

УДК 581.132.027: [581/131+581/137]

О причинах изотопных различий углерода гетеротрофных и автотрофных органов растений

А.А. ИВКЕЕВ, В.И. ПИЧУЖКИН, А.С. ПИНАЕВ, О.А. ГОНЧАРОВА

(Кафедра неорганической и аналитической химии
рГАУ - МСХА имени К. А. Тимирязева)

Рассмотрена причина изотопных различий углерода гетеротрофных и автотрофных органов растений на основе предложенной ранее осцилляционной модели фотосинтеза. Показано, что упомянутые различия возникают как следствие фотосинтетических осцилляций, в ходе которых возникают изотопно различающиеся углеводные фонды. Фонд изотопнотяжелых лабильных углеводов, образующихся в оксигеназной фазе осцилляций, используется и как переносчик ассимилятов из автотрофных органов растений в гетеротрофные, и как источник углеродных субстратов для роста и метаболизма последних.

Ключевые слова: изотопное фракционирование углерода, автотрофные и гетеротрофные организмы, фотосинтетические осцилляции.

В публикациях последних лет много внимания уделено вопросу о причинах изотопных различий автотрофных и гетеротрофных органов растений [10, 15, 16]. Впервые это обнаружил Крейг [14], отметив, что древесина ветвей несколько обогащена изотопом ^{13}C относительно углерода листьев на этих ветвях. В последующем многие исследователи на разных видах растений установили, что углерод биомассы фотосинтезирующих органов (листа, хвоя, стебля) незначительно, но устойчиво обогащен легким изотопом ^{12}C по сравнению с углеродом гетеротрофных органов (древесины ветвей и ствола, углеродом семян, плодов, корнеплодов, корней) [2, 6, 8, 21, 24, 25]. Статистическая обработка большого количества данных, собранных разными исследователями, с помощью парного t -критерия показала, что разли-

чия достоверны и в среднем составляют $\pm 1,98\%$ (из 116 наблюдений), а диапазон вариаций — от 1 до 3%. Все сказанное относится к растениям C_3 -типа. Однако немногочисленные данные по C_4 -растениям обнаруживают ту же тенденцию [18]. Правда, различия оказались значительно меньше. Например, для 10 наблюдений утяжеление углерода корней по сравнению с листом составило в среднем 0,1% [6], а в случае C_4 -травы *Saccharum spontaneum* L. наблюдалась даже инверсия [12].

Из других фактов, обнаруженных в этих исследованиях, следует отметить, что обсуждаемые различия между углеродом листьев и углеродом древесины ветвей дерева, откуда были отобраны листья, меняются по высоте кроны. Самые большие различия на вершине кроны. К низу кроны различия уменьшаются. Различия

прослеживаются даже между углеродом биомассы паразитов, обитающих в листве и древесине деревьев, и углеродом листа [13, 28].

Подавляющее большинство исследователей при объяснении рассматриваемых фактов опиралось на стационарную модель изотопного фракционирования углерода в клетке, предложенную О'Лири [23], Фаркуаром и др. [11] и Фогелем [27]. Основное допущение модели сводилось к тому, что все процессы в клетке листа происходят одновременно и не зависят от времени. Следствием был вывод о том, что все изотопные различия, в частности, обогащение биомассы гетеротрофной части растения изотопом ^{13}C , возникают в постфотосинтетических процессах [15, 16, 26]. Вывод обосновывался тем, что в стационарных процессах в условиях фотосинтеза двух изотопно-различающихся потоков углеродных субстратов возникнуть не может, так как в цикле Кальвина, где потоки перемешиваются, различия обязательно исчезли бы. Следовательно, из листа на питание гетеротрофных органов идет углеродный поток с некоторым постоянным обогащением «легким» изотопом относительно ассимилируемого CO_2 .

Причины обогащения гетеротрофных органов выдвигались разные, начиная с разного биохимического состава автотрофных и гетеротрофных органов и конца фракционированием изотопов при транспорте ассимилятов из листа в гетеротрофные органы. Среди других причин предлагали разное фракционирование изотопов углерода при дыхании на свету и в темноте, суточные вариации субстрата роста (сахарозы), особый путь ассимиляции CO_2 гетеротрофными органами (через ФЕП-карбоксилирование). При анализе этих гипотез авторы признали, что, объясняя одни факты, они входят в противоречие с другими. Кроме того, реального конкретного механизма изотопного фракционирования в

предполагаемых процессах авторы не предлагали.

