

УДК: 581.132:576.343:539

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ СУТОЧНЫХ ВАРИАЦИЙ
ИЗОТОПНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК УГЛЕРОДА РАСТЕНИЙ
В РАМКАХ ОСЦИЛЛЯЦИОННОЙ МОДЕЛИ ФОТОСИНТЕЗА
НА ПРИМЕРЕ КЛЕЩЕВИНЫ (*RICINUS COMMUNIS L.*)

А.А. ИВЛЕВ, И.Г. ТАРАКАНОВ

(РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева)

В рамках осцилляционной концепции фотосинтеза анализируется суточная динамика величин $\delta^{13}\text{C}$ углерода фракции водорастворимого органического вещества (ВОВ) и фракции водонерастворимого органического вещества (ВНОВ) листа клещевины, общего углерода стебля и органического вещества сока флоэмы, изученных в ранее опубликованной работе [16]. Показано, что источником углерода для синтеза компонентов фракции ВНОВ является углеводный фонд, возникший в карбоксилазной фазе фотосинтетических осцилляций и обогащенный изотопом ^{13}C благодаря изотопному эффекту углерода в реакции карбоксилирования рибулозобисфосфата (РиБФ). Преимущественным источником углерода для синтеза компонентов фракции ВОВ является углеводный фонд, образовавшийся в оксигеназной фазе фотосинтетических осцилляций и обогащенный ^{13}C благодаря изотопному эффекту глициндегидрогеназной реакции в этой фазе осцилляций. В итоге фракция ВНОВ всегда несколько обогащена изотопом ^{13}C относительно фракции ВОВ. Фракция ВОВ является главным источником органических веществ сока флоэмы. Эти вещества используются растением для синтеза биомассы нефотосинтезирующих (гетеротрофных) органов. В этом главная причина наблюдаемой обогащенности гетеротрофных органов растений (корней, семян, древесины) изотопом ^{13}C по сравнению с автотрофными (лист, хвоя). В световой период в водорастворимую фракцию листа попадает часть низкомолекулярных интермедиатов, синтез которых происходит в карбоксилазную фазу осцилляций, имеющих «легкий» изотопный состав углерода. Смешиваясь с другими компонентами водорастворимой фракции, обогащенными ^{13}C , они вызывают «облегчение» общего углерода этой фракции. Степень «облегчения» будет тем выше, чем выше интенсивность фотосинтеза. Особенности суточных изменений изотопного состава углерода водорастворимой фракции отражаются на изотопном составе углерода флоэмы, которая образуется за счет эмиграции части водорастворимой фракции листьев. В результате изотопный состав органического вещества сока флоэмы также испытывает отчетливые суточные колебания. Различия изотопного состава углерода фракции ВОВ и флоэмы могут быть использованы для изучения фотосинтеза и транспорта ассимилятов в режиме реального времени суток.

Ключевые слова: изотопные характеристики углерода, осцилляционная модель фотосинтеза, суточная динамика, водорастворимая и водонерастворимая фракции листа, сок флоэмы.

Использование изотопных данных в рамках осцилляционной гипотезы углеродного метаболизма при фотосинтезе оказалось весьма эффективным при изучении многих биологических и экологических проблем. Среди них такие, как влияние

стрессовых условий на растения [2], парниковый эффект и глобальные причины изменения климата на Земле [1, 6], фотосинтез и транспорт ассимилятов у хвойных деревьев в вегетационный период [25], зависимость продуктивности пшеницы (*Triticum aestivum* L.) от внешних факторов [7], объяснение влияния солености на изотопные характеристики растений разного типа [20].

Результаты и их обсуждение

Сравнительно недавно вышла в свет работа А. Гесслера с соавт. [16], в которой авторы изучили суточные вариации ряда изотопных характеристик водорастворимой (ВОВ) и водонерастворимой (ВНОВ) фракции органического вещества листа, общего углерода стебля и корней и органического вещества сока флоэмы у растений клещевины (*Ricinus communis* L.). Авторы попытались объяснить суточную динамику вышеуказанных изотопных характеристик на основе стационарной модели изотопного фракционирования [23].

Ранее было показано [18, 25], что обе модели, стационарная и осцилляционная, из-за различия исходных постулатов о механизме процесса фотосинтеза приводят к совершенно различным выводам по многим аспектам физиологии растений. Так, по-разному объясняются природа и характер внутримолекулярных изотопных распределений в метаболитах, временная организация метаболических процессов, природа изотопных различий автотрофных и гетеротрофных органов растений, а также другие вопросы синтеза и транспорта ассимилятов. Полученные в работе [16] экспериментальные данные по суточным вариациям изотопных характеристик растений клещевины содержат важную информацию о временной организации фотосинтеза, но она, на наш взгляд, не может быть в полной мере извлечена и адекватно интерпретирована на основании стационарной модели.

Поэтому авторы данной статьи решили использовать уже имеющийся экспериментальный материал и попытаться интерпретировать его в рамках осцилляционной гипотезы, чтобы показать, какие выводы можно получить из тех же данных [16] и насколько они отличны от выводов авторов, полученных с помощью стационарной модели.

Прежде всего, отметим принципиальную разницу в некоторых исходных постулатах двух гипотез. А. Гесслер с соавт. [16], вслед за Г. Черкезом с соавт. [23], принимая в соответствии со стационарной моделью неизменный режим функционирования цикла Кальвина, полагают, что наблюдаемое неравномерное распределение изотопов углерода в глюкозе, а именно обогащенность атомов С-3 и С-4 изотопом ^{13}C , есть результат изотопного фракционирования углерода в альдолазной реакции. Они также считают, что обогащение изотопом ^{12}C в положении С-1 есть результат транскетолазной реакции и обмена атомов С-1 и С-3 при повторяющихся оборотах цикла Кальвина. Заметим, что никаких иных экспериментальных доказательств и объяснений изотопного фракционирования в цикле, кроме изотопной неоднородности глюкозы (Г6Ф), которую как раз необходимо объяснить, нет.

