

УДК 581.132.536.543:539

ОБ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ИЗОТОПНЫХ РАЗЛИЧИЙ УГЛЕРОДА ФРАКЦИЙ БИОМАССЫ В РАСТЕНИЯХ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ТРАНСПОРТНЫХ ПОТОКОВ И ДОНОРНО-АКЦЕПТОРНЫХ ОТНОШЕНИЙ ПРИ РАЗНЫХ СВЕТОВЫХ РЕЖИМАХ

© 2024 г. А. А. Ивлев* @, В. А. Литвинский**, Н. М. Пржевальский***,
Д. А. Товстыко***, А. С. Шмаков***, М. П. Ломакин***,
Н. Н. Слепцов***, И. Г. Тараканов***

*Всероссийский научно-исследовательский геологический нефтяной институт (ВНИГНИ), Апрелевское отделение,
1-я ул. Кетрица, г. Апрелевка, Московская область, 143360 Россия

**Палеонтологический институт РАН имени А. А. Борисяка, Профсоюзная ул., Москва, 117647 Россия

***Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К. А. Тимирязева,
Тимирязевская ул., 49, Москва, 127434 Россия

@E-mail: aa.ivlev@list.ru

Поступила в редакцию 12.11.2023 г.

После доработки 21.02.2024 г.

Принята к публикации 21.02.2024 г.

Показано, что различия в изотопном составе углерода водорастворимой и водонерастворимой фракции биомассы листа растений, а также флоэмы эволюционно обусловлены, связаны с метаболическими реакциями при ассимиляции и фотодыхании и не зависят от режима освещенности и от спектральных диапазонов ФАР, используемых при освещении. Они являются причиной изотопных различий ассимиляционного и фотодыхательного углеродных фондов, питающих различные метаболические процессы. Благодаря строгой временной и пространственной организации метаболизма потоки углерода из фондов сохраняют изотопные различия, полностью не перемешиваясь. Отличия изотопного состава углерода водорастворимой фракции биомассы и углерода сока флоэмы от углерода водонерастворимой фракции невелики (1–3‰), но вполне устойчивы и легко фиксируются. Углерод водорастворимой фракции весьма близок по изотопному составу к углероду флоэмы и заметно обогащен изотопом ¹³C относительно водонерастворимой фракции, что позволяет использовать его как маркер при изучении транспорта ассимилятов в растениях, особенно в период бутонизации и плодоношения. Показано, что причиной обогащенности автотрофных органов и тканей изотопом ¹²C относительно углерода гетеротрофных частей растения является преимущественное участие в их образовании изотопнолегкого ассимиляционного фонда, тогда как в формировании гетеротрофных органов принимает участие изотопнотяжелый фотодыхательный фонд. Показано, что проявлением двух изотопноразличающихся фондов является обнаруженная связь изотопного состава углерода листьев с их возрастом.

Ключевые слова: фотосинтез, фракционирование изотопов углерода, ассимиляционный и фотодыхательные фонды, транспортные потоки, донорно-акцепторные отношения, световые режимы, спектральный состав света, водорастворимая и водонерастворимая фракции биомассы

DOI: 10.31857/S1026347024040039, **EDN:** VHZBBF

То, что фотосинтез сопровождается фракционированием изотопов углерода, известно очень давно (Murthy, Nier 1941; Wickman, 1952; Craig 1954). При этом углерод биомассы фотосинтезирующего организма (растения) обогащается изотопом ¹²C относительно ассимилируемого из среды CO₂. Позднее установили сложную природу процессов, связанных с метаболизмом углерода. Оказалось, что наряду с фотосинтезом, связанным с ассимиляцией CO₂, идет

и противоположно направленный процесс фотодыхания (Чиков, 1996; Эдвардс, Уокер, 1986). Оба процесса происходят на свету. Выяснилось, что и фракционирование изотопов углерода происходит в обоих процессах, а знаки изотопных эффектов противоположные. Ассимиляция обогащает формирующуюся биомассу изотопом ¹²C, фотодыхание – изотопом ¹³C.