Ранее отмечалась неадекватность стационарной модели фотосинтеза фактическим данным [4] и была предложена альтернативная осцилляционная модель [1, 3, 19, 20]. Согласно этой модели, фотосинтез представляет собой осцилляционный процесс, в котором одной фазой колебаний является ассимиляция CO_2 , соответствующая карбоксилазной фазе функционирования Рубиско (основного фермента фотосинтеза), другой фазой колебаний является фотодыхание, соответствующее оксигеназной фазе работы Рубиско (рис. 1).

Принципиально, что, как следует из модели, в каждой из фаз осцилляций возникают углеводные фонды, которые имеют разный изотопный состав. Фонд углеводов, образующихся в карбоксилазной фазе, обогащен изотопом ^{12}C по сравнению с фондом углеводов, возникающим в оксигеназной фазе. Эти фонды используются растением на различные нужды. Углеводы карбоксилазной фазы откладываются в фонд, который в фазу гликолиза питает гликолитическую цепь. Углеводы фонда, образующегося в оксигеназную фазу, частично расходуются на собственно фотодыхание. Другая часть используется на образование лабильных углеводов, из которых в темноте образуются органические кислоты. Часть тратится на продукты фотодыхания (пролин, гликолевая кислота, оксалаты и др.). Лабильные углеводы (сахароза) используются растением в качестве транспортного агента и для обеспечения роста и метаболизма гетеротрофных органов растений.

Таким образом, согласно модели, изотопные различия автотрофных и гетеротрофных органов растений являются следствием осцилляционного характера фотосинтеза. Разный изотопный состав фондов в конечном счете обусловлен различием знаков

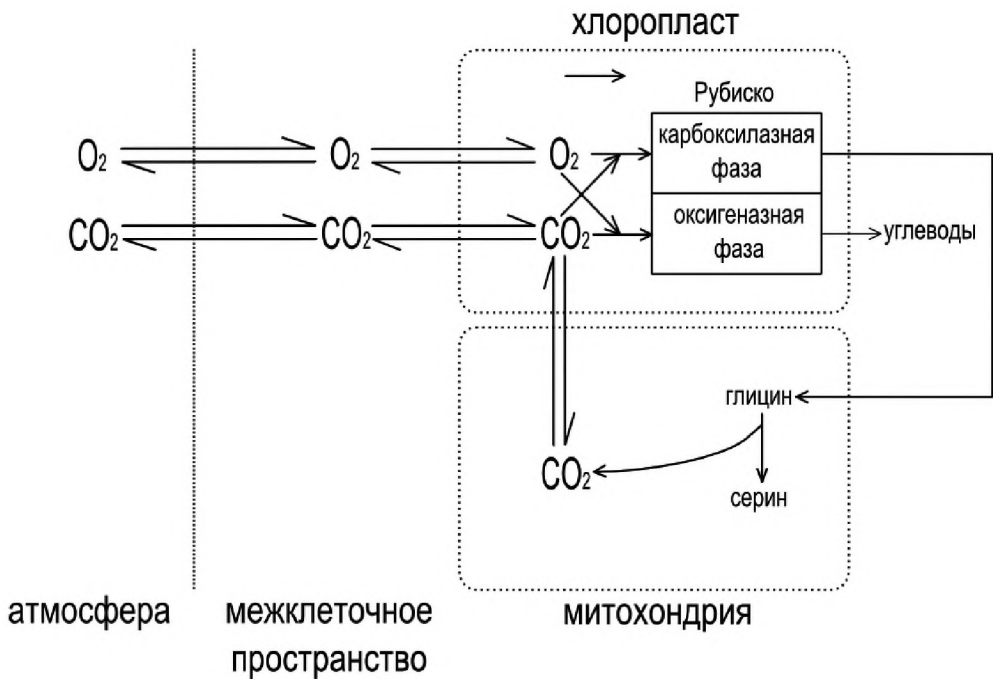


Рис. 1. Схема, иллюстрирующая осцилляционную модель фотосинтеза. Ключевой фермент фотосинтеза Рубиско. При высоких концентрациях CO_2/O_2 в клетке стимулируется карбоксилазная функция фермента и ингибируется оксигеназная. При низких концентрациях CO_2/O_2 в клетке, наоборот, стимулируется оксигеназная функция фермента и ингибируется карбоксилазная

изотопных эффектов, возникающих в разных фазах осцилляций.