Осцилляционная гипотеза, основываясь на рандомизации метки в опытах с меченым CO_2 [11], предполагает, что в цикле Кальвина никакого фракционирования изотопов углерода вообще не происходит. К такому же мнению приходит и Дж. Хейес [17], сравнив работу цикла Кальвина в этом режиме с изотопным миксером. Если даже в цикл и поступают различающиеся по изотопному составу углеродные субстраты (РибФ и CO_2), то благодаря рандомизации атомов в трансальдолазных

и транскетолазных реакциях изотопное распределение в метаболитах цикла после определенного числа оборотов становится равномерным [4].

Осцилляционная концепция объясняет изотопную неоднородность глюкозы совершенно иначе. Представляя темновую фазу фотосинтеза как осцилляции, состоящие из двух фаз: ассимиляции CO_2 (карбоксилазная фаза функционирования Рубиско) и фотодыхания (оксигеназная фаза функционирования Рубиско), можно объяснить неравномерность изотопного распределения в глюкозе как результат изотопного эффекта, сопровождающего глициндегидрогеназную реакцию при работе цикла в оксигеназной фазе [3, 18].

Расходятся и объяснения причин изотопных различий разных фракций и органов растений. По мнению сторонников стационарной гипотезы, различия появляются благодаря фракционированию изотопов углерода, происходящему после фиксации CO_2 в реакции карбоксилирования рибулозобисфосфата (РиБФ). Авторы рассматриваемой статьи [16] полагают, что в световой период синтезируется резервный фонд крахмала, который, распадаясь в темноте, образует сахарозу, обогащенную ^{13}C , такой же точки зрения придерживаются и Г. Черкез с соавт. [23]. С другой стороны, триозфосфаты, образующиеся в цикле Кальвина на свету, экспортируясь из хлоропластов в цитоплазму, имеют «легкий» изотопный состав и образуют сахарозу, обогащенную ^{12}C . Таким образом, фонды сахарозы, возникающие в световой и темновой периоды и имеющие разный изотопный состав, создают, по мнению авторов, метаболическую основу циркадных ритмов и, в частности, являются причиной наблюдаемых изотопных различий углерода фракций ВОВ и ВНОВ листа клещевины.

В связи с этим утверждение о том, что распад первичного крахмала сопровождается изотопным эффектом, приводящим к изотопному «утяжелению» сахарозы, противоречит данным эксперимента Эйблсона и Хоуринга [9], которые не обнаружили никакого фракционирования изотопов углерода при деструкции крахмала вплоть до его превращения в пируват (продукт распада глюкозы) в ходе гликолиза.

Согласно осцилляционной гипотезе два изотопно различающихся углеводных фонда действительно возникают при фотосинтезе благодаря тому, что в двух разных фазах осцилляций происходит изотопное фракционирование с противоположными знаками изотопных эффектов [4, 18]. Причина изотопных различий углерода фракций ВОВ и ВНОВ листа является следствием возникновения упомянутых фондов и временной организации фотосинтетического метаболизма. А именно, фракция ВНОВ листа содержит компоненты (липиды, белки, лигнины), в синтезе которых принимает участие практически только фонд «легкого» углерода, синтезируемого в карбоксилазной фазе Рубиско. В синтезе компонентов фракции ВОВ принимают участие оба фонда, но главным образом фонд «тяжелого» углерода, который образуется в оксигеназной фазе.

Прежде чем перейти с помощью осцилляционной модели к анализу динамики суточных изменений ^{13}C изотопных характеристик на основе результатов, представленных в исследовании [16], вкратце изложим ее суть. Согласно данной концепции углеродный метаболизм при фотосинтезе представляет собой колебательный процесс, в котором углеродные потоки, идущие через цикл Кальвина, меняют свое направление в зависимости от того, работает ли цикл на ассимиляцию CO_2 и синтез Г6Ф, или на фото дыхание, окисляя часть субстрата, накопленного при ассимиляции, и образуя CO_2 . Переключения осуществляются благодаря двойственной способности Рубиско функционировать как карбоксилаза или как оксигеназа. Предполагается, что переключения Рубиско осуществляются в зависимости от соотношения концен-

траций CO_2 и O_2 у мест карбоксилирования [19, 21, 22]. Соответственно, фаза ассимиляции называется карбоксилазной, а фаза фото дыхания — оксигеназной [4, 18]. Существенно то, что в каждой из фаз возникают изотопные эффекты противоположные по знаку, которые приводят к появлению углеродных фондов, различающихся по изотопному составу. Фонд, который образуется в карбоксилазной фазе, обогащен ^{12}C относительно углерода фонда, образованного в оксигеназной фазе.

Теперь посмотрим, о чем свидетельствуют диапазоны суточных изменений изученных изотопных характеристик клещевины. Они изображены на рис.1, и на каждом вертикальном отрезке, изображающем диапазон, даны точки максимума и минимума для светового и темнового периодов и точка усредненного значения $\delta^{13}\text{C}$ за полные сутки [16].