Был предложен возможный механизм образования двух изотопноразличающихся фондов углерода

на входе CO_2 в клетку (Ивлев, 2009; Ivlev, 2012). При ассимиляции поток CO_2 из среды в клетку, прежде чем он попадает в фотосинтетический цикл Кальвина – Бенсона, фиксируется в ключевой реакции на входе – карбоксилировании рибулозобисфосфата (РиБФ), катализируемого ферментом Рубиско. Важное свойство фермента в том, что он обладает двойственной функцией карбоксилазы и оксигеназы. Благодаря этому поток углерода попеременно направляется через цикл либо на синтез Г6Ф в карбоксилазную фазу работы Рубиско, образуя ассимиляционный фонд, либо образующийся Г6Ф идет дальше в гликолатный цикл, превращаясь в гликолат и другие продукты цикла. В конечном счете образуется фотодыхательный фонд углерода. Функционирование цикла происходит в оксигеназную фазу работы Рубиско.

Обогащенность углерода ассимиляционного фонда изотопом ^{12}C относительно углерода CO_2 среды возникает в результате изотопного эффекта в реакции карбоксилирования РиБФ в карбоксилазную фазу работы Рубиско. Обогащенность углерода фотодыхательного фонда относительно углерода ассимиляционного фонда изотопом ^{13}C возникает в результате изотопного эффекта при декарбоксилировании глицина на ферменте – глициндегидрогеназе.

Таким образом, изотопный эффект фотодыхания оказывается противоположным по знаку эффекту ассимиляции, снижая тем самым обогащение биомассы изотопом ^{12}C , достигнутое при ассимиляции. При последующем использовании благодаря строгой временной и пространственной организации метаболизма потоки углерода из фондов сохраняют изотопные различия, полностью не перемешиваясь. В итоге при фотосинтезе возникают два изотопноразличающихся потока углеродных субстратов (Ивлев, 2009; Ivlev, 2012). Такой механизм был назван осциляционным (Dubinsky *et al.*, 2010; Dubinsky, Ivlev, 2011).

Исследования изотопных распределений метаболитов и путей их биосинтеза в фотосинтезирующей клетке с целью поиска реакции, где возникает изотопный эффект углерода, привели к обнаружению третьего узла фракционирования изотопов углерода, находящегося в конце гликолитической цепи на пересечении центральных метаболических путей. Он связан с реакцией декарбоксилирования пирувата и ответственен за появление внутримолекулярной клеточной изотопной неоднородности (Ivlev, 2012). Была построена упрощенная модель фракционирования изотопов углерода в фотосинтезирующей клетке, которая, тем не менее, описывала основные черты распределения изотопов углерода в растениях (Ивлев, 2009; Ivlev, 2012).

В настоящей работе рассмотрена возможность использования упрощенной модели для изучения

транспортных потоков в растениях и донорно-акцепторных отношений при разных световых режимах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выращивание растений проводили в климатических камерах (Urbangrower 150, China) при различных режимах освещения. Условия выращивания описаны в предыдущих статьях (Tarakanov *et al.*, 2022; Ивлев и др., 2023). Измерения изотопного состава углерода проб растительной биомассы проводили на изотопном масс-спектрометре (Delta V, Thermo). Методики измерения и пробоподготовки описаны в упомянутых выше работах.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Принципиально новым в исследовании фракционирования изотопов углерода в растениях стало открытие того, что оно происходит не только под влиянием света, но и под влиянием отдельных длин волн из оптически разных диапазонов. Наиболее сильное и разнонаправленное влияние оказывают монохроматический синий (452–477 нм) и красный (623–641 нм) свет. Радиация из синего диапазона смещает изотопный состав углерода биомассы в сторону обогащения изотопом ^{12}C . Радиация из красного диапазона смещает изотопный состав углерода биомассы в сторону обогащения изотопом ^{13}C (Tarakanov *et al.*, 2022; Ивлев и др. 2023). Следует подчеркнуть, что оптическое излучение этих диапазонов происходит одновременно и поглощается в наибольшей степени фотосинтетическими пигментами.

Имеющийся материал указывает на связь разных длин волн падающего света с генетическими характеристиками растения, с особенностями их роста и развития (Shimazaki *et al.*, 2007; Son, Oh, 2013; Chen *et al.*, 2017; Lanoue *et al.*, 2018).