Важно также отметить, что в клетке в силу колебаний существует строго временная последовательность метаболических процессов. В силу этого накопленные при фотосинтезе фонды расходуются не только для разных нужд, но и в различные временные отрезки. Поэтому, проходя даже через те же отрезки метаболических путей, углеродные потоки не перемешиваются и изотопные различия сохраняются.

В подтверждение такого механизма фотосинтеза рассмотрим данные Гесслера и коллег [15], представленные на рисунке 2. На нем представлен суточный диапазон вариаций изотопного состава углерода водораствори-

мого и нерастворимого органического вещества листа, суммарного углерода биомассы листа и углерода сока флоэмы, переносящего накопленные в листе органические вещества к гетеротрофным органам растения. Видно, что нерастворимая фракция биомассы листа обогащена изотопом ^{12}C относительно углерода водорастворимой фракции органического вещества листа. Осцилляционная модель объясняет это тем, что нерастворимая часть листа — это в основном фракция, содержащая липидные, протеиновые и другие компоненты, синтез которых происходит в гликолитической цепи с использованием углеводного фонда, запасаемого в карбоксилазную фазу, т.е. обогащенного изотопом ^{12}C . Водорастворимые углеводы, включая саха-

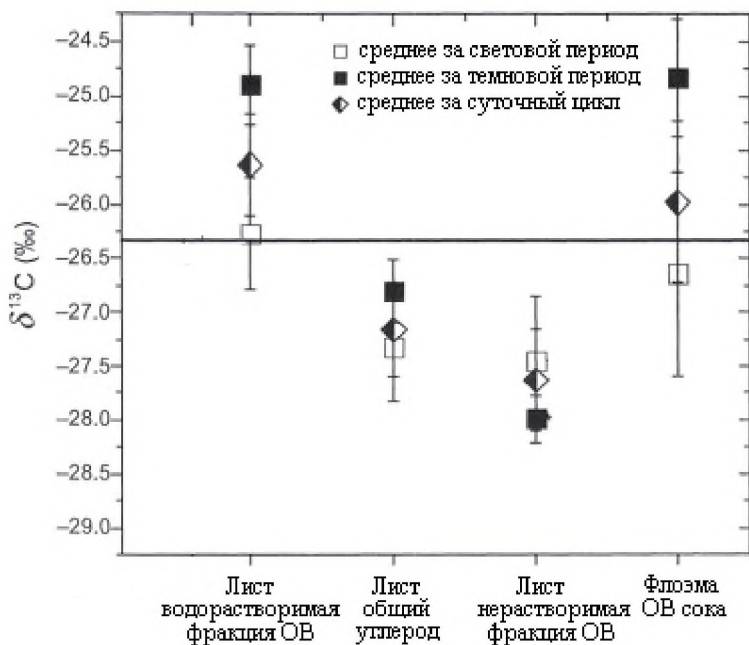


Рис. 2. Изотопный состав общего углерода листа и его водорастворимой и нерастворимой органической фракции, а также углерода сока флоэмы, усредненный за световой период (1), темновой период (2) и за полный суточный цикл (3). Рисунок взят из работы [15] и модифицирован

розу, образуются из фонда, который накапливается в оксигеназную фазу, а следовательно, углерод фонда обогащен изотопом ^{13}C . Как известно, сахароза является основным транспортным агентом в растениях [5], что, в свою очередь, объясняет обогащенность «тяжелым» изотопом углерода сока флоэмы и приблизительно одинаковый диапазон суточных вариаций изотопного состава углерода у сока флоэмы и водорастворенного органического вещества листа.

Другой аргумент в пользу приведенной интерпретации изотопных различий автотрофных и гетеротрофных органов растений состоит в следующем, в работе [1] проводилось сопоставление внутримолекулярного изотопного распределения глюкозы крахмала запасящих органов ряда растений (кукурузы, пшеницы, картофеля, гороха, капусты).