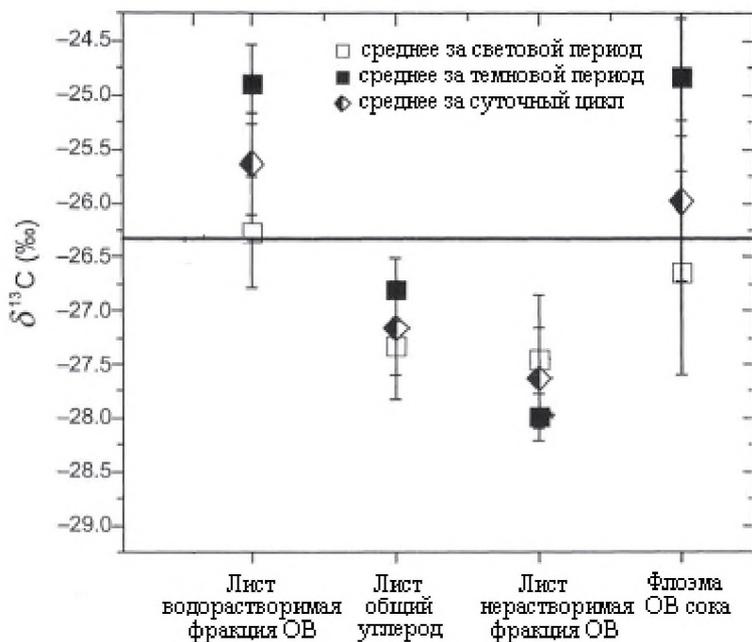


Рис. 1. Диапазон суточных вариаций $\delta^{13}\text{C}$ углерода ВОВ, углерода ВНОВ листа клещевины (*Ricinns communis* L.), общего органического углерода стебля и органического вещества флözемы [16]

Из рис. 1 четко видно, что диапазоны колебаний $\delta^{13}\text{C}$ фракций ВНОВ и ВОВ не перекрываются. Углерод фракции ВНОВ обогащен изотопом ^{12}C по сравнению с углеродом фракции ВОВ. Диапазон вариаций изотопного состава углерода органического вещества сока флözемы практически полностью совпадает с углеродом фракции ВНОВ и лишь небольшой частью перекрывается с углеродом фракции ВОВ. Главный вопрос, требующий ответа, — почему изотопный состав углерода фракции ВНОВ обогащен изотопом ^{12}C относительно углерода фракции ВОВ?

В рамках осцилляционной модели фотосинтеза, с учетом известной биохимии растительной клетки, различия диапазонов вариаций $\delta^{13}\text{C}$ фракций ВНОВ и ВОВ

имеют простую интерпретацию [4, 18]. Большая часть компонентов ВНОВ (липидов, белков, лигнинов) синтезируется за счет углерода, питающего гликолитическую цепь, а тот, в свою очередь, связан с фондом, образующимся в карбоксилазную фазу. Углерод этого фонда на стадии ассимиляции CO_2 проходит через реакцию карбоксилирования РиБФ, которая сопровождается изотопным эффектом и потому имеет «легкий» изотопный состав. Большинство структур клетки, ферменты, мембраны построены из этих компонентов.

Основная часть компонентов ВОВ — это лабильные углеводы, органические кислоты и продукты фотодыхательной петли, которые образуются в оксигенанзной фазе и связанные с фондом «тяжелого» углерода [5, 13]. Углерод этого фонда обогащается изотопом ^{13}C при декарбоксилировании глицина, которое также сопровождается изотопным эффектом, возникающим в указанной реакции при оборотах углеродного потока в фотодыхательной петле. Он и приводит к изотопному «утяжелению» фонда. Углерод фонда при экспорте из листа вместе с соком флоэмы переносится в места, где происходит синтез биомассы гетеротрофных органов. Таким образом, объяснение получает не только обогащенность изотопом ^{13}C фракции ВОВ, но также и обогащенность «тяжелым» изотопом гетеротрофных органов растений. Обогащенность гетеротрофных органов растений (плодов, семян, древесины ствола, ветвей, корней) на 1-3‰ изотопом ^{13}C относительно автотрофных органов (листьев, хвои) — факт, установленный давно и многими исследователями, но до сих пор не получивший удовлетворительного объяснения [12, 14, 15, 24].

Из рис. 1 видно, что диапазоны суточных вариаций $\delta^{13}\text{C}$ фракции ВОВ и сока флоэмы практически совпадают. Как известно [8], растворимые сахара являются не только основными транспортными агентами в растениях, но и основным источником углерода для синтеза гетеротрофных органов растений. Таким образом, совпадение диапазонов $\delta^{13}\text{C}$ для фракции ВОВ и сока флоэмы является лишь отражением этого хорошо известного физиологам факта. Выявленные изотопные различия углерода фракций ВНОВ и ВОВ четко указывают на их связь с предполагаемыми осцилляциями.

Во фракцию ВОВ, как показано далее, попадают и некоторые компоненты, синтез которых связан с фондами, создаваемыми в карбоксилазную фазу осцилляций. Однако их, как следует из усредненных значений $\delta^{13}\text{C}$ для фракции ВОВ (рис. 1), гораздо меньше.

Прежде чем мы проанализируем кривые суточных вариаций изотопного состава углерода фракций растений клещевины, изученных авторами [16], приведем рис. 2, где показаны точки отбора ими проб из листьев и из разных участков стебля растения от основания до кроны.