Действие синего света, поскольку оно сопровождалось обогащением биомассы изотопом ^{12}C , относительно облучения контрольным «белым» светом, мы, в соответствии с осциляционной моделью фотосинтеза, связали с усилением ассимиляционного потока. Сдвиг, наблюдаемый при облучении красным светом, сопровождаемый обогащением биомассы изотопом ^{13}C , мы приписали усилению фотодыхательного потока (Ивлев . Tarakanov, 2013; Tarakanov *et al.*, 2022; Ивлев, и др., 2023). В настоящей работе мы сфокусировали основное внимание на первых двух узлах изотопного фракционирования в растениях, связанных с процессом фотосинтеза – ассимиляцией CO_2 и фотодыханием.

Факторы, определяющие изотопные различия водорастворимой и водонерастворимой фракций биомассы растений

Водонерастворимая фракция биомассы растений содержит компоненты, используемые в структурах скелета. Из литературы известно, что она состоит, в основном, из соединений нерастворимых или плохо растворимых в воде (жирных кислот и других липидных компонентов, лигнинов, отдельных белковых молекул, изопреноидов и др.) (Биогенез природных соединений, 1965). Относительно общего углерода биомассы водонерастворимая фракция обогащена «легким» изотопом углерода (Gessler *et al.*, 2008).

Водорастворимая фракция биомассы представлена растворимыми сахарами, органическими кислотами, а также рядом компонентов, синтезируемых при воздействии на растение стрессовых факторов (пролин, гликолевая кислота, глицин) (Калинкина, Русинов, 1981; Калинкина, Удельнова, 1990; 1991). Как было показано (Ивлев, 1993), все фотодыхательные субстраты обогащены ¹³C по сравнению с субстратами ассимиляционного потока.

Изотопные различия упомянутых фракций проявляются также при транспорте ассимилятов. В монографии А.Л. Курсанова (1976) отмечается, что транспортный поток в растениях представлен потоком жидких метаболитов, свыше 10% которого составляют растворимые сахара. Следуя логике нашей модели, можно предположить, что транспортные агенты связаны с фотодыхательным фондом и должны быть обогащены ¹³C относительно углерода биомассы.

Действительно, изучение сока флоэмы у томатов (*Solanum lycopersicon*), через которую идет транспортный поток фотоассимилятов (табл. 1) свидетельствует о том, что сок флоэмы на протяжении всего суточного периода изучения и при разных режимах освещенности (высокая и низкая плотность потока фотонов, ППФ) обнаруживает близкое сходство с изотопным составом водорастворимой фракции биомассы. Хотя отличия

изотопного состава углерода водорастворимой фракции биомассы и углерода сока флоэмы от углерода водонерастворимой фракции невелики (1–3‰), они вполне устойчивы и легко фиксируются.

Эти различия подтверждаются данными других авторов (Cernusak *et al.*, 2003; Gessler *et al.*, 2007; Gessler *et al.*, 2008). Как показано далее, изотопный состав водорастворимой фракции можно использовать в качестве маркера при изучении донорно-акцепторных отношений, особенно в период цветения и плодоношения. В табл. 1 и 2 сопоставлены полученные нами данные по изотопному составу углерода сока флоэмы и данные по изотопному составу углерода водорастворимой и водонерастворимой фракций биомассы донора (листа) и акцептора (плода) томата.

Как видно из табл. 1, значения величин δ ¹³C сока флоэмы во всех экспериментах близки к значениям величин δ ¹³C углерода водорастворимых фракций донора (листа) и акцептора (плода). Значения величин δ ¹³C сока флоэмы попадают в интервал от –29.7 до –31.8‰ в условиях высокого и низкого значений ППФ в период условного дня и ночи.

Из сопоставления табл. 1 с табл. 2 видно, что изотопный состав углерода сока флоэмы близок к изотопному составу углерода водорастворимой фракции как донора (листа), так и акцептора (плода). В то же время водонерастворимые фракции донора и акцептора заметно обогащены изотопом ¹²C относительно углерода флоэмы и водорастворимых фракций. При этом водорастворимая фракция донора обогащена «легким» изотопом в большей степени, чем такая же фракция акцептора. Из этого можно заключить, что транспорт ассимилятов, в основном, происходит в виде метаболитов водорастворимой фракции. Однако вопрос о том, какая доля нерастворимой фракции, переходит в раствор, смешиваясь с компонентами растворимой фракции в процессе углеродного обмена на различных стадиях онтогенеза, остается открытым.