изученных экспериментально, с распределением, полученным путем теоретического моделирования. При теоретическом моделировании распределения изотопов углерода для глюкозы (Г6Ф), синтезируемой в карбоксилазной фазе осцилляций, показано, что оно характеризуется приблизительно равномерным распределением ^{13}C вдоль скелета молекулы. Для глюкозы оксигеназной фазы распределение неравномерно и характеризуется отчетливой утяжеленностью в положениях C-3 и C-4 атомов и облегчением атомов к концам молекул. Самыми «легкими» оказались атомы в положениях C-1 и C-6. Аналогичным с распределением в оксигеназной глюкозе оказалось распределение глюкозы крахмала запасящих органов, в силу вышеизложенного этого и следовало ожидать, поскольку запасящие органы относятся к гетеротрофным органам

растении, для которых источником углерода являются углеводы, синтезируемые из оксигеназной глюкозы. Именно утяжеленность атомов в положениях С-3 и С-4 обуславливает «тяжелый» изотопный состав общего углерода молекулы. При этом степень «утяжеленности» определяется интенсивностью фотодыхания.

Градиент изотопного состава углерода листвы по высоте кроны, отмеченный в упомянутых выше работах, также легко объясним с помощью осцилляционной модели. В самом деле, вверху кроны интенсивность падающего излучения максимальна и снижается книзу. Интенсивность света усиливает фотодыхание, которое, в свою очередь, вызывает изотопное утяжеление продуктов фотодыхания, а вместе с ними и биомассы листа [8].

Столь же просто модель объясняет факт различия изотопного состава углерода листвы и биомассы паразитов, питающихся древесиной или

плодами растений, т.е. углеродом гетеротрофных частей. Углерод биомассы консументов (которые относятся к гетеротрофам) близок по изотопному составу к углероду листвы и потому отражает изотопные различия гетеротрофных и автотрофных частей растения-хозяина.

Таким образом, осцилляционная модель объясняет природу различий гетеротрофных и автотрофных органов растений существованием фотосинтетических осцилляций, в ходе которых образуются два изотопно различающихся фонда углеводов. Обогащенный изотопом ^{13}C фонд углеводов, образующийся в оксигеназной фазе осцилляций, используется растением для переноса ассимилятов из автотрофных органов к гетеротрофным, а также для роста и метаболизма последних. Вывод подтверждается экспериментальными данными, полученными независимыми исследователями.

Библиографический список

1. Ивлев А. А. О колебательной природе углеродного метаболизма в фотосинтезирующей клетке. Аргументы и факты. Известия РАН. Сер. Биологическая. 2010. Т. 37. № 3 С. 261-270.
2. Ивлев А.А., Пичужкин В.И., Князев Д.А. Изменения изотопного состава углерода органов пшениц в онтогенезе и их возможная связь с фотодыханием растений // Физиология растений, 2001. Т. 46. № 4. С. 517-526.
3. Ивлев А.А. О потоках «лёгкого» и «тяжёлого» углерода при сопряжении фотосинтеза и фотодыхания//Физиология растений, 1993. Т. 40. С. 871-878.
4. Ивлев А.А. Распределение изотопов углерода ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) в клетке и временная организация клеточных процессов//Биофизика, 1991. Т. 36. С. 1060-1078.
5. Курстов АА. Транспорт ассимилятов в растениях. М.: Наука, 1976.
6. Badeck F.-W., Tcherkez G., Nogues S., Piel C., Ghashghaie J. Post-photosynthetic fractionation of stable carbon isotopes between plant organs — a widespread phenomenon // Rapid Commun. Mass Spectrom, 2005. V. 19. P. 1381-1391.
7. 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. V. 177. P. 406-418.
8. 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 C_3 -Crassulacean Acid Metabolism Intermediate *Clusia minor* L. Growing in Trinidad//Plant Physiol., 1994. V. 105. P. 493-501.
9. Carbone M.S., Trumbore S.E. Contribution of new photosynthetic assimilates to respiration by perennial grasses and shrubs: residence times and allocation patterns //New Phytologist, 2007. V. 176. P. 124-135.

