

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИЗОТОПНОЙ ДИСКРИМИНАЦИИ ПРИ ФОТОСИНТЕЗЕ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ УРОЖАЙНОСТИ ПШЕНИЦЫ

АА. ИВЛЕВ, В.И. ПИЧУЖКИН, В.Д. БЛИННИКОВА

(Кафедра неорганической химии)

В статье рассмотрена корреляция урожайность пшеницы — величина изотопной дискриминации $A^{13}C$ и исследована причина ее зависимости от влагодоступности в рамках модели, учитывающей колебательный характер фотосинтеза. Согласно модели продуктивность растений связана с вкладом процессов ассимиляции и фотодыхания. Анализ балансовых уравнений показывает, что при обильной ирригации положительный знак корреляции определяется изменением вклада фотодыхательного потока в синтез биомассы при постоянстве вклада ассимиляционного. При недостатке влаги отрицательный характер корреляции определяется изменением вклада ассимиляционного потока, связанного со степенью истощения поступающих в клетку порций CO_2 . Корреляция имеет место, если в качестве изотопного параметра используется изотопный состав углерода флагового листа или стебля пшеницы, и теряет смысл, если в качестве изотопного параметра используется изотопный состав углерода семян.

Ключевые слова: изотопный состав углерода, продуктивность, ассимиляция $C\ k_2$, фотодыхание.

Известны многочисленные попытки использовать эмпирическую корреляцию продуктивность (урожайность) пшеницы — величина изотопной дискриминации* $A^{13}C$ [6, 11, 13]. Часто вместо изотопной дискриминации используют изотопный состав углерода биомассы какого-либо органа растения, что, впрочем, не меняет смысла корреляции, так как в этом случае отсчет изотопного сдвига ведется не от изотопного состава ассимилируемого углерода, а от некоторого общепринятого уровня (стандарта). Сложность ее

использования заключается в том, что рассматриваемая корреляция оказывается положительной в условиях хорошей ирригации, либо имеет отрицательный характер или отличается большим разбросом точек в условиях дефицита влаги. Объяснения причин смены знака корреляции в литературе не приводились.

Исследования упомянутой корреляции проводились в основном на пшенице. В работе [6] изучалась большая группа генотипов пшеницы, в т.ч. 24 генотипа пшеницы для выпечки хлеба,

* Принято изотопный состав углерода выражать в единицах δ , представляющих нормированную разность отношений изотопных концентраций в образце и стандарте, отнесенную к стандарту. Из этого следует, что $\delta^{13}C \cdot 10^{-3} + 1 = [^{13}C/^{12}C]_{\text{обр}} / [^{13}C/^{12}C]_{\text{станд}}$. Изотопную дискриминацию $\Delta^{13}C$ рассматривают как разность изотопного состава углерода биомассы какого-либо органа пшеницы и углерода ассимилируемого углекислого газа: $\Delta^{13}C = \delta^{13}C_{\text{биомассы}} - \delta^{13}CO_2$.

генотип *Triticum turgidum* L. *durum* и два генотипа ($\times$ *Triticosecale rimpaui* Wittm.). Исследования проводили в 1984 г. в Новом Юж. Уэльсе (Австралия) в двух разных локациях, отличающихся типом почв. Сезон проведения работ характеризовался обильными дождями. Во всех случаях получена положительная корреляция (рис. 1). Разброс точек вокруг корреляционных прямых объясняется проявлением генетических особенностей индивидуальных генотипов.

Нами также была получена положительная корреляция ($r = 0,84$) при изучении 6 генотипов яровой пшеницы урожая 1992 и 1993 гг., когда в качестве изотопного параметра с урожайностью сопоставлялся изотопный состав углерода флагового листа (рис. 2). Причем вегетационные периоды 1992—1993 гг. характеризовались значительным количеством осадков, но количество осадков в 1993 г. почти в 3 раза превышало количество осадков в 1992 г. [2]. Замечено, что разброс точек в кор-

реляции 1993 г. несколько меньше, чем в корреляции 1992 г.

В более поздней работе [7] авторы подтвердили положительный характер связи биопродуктивность АМ (урожайность Y) — изотопная дискриминация A в случае нелимитированной влагодоступности, но в условиях ограниченной влагодоступности продемонстрировали отрицательный характер связи (рис. 3 а, b и c). В области перехода от лимитированной влагодоступности к обильной связь между характеристиками исчезает (рис. 3 б), корреляция теряет значимость.

Оба типа корреляций были обнаружены также для фасоли [15]. Отрицательные корреляции были обнаружены для земляного ореха [16] и трав [11].

Существующие модели, основанные на предположении о стационарности изотопного фракционирования углерода при фотосинтетической ассимиляции, не могут объяснить влияние влагодоступности на характер корреляции [8, 9, 12].

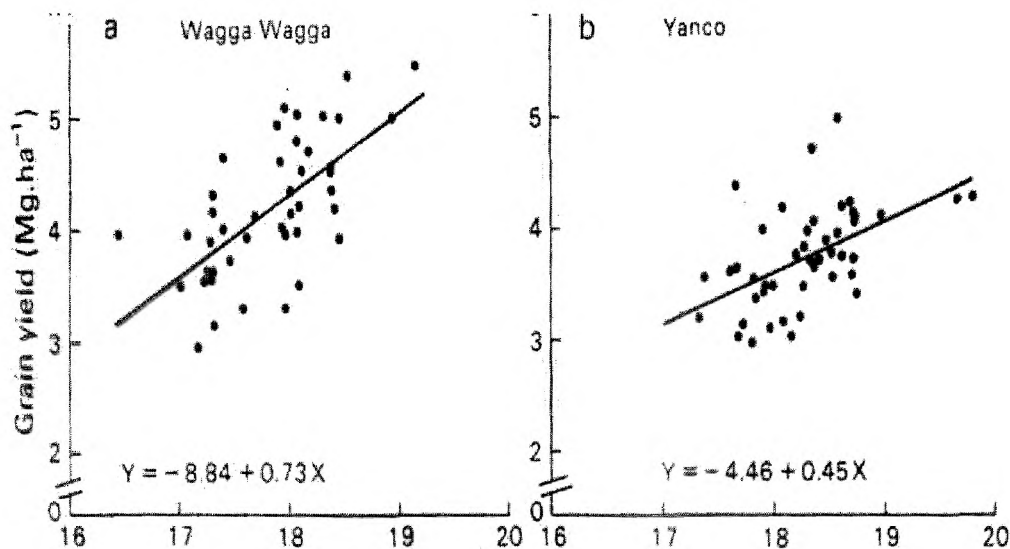


Рис. 1. Корреляция урожайность пшеницы — изотопная дискриминация A . Урожай 1984 г. (Австралия, локации Wagga Wagga и Yanco). По данным [6]. Урожайность в т/га, изотопная дискриминация определялась по изотопному составу углерода стебля

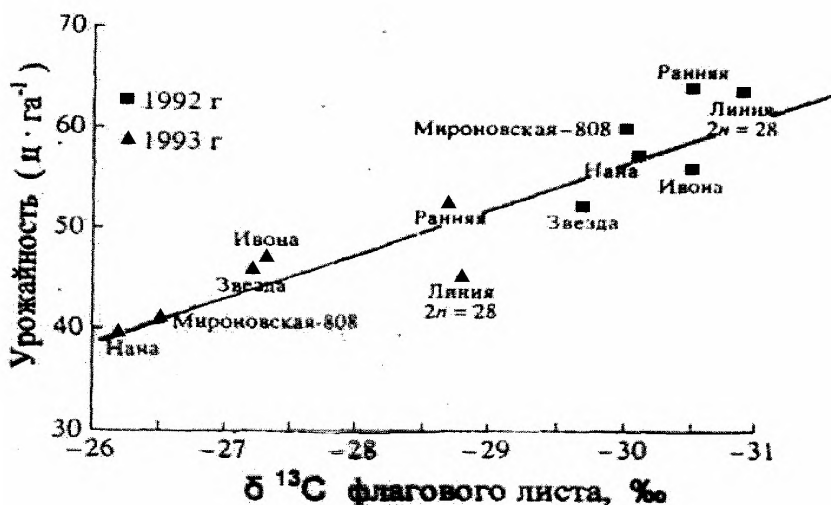


Рис. 2. Корреляция урожайность пшеницы — $\delta^{13}\text{C}$ флагового листа для 6 генотипов яровой пшеницы, выращенной в вегетационные периоды 1992-1993 гг. на опытных полях МСХА имени К.А. Тимирязева. Пояснения в тексте

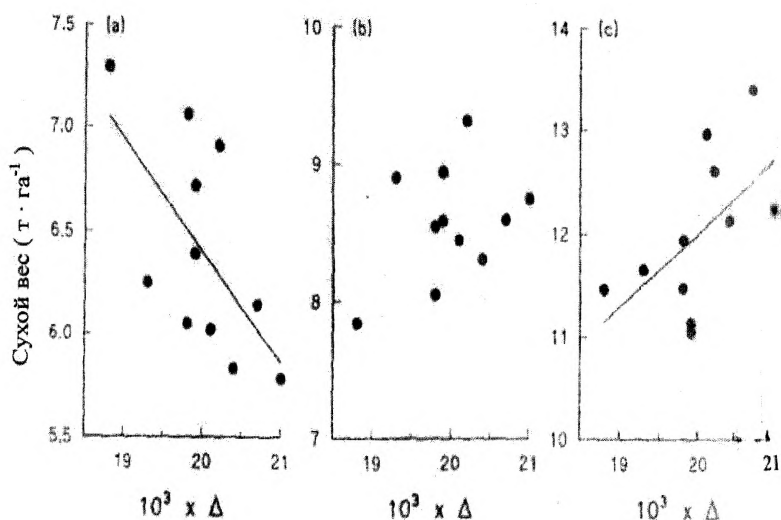


Рис. 3. Корреляция урожайность пшеницы — изотопная дискриминация Δ . Урожай 1986-1987 гг. (Австралия), а — условия дефицита влаги, б — условия промежуточной влагодоступности, с — условия хорошей ирригации. По данным работы [7]. Урожайность в т/га, изотопная дискриминация определялась по изотопному составу углерода стебля

Цель настоящей работы — вскрыть связь с влагодоступностью, основываясь на физический смысл корреляции и представлении об осцилляторном характере фотосинтеза.

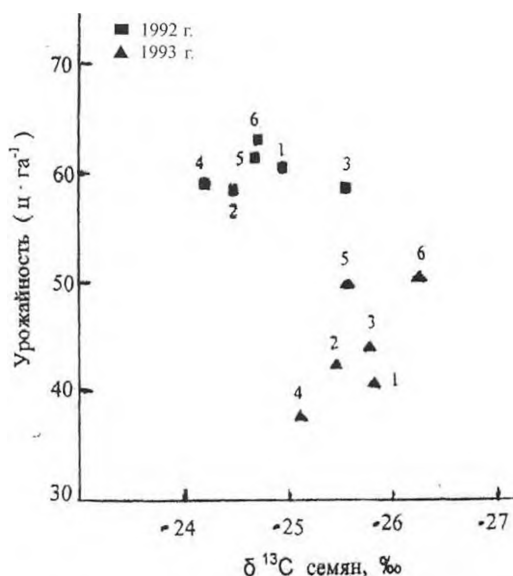


Рис. 4. Корреляция урожайность пшеницы — $\delta^{13}\text{C}$ семян для 6 генотипов яровой пшеницы, выращенной в вегетационные периоды 1992-1993 гг. на опытных полях МСХА имени К.А. Тимирязева.

1 — Ивона; 2 — Мироновская; 3 — Нана; 4 — Звезда; 5 — Ранняя; 6 — Линия 6л=28

Фотосинтез рассматривается нами как осцилляции, состоящие из двух фаз, карбоксилазной (фаза ассимиляции CO_2) и оксигеназной (фаза фотодыхания). Фазы определяются переключениями ключевого фермента фотосинтеза — Рубиско, способного работать как карбоксилаза и как оксигеназа. При этом CO_2 поступает в фотосинтезирующую клетку не в виде потока, а в виде дискретных порций [1, 4, 10].