Близость изотопного состава углерода водорастворимых фракций и углерода сока флоэмы

Таблица 1. Изотопный состав углерода сока флоэмы в фазе образования плода томата (*Solanum lycopersicon*), линия 1, при различных световых режимах. Величины δ ¹³C сока флоэмы даны в виде относительных отклонений от стандарта в единицах VPDB (‰)

Световой режим. Фотопериод 24 ч комбинированный: 18 ч (свет с 00-00 до 18-00), высокая ППФ (день) C460+K640+K660+ДК730 + 6ч низкая ППФ (свет с 18-00 до 24-00, условная ночь).							
Отбор сока флоэмы в 12-00 после 12 ч с высокой ППФ		Отбор сока флоэмы в 18-00 после 18 ч с высокой ППФ		Отбор сока флоэмы в 24-00 после 6 ч с низкой ППФ (условная ночь)		Отбор сока флоэмы в 6-00 после 6 ч с высокой ППФ	
из черешка листа	из плодоножки	из черешка листа	из плодоножки	из черешка листа	из плодоножки	из черешка листа	из плодоножки
–30.7 ± 1.1	–31.76 ± 0,9	–29.68 ± 0.2	–30.74 ± 0.4	–30.61 ± 0.7	–30.84 ± 1.2	–29.79 ± 0.3	–30.83 ± 0.9

Таблица 2. Распределение изотопов углерода ^{13}C между водорастворимой и водонерастворимой фракциями биомассы растений томата (*Solanum lycopersicon*), линия 1. В вариантах 2–4 основной фотопериод 18 ч удлиняется монохроматическим светом. Май 2020 г. Величины $\delta^{13}\text{C}$ сока флэемы даны в виде относительных отклонений от стандарта в единицах VPDB (‰).

№	Вариант светового режима	Донор (лист)		Акцептор (плод)	
		Растворимая фракция	Нерастворимая фракция	Растворимая фракция	Нерастворимая фракция
1	24 ч $\text{C}_{460} + \text{K}_{640} + \text{K}_{660} + \text{ДК}_{730}$	-29.26 ± 1.3	-32.37 ± 0.5	-29.19 ± 0.6	-32.11 ± 0.6
2	18 ч $\text{C}_{460} + \text{K}_{640} + \text{K}_{660} + \text{ДК}_{730} +$ 6 ч C_{460}	-29.18 ± 0.4	-30.12 ± 1.6	-28.91 ± 0.9	-30.5 ± 1.3
3	18 ч $\text{C}_{460} + \text{K}_{640} + \text{K}_{660} + \text{ДК}_{730} +$ 6 ч K_{640}	-29.98 ± 1	-30.36 ± 1.8	-29.84 ± 0.6	-31.08 ± 1.4
4	18 ч $\text{C}_{460} + \text{K}_{640} + \text{K}_{660} + \text{ДК}_{730} +$ 6 ч K_{660}	-30.98 ± 1.3	-31.59 ± 0.8	-30.31 ± 0.7	-31.56 ± 1.1
5	24 ч K_{660}	-31.33 ± 0.2	-31.59 ± 0.8	-31.04 ± 0.7	-32.58 ± 0.7

Примечание. Растения томата в приведенных опытах выращивали при следующих световых режимах. 1 (контроль): фотопериод 24 ч непрерывного освещения, высокий уровень облученности, спектральный состав $\text{C}_{460} + \text{K}_{640} + \text{K}_{660} + \text{ДК}_{730}$; 2 (режим комбинированный): фотопериод 18 ч, высокий уровень облученности, спектральный состав $\text{C}_{460} + \text{K}_{640} + \text{K}_{660} + \text{ДК}_{730}$, + 6 ч, низкий уровень облученности C_{460} (условная ночь); 3 (режим комбинированный): фотопериод: 18 ч, высокий уровень облученности, спектральный состав $\text{C}_{460} + \text{K}_{640} + \text{K}_{660} + \text{ДК}_{730}$, + 6 ч K_{640} , низкая облученность (условная ночь); 4 (режим комбинированный): фотопериод 18 ч, высокий уровень облученности, спектральный состав $\text{C}_{460} + \text{K}_{640} + \text{K}_{660} + \text{ДК}_{730}$, + 6 ч K_{660} , низкая облученность (условная ночь); 5: фотопериод 24 ч непрерывного освещения красным светом K_{660} , высокая облученность.