10. *Cernusak 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 C_3 plants? Review and synthesis of current hypotheses // *Funct Plant Biology*, 2009. V. 36. P. 199-213.
11. *Farquhar G.D., O'Leary M.H., Berry J.A.* On the relationship between carbon isotope discrimination and intercellular carbon dioxide concentration in leaves // *Aust. J. Plant Physiol.*, 1982. V. 9. P. 121-137.
12. *Cernusak L.A., Aranda J., Marshal G.D., Winter K.* Large variations in whole-plant water-use efficiency among tropical tree species // *New Phytologist*, 2007. V. 173. P. 294-305.
13. *Cernusak L.A., Pate J.S., Farquhar G.D.* Oxygen and carbon isotope composition of parasitic plants and their hosts in southwestern Australia // *Oecologia*, 2004. V. 139. P. 199-213.
14. *Craig H.* The geochemistry of stable carbon isotopes // *Geochim. et Cosm. Acta*, 1953. V. 3. P. 53-92.
15. *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. V. 31. P. 941-953.
16. *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. V. 34. P. 692-706
17. *Gleixner G., Danier H.G., Werner R.A., Schmidt H.-L* Correlation between the ^{13}C content of primary and secondary products in different cell compartments and that in decomposing basidiomycetes // *Plant Physiology*, 1993. V. 102. P. 1287-1290.
18. *Hobbie E.A., Werner R.A.* Intramolecular, compound-specific, and bulk carbon isotope patterns in C_3 and C_4 plants: a review and synthesis // *New Phytologist*, 2004. V. 161. P. 371-385.
19. *Lylev A.A.* Carbon isotope effect as a tool to study photosynthesis // *Chemical probes in biology* / ed. M.P. Schneider. Kluwer Academic Publishers. Netherlands, 2003. P. 269-285.
20. *Lylev A.A., Lgamberdiev A.Y., Dubinsky A.Yu.* Isotopic composition of carbon metabolites and metabolic oscillations in the course of photosynthesis // *Biophysics*, 2004. V. 49. Suppl. 1. P. 3-16.
21. *Leavitt S.W., Long A.* Stable carbon isotope variability in tree foliage and wood // *Ecology*, 1986. V. 67. P. 1002-1010.
22. *Leavitt S.W., Long A.* Evidence for $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ fractionation between tree leaves and wood // *Nature*, 1982. V. 298. P. 742-744.
23. *O'Leary M.H.* Carbon isotope fractionation in plants // *Phytochemistry*, 1981. V. 20. P. 553-567.
24. *Park R., Epstein S.* Carbon isotope fractionation during photosynthesis // *Geochim et Cosmochim. Acta*, 1960. V. 21. P. 110-119.
25. *Schlesser G.H.* ^{13}C pattern in a forest tree as an indicator of carbon transfer in trees // *Ecology*, 1992. V. 73. P. 1922-1925.
26. *Terwilliger V.J., Huang J.* Heterotrophic whole plant tissue show more ^{13}C — enrichment than their carbon source // *Phytochemistry*, 1996. V. 43. P. 1183-1188.
27. *Vogel J.C.* Variability of Carbon Isotope Fractionation during Photosynthesis // *Stable isotopes and plant carbon — water relations* / Eds Ehleringer J.R., Hall A.E., Farquhar G.D. San Diego — Boston, 1993. P. 29-46.

28. *Ziegler H.* Deuterium content in organic material of hosts and their parasites. // In: "Ecophysiology of photosynthesis"/ Eds. E.D. Schultze, M. Caldwell, 1994. PP. 393-408. 1994. Berlin, Springer-Verlag.

SUMMARY

The cause of carbon isotopic distinctions of both autotrophic and heterotrophic plant organs on the base of earlier oscillation concept has been considered. It has been discovered that above-mentioned distinctions occur as a result of photosynthetic oscillations. In the course of these oscillations isotopically different carbohydrate pools are formed. The pool of ^{13}C enriched carbohydrates derived in oxygenase phase of oscillations is used as transport agent of assimilates from autotrophic plant organs to heterotrophic ones, as well as a carbon substrate source for both growth and metabolism.

Key words: Carbon isotope fractionation, photosynthetic oscillations, autotrophic and heterotrophic organisms.

Ивлев Александр Андреевич — д. с.-х. н. Эл. почта: aaivlev@list.ru

Пичужкин Вадим Иванович — к. х. н.

Пинаев Александр Сергеевич — аспирант кафедры неорганической и аналитической химии РГАУ - МСХА имени К. А. Тимирязева

Гончарова Оксана Владимировна — студентка 3-го курса РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева