassulacean acid metabolism intermediate *Clusia minor* L. growing in Trinidad. *Plant Physiology* 105: 493-501.
24. Bruynoli E., Farquhar G.D. 2000. Photosynthetic fractionation of carbon isotopes In: Leegood RC, Sharkey TD and von Caemmerer eds., *Photosynthesis: Physiology and Metabolism*, Kluwer, the Netherlands, 399-434.
25. Chikaraishi Y, Naraoka H. 2001. Organic hydrogen — carbon isotope signature of terrestrial higher plants during biosynthesis for distinctive photosynthetic pathways. *Geochemical Journal* 35: 451—4-58.
26. Craig H. 1954. Carbon-13 in plants and relationships between carbon-13 and carbon-14 variations in nature. *Journal of Geology* 62: 53-92.

27. Deleens E., Garnier-Dardart J. 1977. Carbon isotope composition of biochemical fractions isolated from leaves of *Bryophyllum daigremontianum* Berger, a plant with CAM some physiological aspects related to CO<sub>2</sub> dark fixation. *Planta* 135: 241-248.
28. Duranceau M., Ghashghaie J., Badeck F., Deleens E., Comic G. 1999. <sup>5</sup>13C of CO<sub>2</sub> respired in the dark in relation <sup>5</sup>13C of leaf carbohydrates in *Phaseolus vulgaris* L. under progressive drought. *Plant Cell & Environment* **22**: 515-523.
29. Duranceau M., Ghashghaie J., Brugnoli E. 2001. Carbon isotope discrimination during photosynthesis and dark respiration in intact leaves of *Nicotiana sylvestris* comparisons between wild type and mitochondrial mutant plants. *Australian Journal of Plant Physiology* 28: 65-71.
30. Edwards G., Walker D. 1983. C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>: Mechanisms, Cellular, and Environmental Regulation of Photosynthesis. Blackwell Scientific Publications, Oxford, London, Boston, Melbourne.
31. Farquhar G.D. 1980. Carbon isotope discrimination by plants: Effect of carbon dioxide concentration and temperature via the ratio of intercellular and atmospheric CO<sub>2</sub> concentration. In: Peannan GI (ed.) *Carbon Dioxide and Climate: Australian Research*. Australian Academy of Science, Canberra, 105-111.
32. Farquhar G.D., O'Leary M.H., Berry JA. 1982. On the relationship between carbon isotope discrimination and intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Australian Journal of Plant Physiology* **9**: 121-137.
33. Galimov E.M., Kodina LA., Generalova V.N., Bogachova M.V. 1977. A study of carbon isotope distribution in biogenic compounds. In: A. V. Sidorenko, ed. *The 8<sup>th</sup> International Congress on Organic Geochemistry*. Abstracts, Vol. 2, Moscow, 156.
34. Ghashghaie J., Badeck F-W, Lanigan G., Nogues S., Tcherkez G., Deleens E., Comic G., Griffiths H. 2003. Carbon isotope fractionation during dark respiration and photorespiration in C<sub>3</sub>-plants. *Phytochemistry Reviews* **2**: 145-161.
35. Gillon J.S., Griffiths H. 1997. The influence of (photo)respiration on carbon isotope discrimination in plants. *Plant, Cell & Environment* **20**: 1217-1230.
36. Gleixner G., Schmidt H.-L. 1997. Carbon isotope effects on fructose-1,6-bisphosphate aldolase reaction, origin for non-statistical <sup>13</sup>C distribution in carbohydrates. *Journal of Biological Chemistry* **272**: 5382-5387.
37. Gleixner G., Danier H.G., Werner R.A., Schmidt H.-L. Correlation between the <sup>13</sup>C content of primary and secondary products in different cell compartments and that in decomposing basidiomycetes. *Plant Physiology* 1993. 102: 1287-1290.
38. Goval A., Tolbert N.E. 1996. Association of glycolate oxidation with photosynthetic electron transport in plant and algal chloroplasts. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **93**: 3319-3324
39. Hobbie E.A., Werner R.A. 2004. Intramolecular, compound-specific, and bulk carbon isotope patterns in C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> plants: a review and synthesis. *New Phytologist* 161: 371-385.
40. Lgamberdiev A. U., Ivlev A.A., Bykova N.V., Threlkeld C.N., Lea P.J., Gardestrom P. 2001. Decarboxylation of glycine contributes to carbon isotope fractionation in photosynthetic organisms. *Photosynthesis Research* 67: 177-184.
41. Lgamberdiev A.U., Mikkelsen T.N., Ambus P., Bauwe H, Lea P.J., Gardestrom P. 2004. Photorespiration contributes to stomatal regulation and carbon isotope fractionation: a study with barley, potato and *Arabidopsis* plants deficient in glycine decarboxylase. *Photosynthesis Research* **81**: 139-152.
42. Ivlev A.A. 2003. Carbon isotope effect as a tool to study photosynthesis. *Chemical Probes in Biology*, ed. Schmeider MP. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, p.269-285.
43. Ivlev A.A., Bykova N.V., Lgamberdiev A.U. 1996. Fractionation of carbon (<sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C) isotopes in glycine decarboxylase reaction. *FEBS Letters* **386**: 174-176.
44. Ivlev A.A., Lgamberdiev A.U., Dubinskij A.Yu. 2004. Isotopic composition of carbon metabolites and metabolic oscillations in the course of photosynthesis. *Biofizika* **49 (Suppl. 1)**: 3-16.
45. Lerman J.C., Deleens E., Nato A., Movse A. 1974. Variations in the carbon isotope composition of a plant with Crassulacean Acid Metabolism. *Plant Physiology* 53: 581-584.