указывает на то, что водорастворимая фракция донора в основном образуется за счет фотодыхательного фонда и является основой для создания транспортного потока ассимилятов.

Различие изотопного состава углерода водонерастворимых фракций донора и акцептора может быть следствием двух причин. Первая причина может быть связана с ранее упоминавшимся фракционированием изотопов углерода в третьем узле, т. е. в гликолитической цепи и сопряженном с ним темновом дыхании, которое происходит в автотрофных и гетеротрофных клетках (Ivlev, 2012; 2023). Вторая причина связана с углеродным обменом клетки, что предполагает изменение соотношения вкладов водорастворимой и водонерастворимой фракций в транспортный поток ассимилятов. Изменение соотношения может меняться на разных этапах онтогенеза за счет того, что углеродные структуры нерастворимой фракции биомассы могут переходить в раствор, и, попадая в транспортный поток, менять соотношение вкладов ассимиляционного и фотодыхательного фондов в транспортном потоке и, соответственно, изотопный состав углерода сока флэемы. Однако, как отмечалось, в настоящий момент недостаточная изученность этих вопросов не позволяет дать на них определенный ответ.

Опираясь на полученные результаты, мы неожиданно получили разгадку феномена, который ранее заметили многие исследователи (Badeck *et al.*, 2005; Gessler *et al.*, 2007; Batheller *et al.*, 2008; Cernusak *et al.*, 2009). Феномен состоит в том, что гетеротрофные органы растения (корни, семена, плоды), хотя и немного (на 1–3 ‰), но всегда оказывались несколько “тяжелее” автотрофных органов (листа, стебля). С точки зрения изложенных представлений, наблюдаемая разница в изотопном составе углерода автотрофных и гетеротрофных органов и тканей обусловлена тем, что транспортный поток ассимилятов связан с фотодыхательным углеродным фондом, обогащенным изотопом ^{13}C . Но при этом нельзя исключать возможность того, что в ходе углеродного обмена углерод нерастворимой фракции на некоторых этапах онтогенеза может растворяться, внося изменение в изотопный состав транспортного потока.

Чтобы убедиться в универсальности описанных донорно-акцепторных взаимоотношений в растениях, мы изучили еще два объекта – горчицу сарептскую *Brassica juncea* (L.) Coss в паре “лист-соцветие” в фазе бутонизации и аналогичную донорно-акцепторную пару для салата *Lactuca sativa* L сорта Афицион на той же стадии (табл. 3, 4).

Бросается в глаза, что, как и в томатах, водорастворимая фракция биомассы листа для горчицы и для салата, т. е. для донора и для акцептора, заметно «тяжелее» водонерастворимой фракции.

Для всех растений наблюдается сходная картина распределения ¹³C между водорастворимой и водонерастворимой фракциями в паре «лист – соцветие» в фазе бутонизации, что подтверждает полученные ранее выводы.

Данные табл. 1–4 позволяют утверждать, что картина изотопных различий фракций биомассы общая для разных растений и связана с образованием изотопно различающихся фондов при фотосинтезе. Из этих таблиц видно, что разные режимы освещения отличаются друг от друга разным набором спектральных диапазонов оптического излучения. При этом картина распределения ¹³C между фракциями не меняется. Она воспроизводится при разных режимах освещения как с участием, так и с исключением влияющих на изотопный состав углерода спектральных диапазонов

красного и синего света. Это приводит к выводу, что распределение изотопов связано с эволюционно обусловленным фракционированием изотопов углерода в растительной клетке, привязанным к углеродному метаболизму. Отдельные спектральные диапазоны фотосинтетически активной радиации являются частью этой сложной картины и служат для тонкой настройки внутриклеточного метаболизма.

Вышеизложенное позволяет по-новому рассмотреть данные, полученные Лерман и соавт. (Lerman *et al.*, 1974). Еще в 1974 г., авторы, изучая изотопный состав углерода растения *Bryophyllum daigremontianum* Berger, относящегося к САМ-типу, пытались объяснить наблюдаемые в природе колебания изотопного состава его углерода от –28‰, характерного для С₃-растений, до –12‰, характерного для С₄-растений. Авторы связали эти колебания со способностью листьев САМ-растений в ходе развития менять ассимиляцию с С₃-типа на САМ-тип. В результате проведенного ими исследования