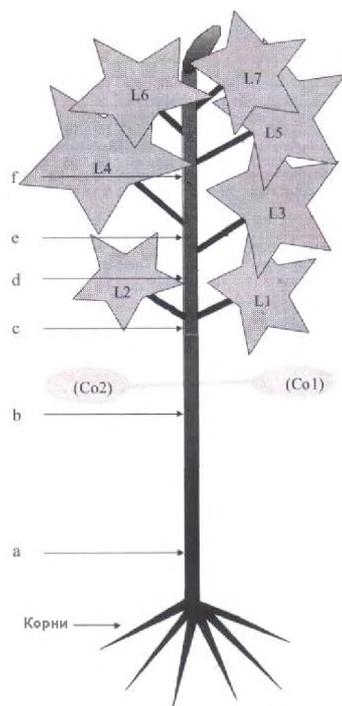


Рис. 2. Схема клещевины (*Ricinus communis* L.) с точками отбора проб органического вещества листа и стебля углерода водорастворимой (ВОВ) и водонерастворимой (ВНОВ) фракций: выбраны полностью развитые листья (L1-L7); сок флоэмы отобран в 6 точках (a-f) [16]

С учетом вышеизложенного рассмотрим выявленную экспериментально динамику суточных вариаций $\delta^{13}\text{C}$ фракции ВОВ. Как видно из рис. 3, а, каждый лист клешевины характеризуется отдельной суточной кривой $\delta^{13}\text{C}$. Причем эти кривые меняются одинаково и синхронно. Кривые, отвечающие наибольшему уровню обогащенности изотопом ^{13}C , соответствуют листьям в верхней части кроны, а кривые, соответствующие наибольшему уровню обогащенности ^{12}C , соответствуют листьям в нижней части кроны. С точки зрения осцилляционной модели, отдельные кривые для каждого листа указывают на то, что условия фотосинтеза в листьях разного уровня отличаются друг от друга. Изотопные различия определяются различием внешних факторов, под воздействием которых находится лист. Это разный уровень интенсивности падающего света, разная экспозиция и влагодоступность, а также различные условия газообмена. Кроме того, важное значение имеет изменение характера донорно-акцепторных отношений: если молодой растущий лист является мощным акцептором фотоассимилятов, то по мере старения в нем усиливается донорная функция. Таким образом, в статье перечислены наиболее важные факторы, влияющие на соотношение CO_2/O_2 в листе, и, следовательно, на соотношение вкладов ассимиляции CO_2 и фотодыхания в биосинтез, которые определяют изотопный состав листа (положение кривой) [19].

В этой связи сошлемся на работу [13], авторы которой отметили существенную разницу в изотопном составе экспонированных на свету и затененных листьев растения *Clusia minor* C_3 -САМ типа (5-6‰), которая особенно увеличивалась в условиях ограниченной влагодоступности. Было высказано утверждение, что экспонирование в условиях высокой освещенности и недостаток влаги усиливают фотодыхание [2], приводя к «утяжелению». Поэтому наблюдаемое в данном случае изотопное «утяжеление» от нижних листьев клешевины к верхним можно объяснить усилением вклада фотодыхания.

Близкое подобие и синхронность изменений суточных кривых фракции ВОВ в разных листьях (рис. 3, а) указывают на сходство процессов и существование механизма их синхронизации на уровне всего растения.

Анализ динамики суточных вариаций $\delta^{13}\text{C}$ фракции ВОВ (рис. 3, а) показывает, что с началом фотосинтеза углерод ВОВ начинает обогащаться «легким» изотопом. К 12 ч достигается максимум и наступает относительная стабилизация изотопного состава, продолжающаяся до 16 ч. После этого происходит быстрое изотопное утяжеление углерода фракции ВОВ до уровня, соответствующего темновому периоду суток.

В темновой период выраженных изотопных изменений в ту или иную сторону не наблюдается. Наиболее важный и интересный факт наблюдаемой динамики — отчетливое изотопное обогащение углерода фракции в световой период — осцилляционная модель объясняет поступлением во фракцию ВОВ растворимых компонентов, связанных с фондом углерода, образованного в карбоксилазную фазу. Как отмечалось выше, это могут быть низкомолекулярные продукты цикла Кальвина. Например, эритрозофосфаты, участвующие в синтезе лигнинов. Другим участником синтеза лигнинов является фосфоенолпируват, который также связан с фондом углерода, образуемым в карбоксилазную фазу. Чтобы различать два потока углерода (генетические цепочки превращений), связанные с «легким» и «тяжелым» фондом углерода, один был назван «ассимиляционным», другой соответственно — фотодыхательным [2]. Источником изотопно легких растворимых компонентов могут также быть низкомолекулярные продукты глюконеогенеза, которые образуются в гликолитической цепи на свету. Важно однако подчеркнуть, что несмотря на определенный вклад

во фракцию ВОВ «легких» компонентов, связанных с ассимиляционным потоком, углерод фракции остается всегда обогащенным изотопом ^{13}C и диапазоны вариаций $\delta^{13}\text{C}$ фракций ВОВ и ВНОВ нигде не перекрываются. Фракции всегда можно отличить одну от другой по величине $\delta^{13}\text{C}$ (см. рис. 1).

Не менее важный момент, связанный с наблюдаемым изотопным «облегчением» состоит в том, что благодаря различию процессов на свету и в темноте изменения кривых изотопного состава в эти периоды тоже разные. Их повторение во времени приводит к появлению циркадных (суточных) ритмов. Указанные моменты с учетом выявленной динамики,

открывают возможность использовать суточные кривые для изучения процесса фотосинтеза в режиме реального времени.

На рис. 3, б изображены суточные кривые изотопного состава углерода фракции ВНОВ. Многие рассмотренные выше характеристики суточной динамики $\delta^{13}\text{C}$ фракции ВОВ в равной мере относятся к фракции ВНОВ, поскольку обусловлены теми же причинами. Суточная динамика $\delta^{13}\text{C}$ фракции ВНОВ в каждом листе описывается отдельной кривой. Суточные кривые $\delta^{13}\text{C}$ фракции ВНОВ для листьев верхней части кроны соответствуют уровню с большей обогащенностью «тяжелым» изотопом, тогда как суточные кривые для листьев нижней части кроны соответствуют уровню с наименьшей обогащенностью ^{13}C . Причины этого явления были объяснены выше.