46. Lin G.H., Ehleringer JR. 1997. Carbon isotope fractionation does not occur during dark respiration in C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub>. *Plant Physiology* **114**: 391-394.
47. O'Leary M.H. 1981. Carbon isotope fractionation in plants. *Phytochemistry* **20**: 553-567.
48. O'Leary M.H. 1984. Measurement of the isotope fractionation associated with diffusion of carbon dioxide in aqueous solution. *Journal of Physical Chemistry* **88**: 823-825.
49. Park R., Epstein S. 1961. Metabolic fractionation of <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C in plants. *Plant Physiology* **36**: 133-139.
50. Rauschenbach P., Simon H., Stichler W, Moser H. 1979. Comparison of the deuterium and carbon-13 contents of ethanol obtained by fermentation and chemical synthesis. *Zeitschrift für Naturforschung* **34c**: 1-4.
51. Ren' en J.A., Griffiths H., Glidewell S.M, Preston T. 1982. The mechanism oxalate biosynthesis in higher plants: investigations with the stable isotopes oxygen-18 and carbon-13. *Proceedings of the Royal Society (London), Series B.* **216**: 87-101.
52. Rivera E.R., Smith B.N. 1979. Crystal morphology and <sup>13</sup>Carbon/<sup>12</sup>Carbon composition of solid oxalate in Cacti. *Plant Physiology* **64**: 966-970.
53. Rhodes M.J.C. 1980. In: *Biochemistry of Plants. A Comprehensive Treatise.* V.2. Stumpf PK, Conn EE, eds., N.Y., Academic Press, 419-434.
54. Roeske C.A., O'Leary M.H. 1984. Carbon isotope effect on enzyme catalysed carboxylation of ribulose biphosphate. *Biochemistry* **23**: 6275-6284.
55. Rooney M.A. 1988. *Short-term Carbon Isotope Fractionation in Plants.* Ph.D. Thesis, University of Wisconsin, Madison, USA.
56. Rossmann A., Schmidt H.-L., Reniero F., Verzini G., Moussa I., Merle M.H. 1996. Stable carbon isotope contents in ethanol of EC data bank wines from Italy, France and Germany. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und Forschung A* **203**: 293-301.
57. Rossmann A., Butzenlechner M, Schmidt H.-L. 1991. Evidence for non-statistical carbon isotope distribution in natural glucose. *Plant Physiology* **96**: 609-614.
58. Roussel MR., Ivlev A.A., Igamberdiev A.U. 2007. Oscillations of the internal CO<sub>2</sub> concentration in tobacco leaves transferred to low CO<sub>2</sub>. *Journal of Plant Physiology* **164**: 1188-1196.
59. Saranga Y., Flash I., Yakir D. 1998. Carbon isotope ratio in cotton varies with growth stage and plant organ. *Crop Science* **38**: 782-787.
60. Satoh K., Katoh S. 1983. Induction kinetics of millisecond-delayed luminescence in intact Bryopsis chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* **24**: 953-962
61. Schmidt H.-L. 2003. Fundamentals and systematics of the non-statistical distributions of isotopes in natural compounds. *Naturwissenschaften* **90**: 537-552.
62. Schmidt H.-L, Kexel H., Butzenlechner M, Schwarz S., Gleixner G., Thimet S., Werner R.A., Gensler M. 1995. Non-statistical isotope distribution in natural compounds: mirror of their biosynthesis and key for their origin assignment. In *Stable Isotopes in the Biosphere* Wada E, Yoneyama T, Minagawa M, Ando T & Fry BD, eds., Kyoto University Press, Kyoto, 17-35.
63. Scrimgeour C.M., Bennet W.M., Connacher A.A. 1988. A convenient method of screening glucose for <sup>13</sup>C: <sup>12</sup>C ratio for use in stable isotope tracer studies. *Biomedical and Environmental Mass Spectrometry* **17**: 265-266.
64. Tcherkez G., Farquhar G.D., Badeck F-W, Ghashghaie J. 2004. Theoretical consideration about carbon isotope distribution in glucose of C<sub>3</sub> plants. *Functional Plant Biology* **131**: 857-877.
65. Vogel J.C. 1980. Fractionation of carbon isotopes during photosynthesis. In: *Sitzungsberichte der Heidelberger Akademie der Wissenschaften, Mathematisch-naturwissenschaftliche Klasse Jahrgang.* 3 Abhandlung. Springer-Verlag, Berlin, 111-135.
66. Vogel J.C. 1993. Variability of carbon isotope fractionation. In: *Stable Isotopes and Plant Carbon - Water Relations.* Ehleringer JR, Hall AE, Farquhar GD (Eds), Academic Press, San Diego, 29-45.
67. Von Caemmerer S., Evans J.R. 1991. Determination of the average partial pressure of CO<sub>2</sub> in chloroplasts from leaves of several C<sub>3</sub> species. *Australian Journal of Plant Physiology* **18**: 287-305.