Урожайность — это усредненная по времени балансовая характеристика. Поэтому для анализа удобно представить, что все карбоксилазные фазы суммируются и образуют ассимиляционный поток. Все оксигеназные фазы также суммируются и составляют фотодыхательный поток. Этими потоками будем оперировать, составляя баланс.

Прирост биомассы можно представить как вклад углерода, фиксируе-

мого в карбоксилазную фазу А, и долю © от фотодыхательного потока Ф, которая превращается в биомассу в оксигеназную связь Ф...

$$\Delta M = A + \Phi \Theta = A + \Phi_c \quad (1)$$

Выразим прирост биомассы в относительных единицах, разделив обе части выражения (1) на ДМ, и запишем для него изотопный баланс по углероду:

$$= \left(\frac{^{12}\text{C}/^{13}\text{C}}{\text{биом}} \right) = \left(\frac{^{12}\text{C}/^{13}\text{C}}{\text{а}} \right) \eta + \left(\frac{^{12}\text{C}/^{13}\text{C}}{\text{ф}} \right) (1 - \eta), \quad (2)$$

где $\eta = A/\Delta M$, $(1 - \eta) = \Phi \Theta / \Delta M$.

Обозначив коэффициенты изотопного фракционирования для процессов ассимиляции и фотодыхания как α_a и α_f и учитывая, что

$$\alpha_{\text{издискр}} = \frac{(^{12}\text{C}/^{13}\text{C})_{\text{биом}}}{(^{12}\text{C}/^{13}\text{C})_0}, \quad (3)$$

$$\alpha_a = \frac{(^{12}\text{C}/^{13}\text{C})_a}{(^{12}\text{C}/^{13}\text{C})_0}, \text{ и } \alpha_f = \frac{(^{12}\text{C}/^{13}\text{C})_f}{(^{12}\text{C}/^{13}\text{C})_0}$$

выражение (2) можно переписать

$$\alpha_{\text{издискр}} = \alpha_a \eta + \alpha_f (1 - \eta). \quad (4)$$

Воспользовавшись коэффициентами изотопного обогащения,

$$\Delta = (\alpha_a - 1)10^{-3}, \quad \varepsilon_a = (\alpha_a - 1)10^{-3}, \\ \varepsilon_f = (\alpha_f - 1)10^{-3},$$

представим (4) как:

$$1 + \Delta 10^{-3} = (1 + \varepsilon_a 10^{-3}) \eta + (1 + \varepsilon_f 10^{-3}) (1 - \eta). \quad (5)$$

Переходя к изотопным приращениям, получим

$$\Delta = \varepsilon_a \eta - \varepsilon_f (1 - \eta). \quad (6)$$

Первый член в правой части отражает вклад ассимиляции в изотопную дискриминацию, второй — фотодыхания. В выражении (6) учитывается, что знаки изотопного эффекта ассимиляции и фотодыхания противоположны, т.е. биомасса при ассимиляции обогащается изотопом ^{12}C ($\varepsilon_a > 0$), а

при фотодыхании — ^{13}C ($\varepsilon_{\phi} < 0$), соответственно $\alpha_a \approx 1$, а $\alpha_{\phi} < 1$. Поскольку α_a является в конечном счете производной от коэффициента изотопного фракционирования в реакции ферментативного карбоксилирования РиБФ при ассимиляции, а α_{ϕ} — производной от коэффициента изотопного фракционирования в реакции ферментативного декарбоксилирования глицина при фотодыхании, которые принимаются постоянными для всех растений данного типа, рассматриваемые коэффициенты также можно рассматривать как константы. Важно отметить, что поскольку ассимиляционный поток существенно больше фотодыхательного, первый член в правой части (6) всегда больше второго.

Рассмотрим случай обильной влагодоступности. Устьица листа полностью раскрыты, в клетку попадает максимальное количество CO_2 , а истощение входящих порций CO_2 при фиксации минимально. В этих условиях в клетке при ассимиляции реализуется максимально возможное (или близкое к нему) изотопное фракционирование, что позволяет первый член в (6) считать постоянным, т.е.

$$\Delta = \text{Const} - \varepsilon_{\phi} (1 - \eta), \quad (6a)$$

т.е. меньший по величине второй член вычитается из первого. Сомножитель $(1 - \eta)$ характеризует интенсивность фотодыхания. Чем больше величина $(1 - \eta)$, тем интенсивнее фотодыхание. При усилении фотодыхания снижается продуктивность пшеницы и, как следует из (6), величина изотопной дискриминации тоже снижается. Таким образом, и продуктивность, и изотопная дискриминация меняются в одном направлении, т.е. корреляция между ними положительная, $\Delta M \Gamma_k \cdot A$. При этом особенности генотипов пшеницы (разброс точек вокруг кривых) проявляются в различном делении потока на части: собственно фотодыхание и часть, используемую на биосинтез и определяемую величиной Θ

В случае лимитированной влагодоступности определяющую роль в изменении продуктивности играет первый член в выражении (1), т.е. изменения ассимиляционного потока. Поскольку он складывается из фиксации части дискретных порций CO_2 , поступающих в клетку, и зависит от величины истощения, то чем большая часть порций фиксируется, тем выше продуктивность. Но чем больше степень истощения, тем меньше величина изотопной дискриминации в соответствии с законом Релея. Другими словами, степень истощения и продуктивность меняются противоположно и корреляция между ними отрицательная, т.е.

$$\Delta M \Gamma - k \cdot \Delta \quad (7)$$

С точки зрения общего биологического смысла функций фотодыхания и фотодыхания можно считать, что первая отвечает за продуктивность и максимально проявляется при благоприятных условиях, вторая — за адаптацию и проявляется при неблагоприятных условиях, в частности, при водном стрессе. Стратегия адаптации растения строится на компромиссе между этими свойствами, и это объясняет влияние на корреляцию уровня влагодоступности.

В заключение обсудим причину отсутствия четкой корреляции при использовании в качестве изотопного параметра изотопного состава углерода семян (рис. 4). Заметим, что изотопный состав углерода семян заметно «тяжелее» изотопного состава углерода листа и стебля [2], что свидетельствует о значительно большем вкладе в их формирование «тяжелого» фотодыхательного потока. Вероятно, что в отличие от листа и стебля на синтез биомассы семян используется исключительно фотодыхательный поток.

Косвенно в пользу такого предположения свидетельствует обнаружение фонда растворимых сахаров, которые накапливаются в стебле пшеницы в

ходе роста и используются на формирование колоса [14]. В самом деле, обнаружение упомянутого фонда согласуется с утверждением, вытекающим из предложенного ранее осцилляционного механизма фотосинтеза [4, 10]. В соответствии с ним в процессе фотосинтеза в карбоксилазную фазу функционирования Рубиско в клетках накапливается фонд крахмала и других полимерных углеводов, которые используется на снабжение гликолитической цепи в темновой период, а водорастворимые углеводы накапливают-

ся в фондах в оксигеназную фазу и используются на синтез фотодыхательных продуктов. Вполне возможно, что часть этих сахаров идет на создание упомянутого фонда в стебле и используется для формирования колоса. В пользу этого свидетельствует факт обнаружения обогащенности изотопом ^{13}C водорастворимого углевода — сахарозы, выделенной из листа *Clusia minor* C_3 -CAM растения [5], и связь содержания этого изотопа с факторами, контролирующими интенсивность фотодыхания [10].