Таблица 3. Донорно-акцепторные взаимодействия “лист-соцветие” в растениях горчицы сарептской в фазу бутонизации при разных вариантах световых режимов (опыт с исключением отдельных спектральных диапазонов ФАР). Изотопный состав фракций (δ¹³C) дан в единицах VPDB

Вариант светового режима	Донор (лист)		Акцептор (соцветие)		Время начала бутонизации дни
	водорастворимая фракция биомассы	водонерастворимая фракция биомассы	водорастворимая фракция биомассы	водонерастворимая фракция биомассы	
С+БК+К+ДК (контр.)	-30.96 ± 1.47	-34.73 ± 0.32	-31.09 ± 0.20	-33.22 ± 0.35	24 ± 3
С+БК+ ДК (-К)	-32.26 ± 1.35	-35.50 ± 1.69	-31.92 ± 1.21	-33.85 ± 1.79	25 ± 1
С+БК+К+ (-ДК)	-32.56 ± 0.77	-33.61 ± 0.83	-32.10 ± 0.90	-32.30 ± 0.49	42 ± 6
БК+К+ДК (-С)	-32.26 ± 0.47	-32.10 ± 0.77	-30.03 ± 0.62	-30.57 ± 0.57	37 ± 2
С	-35.20 ± 0.29	-36.99 ± 0.33	-34.18 ± 0.87	-35.40 ± 0.96	45 ± 4

Примечание. С – синий свет; БК – ближний красный; К – красный; ДК – дальний красный. (С+БК+К+ДК) – в контрольном варианте представлен синий и красный всех диапазонов

Таблица 4. Донорно-акцепторные взаимодействия “лист-соцветие” в растениях салата сорта Афицион в фазу бутонизации при разных вариантах световых режимов. Изотопный состав фракций δ¹³C дан в единицах VPDB

№	Вариант светового режима	Донор		Акцептор	
		Растворимый	Нерастворимый	Растворимый	Нерастворимый
1	24 ч С460+К640+К660+ДК730	-31.34 ± 0.7	-34.41 ± 1.5	-30.98 ± 0.5	-32.29 ± 0.6
2	18 ч + 6 ч С ₄₆₀	-31.46 ± 0.5	-34.49 ± 0.9	-31.05 ± 0.4	–

Примечание. Растения салата выращивали на следующих световых режимах: 1 – фотопериод 24 ч, спектральный состав С460+К640+К660+ДК730 (непрерывный свет, высокий уровень облученности); 2 – фотопериод 24 ч, комбинированный: 18 ч С460+К640+К660+ДК730, высокий уровень облученности + 6 ч С460, низкая облученность (условная ночь).

была обнаружена связь изотопного состава углерода листьев *B. daigremontianum* Berger с их возрастом. Суть этой связи можно понять из следующего. Изучаемые растения *B. daigremontianum* обладают парами противоположно направленных листьев, расположенных вдоль стебля. По высоте авторы выделили 5 ярусов. Причем на самом верхнем ярусе расположены наиболее молодые листья, а на самом нижнем ярусе — самые старые. Листья на верхних ярусах (более молодые) были обогащены изотопом ^{12}C относительно листьев на нижних ярусах (более старых). Но особенно интересно оказалось то, что изотопный состав фракций листа отражает те же возрастные изотопные различия, что и сами листья, из которых извлекались фракции. При этом изотопный состав углерода водорастворимой фракции листа всегда проявлял обогащенность изотопом ^{13}C относительно углерода водонерастворимой фракции (величины $\delta^{13}\text{C}$ колебались от -10.5 до -13.5%). Величины $\delta^{13}\text{C}$ водонерастворимой фракции оказались в пределах от -19.0 до -16.5% . То есть картина распределения ^{13}C вполне укладывалась в рамки представления о двух изотопно различающихся фондах субстратов, возникающих при фотосинтезе.

С точки зрения рассматриваемой модели, изотопные различия листьев на разных ярусах объясняются тем, что образование новых молодых листьев связано как с участием ассимиляционного фонда, так и с притоком ассимилятов из более старых листьев, т. е. с участием фотодыхательного фонда. Последовательное обогащение изотопом ^{12}C более молодых листьев означает, что приток углерода из изотопнотяжелого фотодыхательного фонда более старых листьев нижнего яруса на верхний ярус с более молодыми листьями становится меньше, т. е. обусловлено различиями в возрасте листьев.

Полученная авторами (Lerman *et al.*, 1974) картина наблюдаемых изотопных различий рассматриваемых фракций при описании связи изотопного состава углерода биомассы с возрастом листа согласуется с описанной нами ранее картиной распределения изотопа ^{13}C при транспорте ассимилятов при бутонизации. Химический состав фракций тоже в целом согласуется с распределением в них растворимых и нерастворимых компонентов, который предполагался из анализа литературных данных.

Действительно, Лернер и соавт. (Lerman *et al.*, 1974) прямым изучением химического состава установили, что водонерастворимая фракция листа состоит в основном из крахмала и гемицеллюлозы с небольшой примесью протеинов. При этом крахмал оказался устойчиво (приблизительно на 2%) «тяжелее» гемицеллюлозы, что свидетельствует о постфотосинтетическом фракционировании изотопов углерода на путях синтеза гемицеллюлозы и крахмала.

Водорастворимая фракция состоит, в основном, из малата, других органических кислот, а также из небольшого количества растворимых сахаров и других метаболитов. При этом реальное различие фракций составило от 2 до 8% . Разброс значений $\delta^{13}\text{C}$, по крайней мере, частично обусловлен разницей в возрасте листьев, из которых извлекались фракции.

Важно отметить, что, углерод ассимилирующих органов (листа) (Lerman *et al.*, 1974) имел более низкие значения $\delta^{13}\text{C}$, чем углерод гетеротрофных органов (семена и коробочка). Работа Саранга с соавт. (Saranga *et al.*, 1999), в которой изучалась связь изотопного состава углерода органов и фракций биомассы хлопчатника (*Gossypium hirsutum* L.) в ходе онтогенеза, дает еще одно подтверждение сказанному. Авторы подтвердили, что автотрофные органы (лист и стебель) характеризуются более низкими значениями $\delta^{13}\text{C}$, по сравнению с гетеротрофными (коробочка и стебель). Они также установили, что низкие значения $\delta^{13}\text{C}$ в листьях сохранялись на стадиях пика цветения и развития коробочек и значительно увеличивались на стадии созревания коробочек, что косвенно указывало на связь изотопного состава с транспортом ассимилятов.

Универсальный характер сделанных представлений подтверждается результатами работы Монти с соавт. (Monti *et al.*, 2006), которые изучали столь распространенную культуру как сахарная свекла (*Beta vulgaris* L.). Работы проводились в течение 3 лет, 2000–2002 гг., с целью изучения изменений рассматриваемых изотопных характеристик в зависимости от фазы роста и водного режима. Результаты показали, что распределение изотопа ^{13}C может заметно меняться с течением времени и между органами. Подтверждены значительные изотопные различия между ассимилирующими и гетеротрофными органами. Листья имели самые высокие значения обогащения ^{12}C (в среднем -21.2%) относительно ассимилируемого CO_2 , а корень — самые низкие (-18.8%). Кроме того, корень показал относительно низкую дисперсию $\delta^{13}\text{C}$, на которую слабо влияют водный режим и время.

В заключение упомянем факторы, которые сильно влияют на распределение изотопа ^{13}C между органами и фракциями биомассы. К ним относятся параметры среды, влияющие на стрессоустойчивость растений: влагодоступность, соленость. Однако это большая и важная тема заслуживает отдельного рассмотрения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для анализа донорно-акцепторных взаимодействий в растениях при транспорте ассимилятов использованы изотопные различия углерода водорастворимой и водонерастворимой фракций

биомассы. Физический смысл этого параметра установлен на основании предложенной ранее концепции фракционирования изотопов углерода в фотосинтезирующей клетке и вытекает из осцилляционного характера фотосинтеза, приводящего к образованию двух изотопноразличающихся углеродных фондов при ассимиляции CO_2 — ассимиляционного и фотодыхательного. Первый обогащен изотопом ^{12}C , второй — ^{13}C .

Показано, что этот параметр мало зависит от режима освещения и от спектральных диапазонов ФАР, используемых при освещении, и является эволюционно обусловленным. Углерод водорастворимой фракции весьма близок по изотопному составу к углероду флоэмы и заметно обогащен изотопом ^{13}C относительно водонерастворимой фракции, что позволяет использовать его как маркер при изучении транспорта ассимилятов в растениях.