68. *White JW. 1993.* Implications of carbon isotope discrimination studies for breeding common bean under water deficits. In: *Stable Isotopes and Plant Carbon—Water Relations*. Ehleringer JR, Hall AE, Farquhar GD (editors). Academic Press, San Diego, 387-398.

69. *Weber D, Kexel H, Schmidt I-H. 1997.*  $^{13}\text{C}$ -pattern of natural glycerol: origin and practical importance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45: 2042-2046.

70. *Zhang B, Emeriau L, Martin G.J. 1991.* Comparison of the isotopic behaviour of *Leguminosae* constituents. Characterization of lentils. *Sciences des Aliments* 11: 291-304.

## ПРИЛОЖЕНИЕ

При разработке алгоритмов для удобства обозначения метаболитов использовали в английской транскрипции.

*Алгоритм расчета распределения изотопов углерода в G6P (глюкозе), образующейся в карбоксилазную фазу работы цикла*

Распределение изотопного состава рассчитывается по рекуррентным формулам, когда последующие значения вычисляются по результатам предыдущих величин.

Пусть вначале имеется молекула рибулозо-1,5-бисфосфата (RuBP) с распределением RuBP(1), RuBP(2), RuBP(3), RuBP(4), RuBP(5). Из нее получается 2 молекулы PGA со следующим распределением  $\text{PGA}(1) = 1/2 \times (\text{RuBP}(1) + \text{RuBP}(5))$ ;  $\text{PGA}(2) = 1/2 \times (\text{RuBP}(2) + \text{RuBP}(4))$ ;  $\text{PGA}(3) = 1/2 \times (\text{RuBP}(3) + 5\text{C}_0_2)$ , где  $5\text{C}_0_2$  — изотопное содержание ассимилируемого углекислого газа.

Далее образуются 6 молекул FBP со следующими характеристиками:

$\text{FBP}(1) = \text{FBP}(6) = \text{PGA}(1)$ ;  $\text{FBP}(2) = \text{FBP}(5) = \text{PGA}(2)$ ;  $\text{FBP}(3) = \text{FBP}(4) = \text{PGA}(3)$ .

Эти молекулы F6P превращаются в молекулы G6P и перемешиваются с остальными молекулами фонда глюкозы, так что в среднем:  $G6P(i) = (\text{FBP}(i) + G6P(i) \cdot N_G) / (N_G + 1)$ , где  $N_G$  — количество молекул глюкозы в фонде. Теперь «усредненная» глюкоза движется по пути преобразования в RuBP:  $\text{RuBP}(1) = \text{PGA}(1)$ ;  $\text{RuBP}(2) = \text{PGA}(2)$ ;  $\text{RuBP}(3) = \text{PGA}(3)$ ;  $\text{RuBP}(4) = (\text{PGA}(3) + 2 \cdot \text{PGA}(2)) / 3$ ;  $\text{RuBP}(5) = (\text{PGA}(3) + 2 \cdot \text{PGA}(1)) / 3$ , после чего цикл повторяется.

*Алгоритм расчета распределения изотопов углерода в глюкозе (G6P), образующейся в оксигеназную фазу работы цикла*

RuBP разбивается на PGA и гликолат, причем  $\text{PGA}_a(1) = \text{RuBP}(1)$ ,  $\text{PGA}_a(2) = \text{RuBP}(2)$ ,  $\text{PGA}_a(3) = \text{RuBP}(3)$ .

Если обозначить  $q = \text{RuBP}(5)$ ,  $a = \text{RuBP}(4)$ ,  $q_0 = 1 - q - a$  и  $y = k/k_0$  (где  $y$  — кинетический изотопный эффект,  $k$  — константа скорости глициндегидрогеназной реакции, в которой рвется связь  $^{12}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$ ,  $\text{C}$  — константа скорости глициндегидрогеназной реакции, в которой рвется связь  $^{12}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$ ), то после высвобождения углекислого газа (где и проявляется изотопный эффект), доли тяжелых атомов в PGA будут следующими:  $\text{PGA}_b(1) = q_0 / (yq_0 + q + a)$ ,  $\text{PGA}_b(2) = q$ ,  $(2(yq_0 + q + a) - 1) / (yq_0 + q + a)$ ;  $\text{PGA}_b(3) = a$ ,  $(2(yq_0 + q + a) - 1) / (yq_0 + q + a)$ . Затем  $\text{PGA}_a$  и  $\text{PGA}_b$  смешиваются:  $\text{PGA}(i) = (2 \cdot \text{PGA}_a(i) + \text{PGA}_b(i)) / 3$ . Далее образуется FBP подобно тому, как в цикле Кальвина:  $\text{FBP}(1) = \text{FBP}(6) = \text{PGA}(1)$ ;  $\text{FBP}(2) = \text{FBP}(5) = \text{PGA}(2)$ ;  $\text{FBP}(3) = \text{FBP}(4) = \text{PGA}(3)$ . После этого FBP смешивается с двумя молекулами G6P:  $\text{FBP}(i) = (\text{FBP}(i) + 2G6P(i)) / 3$ .

Из трех получившихся молекул FBP одна возвращается в пул G6P, усредняясь с находящимися там молекулами G6P:  $G6P(i) = (\text{FBP}(i) + G6P(i) \cdot (N_G - 2)) / (N_G - 1)$ . Одна молекула триозофосфата и часть молекулы FBP (атомы с третьего по четвертый) через образование эритрозофосфата идут на образование седогептулозофосфата (S7P), причем  $S7P(1) = \text{PGA}(1)$ ;  $S7P(2) = \text{PGA}(2)$ ;  $S7P(3) = \text{PGA}(3)$ ;  $S7P(4) = \text{FBP}(4)$ ;  $S7P(5) = \text{FBP}(3)$ ;  $S7P(6) = \text{FBP}(2)$ ;  $S7P(7) = \text{FBP}(1)$ .

Оставшаяся часть молекулы FBP (атомы первый и второй) и молекула триозофосфата образуют молекулу ксилулозофосфата (XP) (а) с распределением  $\text{XP}_a(1) = \text{PGA}(1)$ ;  $\text{XP}_a(2) = \text{PGA}(2)$ ;  $\text{XP}_a(3) = \text{PGA}(3)$ ;  $\text{XP}_a(4) = \text{PGA}(2)$ ;  $\text{XSP}_a(5) = \text{PGA}(1)$ . Первые два атома молекулы седогептулозофосфата и молекула триозофосфата образуют еще одну молекулу ксилулозо-

фосфата (в) с распределением атомов, аналогичным первой. Остальные пять атомов идут на образование RuBP.  $RuBP(1) = PGA(3)$ ;  $RuBP(2) = PGA(3)$ ;  $RuBP(3) = PGA(3)$ ;  $RuBP(4) = PGA(2)$ ;  $RuBP(5) = PGA(1)$ .

Наконец, смешиваются все три молекулы  $RuBP(i) = (RuBP(i) + XP_a(i) + XP_b(i))/3$ , после чего цикл повторяется.

#### SUMMARY

According to oscillation hypothesis, carbonaceous metabolism by photosynthesis is implemented in the form of oscillation process. Fluctuations are sustained and consist of two phases - assimilation of  $C02$  and photo-respiration. The former corresponds to carboxylase phase of functioning Rubisko, the latter to oxygenase phase. Distribution of  $C13$  isotope in carbohydrates is closely connected with photosynthetic oscillations occurring in the process of photosynthesis. Carbohydrates are produced in each stage. We assert that carbohydrates forming in carboxylase phase consist of hexoses with relatively uniform  $C13$  distribution along carbonic backbone of molecules, whereas hexoses in carbohydrates, synthesized in oxygenase phase, are characterized by specific non-uniform isotopic pattern. Above mentioned hypothesis accounts for both carbon isotope distribution peculiarities and isotopic composition of carbohydrates  $C3$  and  $C4$  - plants well and also isotopic differences in general carbon of carbohydrates, due to a different degree of substrate pool (fund) depletion, used in photo-respiration.

**Key words:** isotopic fractioning of carbon photorespiration, Rubisko, carbohydrates, metabolism modeling.

Ивлев Александр Андреевич — д. с.-х. н. Эл. почта: [aaivlev@list.ru](mailto:aaivlev@list.ru)