Библиографический список

1. Ивлев А.А. О дискретности процесса ассимиляции CO_2 на свету C_3 -растениями // Биофизика, 1989. Т.34. Вып.5. С.887-891.
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, 1999. Т. 46. №4. С.517-526.
3. Ивлев А.А. Вклад фотодыхания в изменения изотопноуглеродных характеристик растений при воздействии стрессовых факторов // Физиология растений, 2004. Т. 49. N 2. С. 303-313.
4. Ивлев А.А. Изотопные эффекты углерода и клеточные механизмы углеродного метаболизма в фотосинтезирующей клетке. М.: РГАУ — МСХА. 2008.
5. 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.
6. Condon A.G., Richards R.A., Farquhar G.K. Carbon isotope discrimination is positively correlated with grain yield and dry matter production in field-grown wheat // Crop Sci., 1987. V. 27. P. 996-1001.
7. Condon A.G., Richards R.A. Exploiting genetic variations in transpiration efficiency in wheat: agronomic view, 1993. P. 435-462. In: Ehleringer J.R., Hall A.E., Farquhar G.K. (editors) / Stable Isotopes and Plant Carbon — Water Relations. Academic Press, Inc.. San Kiego, Boston, New York, London, Sydney, Tokyo, Toronto.
8. Farquhar G.K., Richards R.A. Carbon isotope composition of plant correlates with water-use efficiency of wheat genotypes // Aust.J.Plant Physiol, 1984. V. 11. P. 530-552.
9. Farquhar G.K., Huhick K.T., Condon A.G., Richards R.A. Carbon isotope fractionation and plant water -use efficiency // Stable Isotopes in Ecological Research / Eds Rundel P.W., Ehleringer J.R., Nagy K.A. N. Y. Springer, 1989. V. 68. P. 21-40.
10. Ivlev A.A., Igamberdiev A.Y., Kubinsky A.Yu. Isotopic composition of carbon metabolites and metabolic oscillations in the course of photosynthesis // Biophysics, 2004. V. 49. Suppl. 1. P. 3-16.
11. Johnson R.C., Bassett L.M. Carbon isotope discrimination and water-use efficiency in four cool-season grasses // Crop Sci., 1991. V. 31. P. 157-162.
12. Hall A.E., Ismail A.M., Menendez C.M. Implication for plant breeding of genotypic and drought-induced differences in water-use efficiency carbon isotope discrimination, and gas exchange, 1993. P. 349-370. In: Ehleringer J.R., Hall A.E., Farquhar G.K. (editors) / Stable Isotopes and Plant Carbon — Water Relations. Academic Press, Inc.. San Kiego, Boston, New York, London, Sydney, Tokyo, Toronto.

13. Merah K., Keleens E., AL Hakimi A., Monneveux P. Carbon isotope discrimination and grain yield variations among tetraploid wheat species cultivated under contrasting precipitation regimes // Crop Sci., 2001. V. 186. P. 129-134.

14. Ruuska S. A., Rebetzke G. J., van Herwaarden A. F., Richards R. A., Fettell Neil A., Tabe L., Jenkins C. L. K. Genotypic variation in water-soluble carbohydrate accumulation in wheat // Funct Plant Biology, 2006. V. 33. N 9. P 799-809.

15. White J.W., Castilho JA., Ehleringer J. Associations between productivity, root growth and carbon isotope discrimination in *Phaseolus vulgaris* under water deficit // Aust. J Plant Physiol, 1990. V. 17. P. 189-198.

16. Wright G.C., Hubick K.T., Farquhar G.K. Discrimination in carbon isotopes in leaves correlates with water-use efficiency of field-grown peanut cultivars // Aust. J Plant Physiol, 1988. V. 15. P. 815-825.

Рецензент — к. б. н. Ю.С. Ларикова

SUMMARY

«Crop productivity — carbon isotope discrimination in wheat» correlation was examined to investigate the cause of its sign dependence on water availability. The oscillatory model of photosynthesis was used as a tool for the examination. The model assumes photosynthesis to consist of oscillating phases which are C_3 assimilation and photorespiration. In case of abundant availability a positive sign of correlation takes place because the difference in photorespiration peculiar to each wheat genotype contributes to isotope discrimination while the contributions of C_3 assimilation stay constant. In limited water availability the contribution of C_3 assimilation plays a dominant role as compared with photorespiration changing the sign of the correlation. The above correlation is observed if an isotope ratio of stem or leaf is used. An isotope ratio of seeds can't be applied because its synthesis is mainly bound to photorespiration flux only.

Key words: carbon isotopic composition, productivity, carbon dioxide assimilation, photorespiration.