Если сопоставить различия $\delta^{13}\text{C}$ между нижним и верхним уровнями для фракций ВОВ и ВНОВ (рис. 3, а, б), то окажется, что для фракции ВОВ они составляют около 2‰, а для фракции ВНОВ — около 4‰. Эта разница неслучайна, поскольку углерод фракции ВНОВ находится под

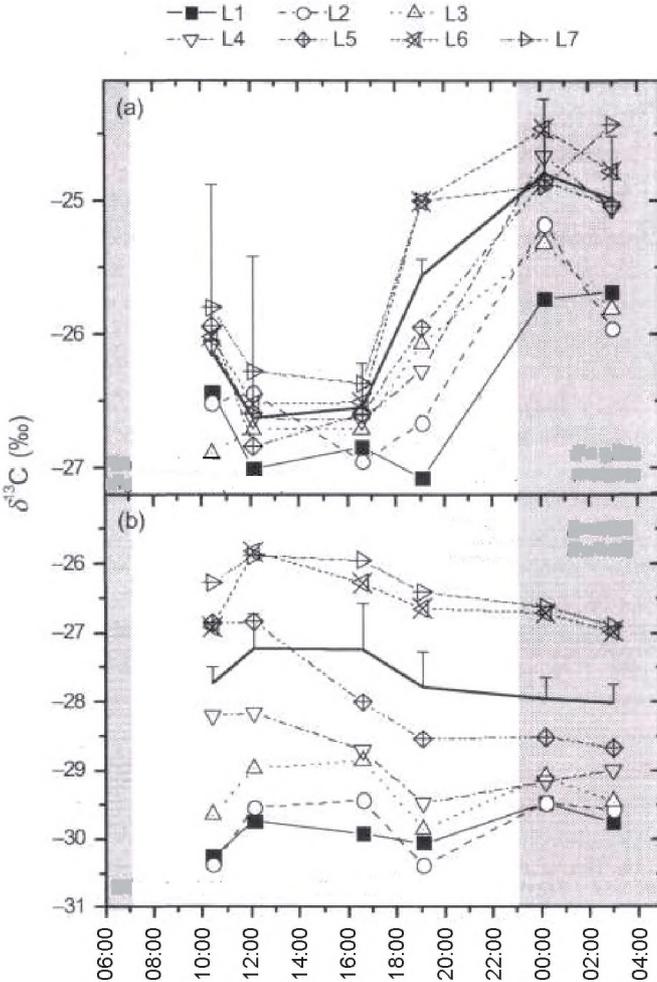


Рис. 3. Величины ^{13}C углерода листа клещевины (*Ricinus communis* L.): а — фракции ВОВ; б — углерода не экспортируемой фракции ВНОВ. Листья, из которых производился пробоотбор, показаны на рис. 2 (L1-L7). Каждая цифра — среднее из 3-4 определений. Сплошная жирная линия показывает усредненную по всем листьям кривую изменений величин $\delta^{13}\text{C}$ [16]

влиянием только изотопного эффекта ассимиляции ССК, а углерод фракции ВОВ зависит еще и от изотопного эффекта фотодыхания.

Из сопоставления суточных кривых, описывающих динамику $\delta^{13}\text{C}$ фракций ВОВ и ВНОВ (рис. 3, а, б) выявляются еще два важных отличия суточной динамики этих фракций. Размах изотопных изменений величин $\delta^{13}\text{C}$ углерода фракции ВОВ в течение суток существенно больше, чем для углерода фракции ВНОВ. Причина различий согласно осцилляционной модели состоит в том, что в карбоксилазной фазе в цикле Кальвина изотопного фракционирования нет, а благодаря транскетолазным и трансальдолазным реакциям происходит значительная рандомизация атомов и изотопный состав компонентов становится изотопно однородным. Этого не происходит, когда цикл Кальвина работает в режиме фотодыхания.

Вторая особенность связана с инверсионным характером изотопных изменений, наблюдаемых у суточных кривых $\delta^{13}\text{C}$, описывающих углерод фракций ВОВ и ВНОВ. Другими словами, изменения суточной кривой фракции ВОВ соответствуют изменениям суточной кривой фракции ВНОВ, но противоположны по знаку. Мысль о существовании такой взаимосвязи между ассимиляцией и фотодыханием была высказана в работе [19] по изучению механизма сопряжения ассимиляции CO_2 и фотодыхания. Экспериментально эффект реципрокности двух процессов был подтвержден в работе [10] в виде реципрокной связи потребления CO_2 при ассимиляции и O_2 при фотодыхании и получил название «зеркального» эффекта.

К двум фракциям листа Гесслер и соавт. [16] добавили изучение суточной динамики $\delta^{13}\text{C}$ общего углерода стебля и углерода сока флоэмы (рис. 4, а, б) для разных точек отбора проб, расположенных на разной высоте вдоль стебля. Рассматривая суточные кривые

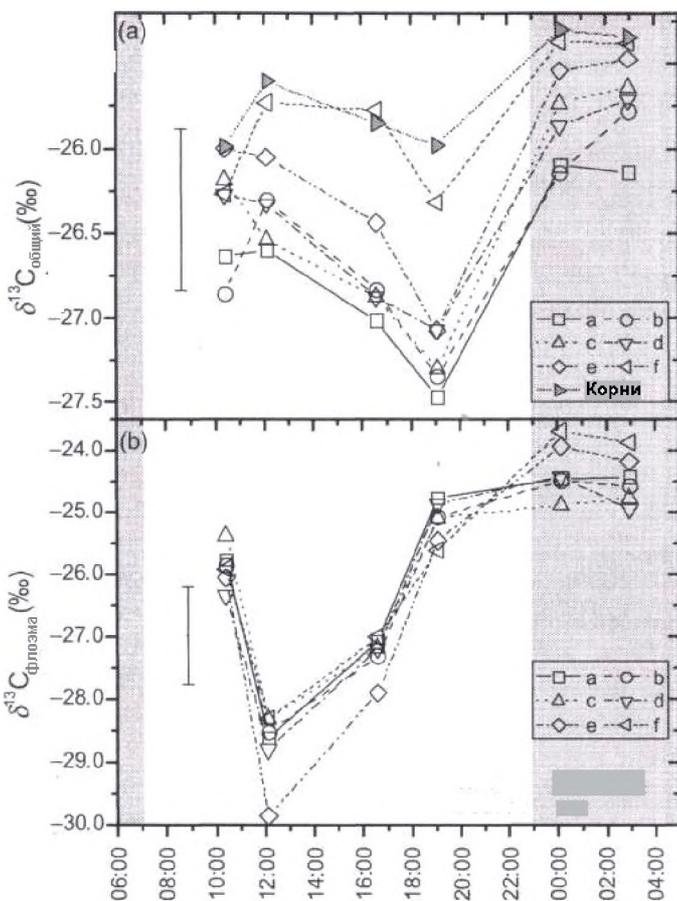


Рис. 4. Величины $\delta^{13}\text{C}$ общего углерода проб органического вещества из разных секций стебля клещевины (*Ricinus communis* L.), отобранных в течение суток: а — $\delta^{13}\text{C}$ углерода биомассы корней, и б — углерода органического вещества сока флоэмы. Позиция *a* обозначает пробу, взятую у основания стебля, *f* обозначает самую верхнюю точку отбора проб на стебле. Каждая цифра — среднее из 3-4 определений [16]

$\delta^{13}\text{C}$ общего углерода стебля и сравнивая с ранее рассмотренными кривыми для фракций листа, можно отметить, что они чем-то похожи на суточные кривые фракции ВОВ. Углерод из каждой точки вдоль стебля описывается отдельной изотопной кривой. С началом фотосинтеза наблюдается обогащение углерода изотопом ^{12}C , но максимум «облегчения» достигается к 19 ч, а далее, как и в случае углерода фракции ВОВ, происходит изотопное утяжеление общего углерода до уровня, достигаемого в темновом периоде, в котором также наблюдаются незначительные отклонения изотопного состава в обе стороны. Другими словами, формы кривых для сопоставляемых случаев различаются. Если учесть, что биомасса стебля клещевины включает, наряду с гетеротрофными, фотосинтезирующие клетки, а последние обладают фракцией ВОВ и ВНОВ, то тогда можно заключить, что наблюдаемые суточные кривые изотопного состава общего углерода отражают совместное влияние обеих фракций. Становится понятными и наличие отдельных кривых для точек отбора на разной высоте стебля, и более «тяжелый» изотопный состав углерода из точек, взятых в верхней части стебля и более «легкий» состав углерода из точек, взятых у основания стебля. Интересно отметить, что в точке *a* (см. рис. 2) у основания стебля углерод имеет наиболее легкий изотопный состав, а изотопный состав углерода корня, расположенного еще ниже (см. рис. 2), напротив, наиболее «тяжелый». Это подтверждает сделанный ранее вывод о том, что изотопный состав гетеротрофных органов (в данном случае корня) обусловлен использованием в качестве источника углерода для синтеза изотопнотяжелой фракции ВОВ.

Форма суточной кривой $\delta^{13}\text{C}$ для сока флоэмы не похожа ни на одну из трех рассмотренных ранее. Ее отличает то, что все кривые сливаются практически в одну кривую. Имеется максимум обогащенности сока изотопом ^{12}C , приходящийся на 12 ч. Затем происходит довольно сильное снижение обогащенности «легким» изотопом, продолжающееся до 16 ч. После чего происходит дальнейшее сильное «утяжеление» вплоть до уровня, отвечающего уровню изотопного состава «тяжелого» фонда углерода, образующегося в оксигенатной фазе осцилляций. В темноте происходят незначительные колебания изотопного состава сока в обе стороны. В темновой период все суточные кривые обнаруживают слабые колебания в обе стороны на уровне, соответствующем фонду «тяжелого» углерода.

Органические вещества сока флоэмы представляют собой экспортируемую часть фракции ВОВ из всех листьев клещевины. Суточная кривая показывает экспорт во времени. О чем говорит форма суточной кривой $\delta^{13}\text{C}$ сока флоэмы? С учетом синхронности процесса фотосинтеза во всех листьях слияние всех кривых в одну можно рассматривать как указание на то, что экспорт из всех листьев происходит синхронно. Максимум экспорта приходится на максимум интенсивности фотосинтеза в 12 ч. Сопоставляя рис. 3, а и 4, б, можно предположить, что излом на кривой $\delta^{13}\text{C}$ сока флоэмы, наблюдаемый в период с 12 до 17 ч, отражает некоторую стабилизацию фотосинтеза, отмечаемую в этот же временной промежуток на кривой фракции ВОВ, т. е. кривые на этих графиках взаимосвязаны общими процессами, в которых участвуют и фракция ВОВ, и сок флоэмы.

Другой вывод из слияния всех суточных кривых $\delta^{13}\text{C}$ сока флоэмы состоит в том, что органическое вещество флоэмного сока хорошо перемешивается, и поэтому изотопные различия, связанные с разным положением листа на побеге, не проявляются. Другими словами, в любое время суток в каждой точке отбора изотопный состав сока будет примерно одинаковый. Правда, пока не удастся объяснить, почему сок флоэмы из точки *e* на стебле клещевины не вполне отвечает сформулированному правилу.

Выводы

Использование осцилляционной модели фотосинтеза для анализа данных по суточной динамике $\delta^{13}\text{C}$ углерода фракции ВОВ, ВНОВ листа, общего углерода стебля и углерода сока флоэмы, полученных учеными [16], позволяет сделать следующие выводы:

1. Углеводный фонд, образованный в карбоксилазную фазу фотосинтетических осцилляций, является основным источником для синтеза компонентов фракции ВНОВ листа. В результате углерод фракции обогащен ^{12}C ;

2. Углеводный фонд, образованный в оксигеназную фазу фотосинтетических осцилляций является основным источником для синтеза компонентов фракции ВОВ листа. В результате углерод фракции обогащен ^{13}C ;

3. С началом фотосинтеза часть низкомолекулярных компонентов, синтезируемых в карбоксилазную фазу и имеющих «легкий» изотопный состав, попадает во фракцию ВОВ, вызывая ее обогащение изотопом ^{12}C . Оно достигает максимума в полдень, а затем снижается к концу светового периода. Это дает возможность использовать суточные кривые изменения изотопного состава углерода фракции ВОВ для изучения влияния фотосинтеза;

4. Сок флоэмы преимущественно образуется за счет фракции ВОВ листа, и изотопный состав углерода органического вещества сока также обогащен ^{13}C . Так как сок флоэмы снабжает субстратами синтез гетеротрофных тканей, это объясняет обогащенность изотопом ^{13}C гетеротрофных органов растений относительно автотрофных. Суточные кривые изотопного состава углерода сока флоэмы, подобно суточным изотопным кривым фракции ВОВ листа, отражают влияние водорастворимых компонентов, синтезированных в карбоксилазную фазу осцилляций. Следовательно, их также можно использовать для изучения динамики фотосинтеза;

5. Имея в виду относительную простоту методики отбора проб сока флоэмы и фракции ВОВ листа, суточные кривые изотопного состава углерода этих фракций можно использовать как тонкий инструмент исследования циркадных ритмов в фотосинтезирующих организмах в режиме реального времени;

6. Изотопный состав углерода сока флоэмы может использоваться для изучения механизмов транспорта ассимилятов.

Библиографический список

1. *Ивлев А.А. Вероятные причины изменения климата на Земле // Адаптация сельского хозяйства России к меняющимся погодным и климатическим условиям / РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. М., 2010. С. 85-89.*

2. *Ивлев А.А. Вклад фотодыхания в изменения изотопноуглеродных характеристик растений при воздействии стрессовых факторов // Физиология растений. 2004. Т. 49. № 2. С. 303-313.*

3. *Ивлев А.А. Изотопный эффект в глициндегидрогеназной реакции — причина внутримолекулярной изотопной неоднородности углерода глюкозы крахмала, синтезируемого при фотодыхании // Биофизика. 2005. Т. 50. № 6. С. 1079-1086.*

4. *Ивлев А. А. Изотопные эффекты углерода и клеточные механизмы углеродного метаболизма в фотосинтезирующей клетке / РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. М., 2008. 74 с.*

5. *Ивлев А.А. О колебательной природе углеродного метаболизма в фотосинтезирующей клетке // Аргументы и факты. Известия РАН. Серия биологическая. 2010. Т. 37. № 3. С. 719-727.*

6. *Ивлев А.А., Воронин В.И. Механизм фракционирования изотопов углерода при фотосинтезе и углекислотная составляющая парникового эффекта // Известия РАН. Серия биологическая. 2007. № 6. С. 720-727.*

7. Ивлев А.А., Дубинский А.Ю., Пичужкин В.И. Метаболические изотопные эффекты углерода и продукционный процесс у культивируемых растений в свете осцилляционной концепции фотосинтеза // Известия РАН. Серия биологическая. 2013. (в печати).
8. Курсанов А.А. Транспорт ассимилятов в растении. М.: Наука. 1976. 644 с.
9. Abelson P.H., Hoering T.C. Carbon isotope fractionation in formation of amino acids by photosynthetic organisms // Proc. Nat. Acad. Sci. USA 1961. Vol. 47. P. 623-629.
10. Andre M.J., Modelling ^{18}O and ^{16}O unidirectional fluxes in plants: 1. Regulation of preindustrial atmosphere // BioSystems. 2011. Vol. 103. P. 239-251.
11. Bassham J.A., Calvin M. The Path of Carbon in Photosynthesis. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 1957. P. 39-66.
12. Batheller C., Badeck F.-W., Couzi Ph., Harscoet S., Mauve C. Divergence in ^{13}C of dark respired CO_2 and bulk organic matter occurs during transition between heterotrophy and autotrophy in *Phaseolus vulgaris* plants // New Phytologist. 2008. Vol. 177. P. 406-418.
13. Borland A.M., Griffiths H., Broadmeadow M.S., Fordham M.C., Maxwell C. Carbon Isotope Composition of Biochemical Fractions and the Regulation of Carbon Balance in Leaves of the C₃-rassu Ileana Acid Metabolism Intermediate *Clusia minor* L. Growing in Trinidad // Plant Physiol. 1994. Vol. 105. P. 493-501.
14. Cemusak L.A., Tcherkez G., Keitel C., Cornwell W. K., Santiago L.S., Knohl A., Barbour M.M., Williams D.G., Reich P.B., Ellsworth D.S., Dawson T.E., Griffiths H.G., Farquhar G.D., Wright I. J. Why are non-photosynthetic tissues generally ^{13}C enriched compared with leaves in C₃ plants? Review and synthesis of current hypotheses // Funct. Plant Biology. 2009. Vol. 36. P. 199-213.
15. Gessler A., Keitel C., Kodama N., Weston Ch, Winters A.J., Keith H, Grice K, Leuning R., Farquhar G.D. ^{13}C of organic matter transported from the leaves to the roots in *Eucalyptus delegatensis*: short-term variations and relation to respired CO_2 // Funct Plant Biology. 2007. Vol. 34. P. 692-706.
16. Gessler A., Tcherkez G., Peuke A.D., Ghashghaie J.G., Farquhar G.D. Experimental evidence for diel variations of the carbon isotope composition in leaf, stem and phloem sap organic matter in *Ricinus communis* // Plant Cell Environ. 2008. Vol. 31. P. 941-953.
17. Hayes J.M., Fractionation of carbon and hydrogen isotopes in biosynthetic processes // Review in mineralogy and geochemistry. 43. Stable isotope geochemistry / Eds. J.W. Valley, Cole D.R. Mineralogical Society of America. Washington DC. 2001. P. 226-275.
18. Ivlev A. A. Oscillatory nature of metabolism and carbon isotope distribution in photosynthesizing cells Oscillatory nature of metabolism and carbon isotope distribution in photosynthesizing cells // Photosynthesis — fundamental aspects / ed. MM Naiafpour Croatia: Intech Publishers. 2012. P. 341-366.
19. Ivlev A.A., Igamberdiev A.Y., Dubinsky A.Yu. Isotopic composition of carbon metabolites and metabolic oscillations in the course of photosynthesis // Biophysics. 2004. Vol. 49. Suppl. 1. P. 3-16.
20. Ivlev A.A., Pichouzkin V.I., Tarakanov I.G. The salinity effect on carbon isotope composition of plant biomass // Advanced Study in Biology (in press).
21. Roussel M.R., Igamberdiev A.Y. Dynamics and mechanisms of oscillatory photosynthesis // BioSystems. 2011. Vol. 103. N2. P. 230-238.
22. Roussel M.R., Ivlev A. A., Igamberdiev A.Y. Oscillations of the internal CO_2 concentration in tobacco leaves transferred to low CO_2 // J. Plant Physiol. 2007. Vol. 164. P. 1188-1196.
23. Tcherkez G., Farquhar G., Badeck F., Ghashghaie J. Theoretical consideration about carbon isotope distribution in glucose of C₃-plants // Funct. Plant Biol. 2004. Vol. 31. P. 857-877.
24. Terwilliger V.J, Huang J, Heterothrophic whole plant tissue show more ^{13}C — enrichment than their carbon source // Phytochemistry 1996. Vol. 43. P. 1183-1188.
25. Voronin V, Ivlev A.A., Oskolkov V, Boettger T. Intra-seasonal dynamics in metabolic processes of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ and $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ in components of Scots pine twigs from southern Siberia interpreted with a conceptual framework based on the Carbon Metabolism Oscillatory Model // BMC Biology. 2012. Vol. 12. P. 76-83.

INTERPRETING CIRCADIAN VARIATIONS OF CARBON ISOTOPE CHARACTERISTICS IN PLANTS WITHIN A CONCEPTUAL FRAMEWORK BASED ON AN OSCILLATORY MODEL OF CARBON METABOLISM WITH CASTOR BEAN (*RICINUS COMMUNIS* L.) GIVEN AS AN EXAMPLE

A.A. IVLEV, I.G. TARAKANOV

(Russian State Agrarian University — K.A. Timiryazev MAA)

*Within a conceptual framework based on carbon metabolism oscillatory model (CMOM) diurnal variations of $d^{13}C$ values of water-soluble organic matter (WSOM), and water-insoluble organic matter (IOM) in leaves, stem and phloem sap of castor beans plants (*Ricinus communis* L.), experimentally investigated by Gessler et al. (2008), are discussed. It is shown that carbon for the synthesis of the IOM fraction components is provided by carbohydrate pool formed in carboxylase phase of photosynthetic oscillations and is enriched with ^{12}C due to carbon isotope effect in ribulosebisphosphate (RuBP) carboxylation. Carbon source for the synthesis of the WSOM fraction components is predominantly linked with carbohydrate pool formed in oxygenase phase of photosynthetic oscillations. They are enriched with ^{13}C due to carbon isotope effect in glycine dehydrogenase reaction. As a result, IOM fraction is always more enriched in ^{12}C in comparison with WSOM fraction. IOM fraction appears to be the main source of organic matter for the phloem sap. The organic substances of the sap are mainly used by plants to synthesize heterotrophic organ biomass thus determining the ^{13}C enrichment of heterotrophic organs (roots, seeds, wood) of plants in relation to autotrophic (leaves, needles) ones. During the light period a part of low-molecular intermediates, synthesized in carboxylase phase of oscillations and characterized by “light” carbon isotope composition, gets into the water-soluble fraction of a leaf. They mix with other components of water-soluble fraction enriched with ^{13}C , which results in the “lightening” of the total carbon of this fraction. The higher the photo synthetic rate, the larger the “lightening” degree. The peculiarities of diurnal variations of carbon isotope composition in water-soluble fraction affect the carbon isotope composition of phloem that forms due to emigration of a part of the water-soluble fraction from leaves. As a consequence, isotopic composition of organic matter in phloem sap is characterized by distinct diurnal variations. In accordance with CMOM, the variations of $d^{13}C$ values of WSOM and IOM fractions could be used for photosynthesis and assimilate transport and partitioning studies in the regime of real daily time.*

Key words: isotope characteristics of carbon, oscillatory model of photosynthesis, diurnal variations, water-soluble and water-insoluble fraction in leaves, phloem sap.

Ивлев Александр Андреевич — д.б.н., проф. кафедры неорганической и аналитической химии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. (127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел.: (499) 976-16-28; e-mail: aa.ivlev@list.

Тараканов Иван Германович — д.б.н., проф., заведующий кафедрой физиологии растений РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Тел.: (499) 976-20-54; e-mail: ivatar@yandex.ru.