Наблюдаемая обогащенность изотопом ^{13}C углерода флоэмы позволяет предположить, что в период бутонизации, формирования плода активируется фотодыхание и основная часть ассимилируемого углерода идет на образование фотодыхательного фонда.

Показано, что причиной обогащенности автотрофных органов и тканей изотопом ^{12}C относительно углерода гетеротрофных частей растения является преимущественное участие в их образовании изотопнолегкого ассимиляционного фонда, тогда как в формировании гетеротрофных органов принимает участие изотопно тяжелый фотодыхательный фонд.

Другим проявлением образования двух изотопноразличающихся фондов является обнаруженная связь изотопного состава углерода листьев с их возрастом.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения № 075-15-2022-317 от 20 апреля 2022 г. о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Биогенез природных соединений /Под ред. Гиномана Л. М. М.: Мир 1965. 712 с.
- Ивлев А. А.* О потоках «легкого» и «тяжелого» углерода при сопряжении фотосинтеза и фотодыхания. // 1993. Физиология растений. Т. 40. С. 872–880.
- Ивлев А. А.* Изотопное фракционирование и клеточные механизмы углеродного метаболизма в фотосинтезирующей клетке. М.: РГАУ — МСХА. 2009. 74 с.
- Ивлев А. А., Тараканов И. Г.* Интерпретация суточных вариаций изотопных характеристик углерода растений в рамках осцилляционной концепции фотосинтеза на примере клещевины (*Ricinus communis* L.). // Известия ТСХА. 2013. Вып. 1. С. 36–46.
<https://doi.org/10.1134/S1062359023601726>
- Ивлев А. А., Товстыко, Д. А., М. П. Ломакин, А. С. Шмаков, Н. Н. Слепцов, В. А. Литвинский, Н. М. Пржевальский, И. Г. Тараканов.* О влиянии длин волн разных диапазонов фотосинтетически активной радиации на изотопный состав углерода биомассы растений и ее фракций (на примере салата (*lactuca sativa* L.) сорта Афицион) // Изв. РАН. Серия биол. 2023, № 5. С. 1–8.
<https://doi.org/10.0.124.113/S1026347022600534>
- Калинкина Л. Г., Удельнова Т. М.* Влияние фотодыхания на фракционирование стабильных изотопов углерода у морской хлореллы // Физиология растений. 1990. Т. 37. С. 96–104.
- Калинкина Л. Г., Удельнова Т. М.* Механизм вовлечения гликолатного пути в накопление свободного пролина у морской водоросли в условиях засоления // 1991. Физиология растений. Т. 38. С. 948–958.
- Калинкина Л. Г., Русинов Н. Г.* Влияние NaCl на оксигеназную активность рибулозодифосфаткарбоксилазы, на активность гликолатдегидрогеназы и выделение гликолевой кислоты // Физиология растений. 1981. Т. 28. С. 5–13.
- Курсанов А. А.* Транспорт ассимилятов в растении. М.: Наука. 1976. 644 с.
- Чиков В. И.* Фотодыхание // Соросовский образовательный журнал 1996. № 11. С. 2–8.
- Эдвардс Дж., Уокер Д.* Фотосинтез C_3 и C_4 — растений: механизмы и регуляция. М.: Мир. 1986. 589 с.
- Badeck Franz-W., Tcherkez G., Nogue S. Clement P., Ghashghaie J.* Post-photosynthetic fractionation of stable carbon isotopes between plant organs — a widespread phenomenon // Rapid Commun. Mass Spectrom. 2005. V. 19. С. 1381–1391.
<https://doi.org/10.1002/rcm.1912>
- Batheller C., Badeck F.-W., Couzi Ph., Harscoet S., Mauve C.* Divergence in $\delta^{13}\text{C}$ 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.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02246.x>

- Craig H.* Carbon-13 in plants and relationships between carbon-13 and carbon-14 variations in nature // *J. Geology*. 1954. V. 62. № 2. P. 53–92.
- 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 ¹³C enriched compared with leaves in C3 plants? Review and synthesis of current hypotheses // *Funct. Plant Biol.* 2009. V. 36. P. 199–213. <https://doi.org/10.1071/FP08216>
- Cernusak L. A., Arthur D. J., Pate J. S. & Farquhar G. D.* Water relations link carbon and oxygen isotope discrimination to phloem sap sugar concentration in *Eucalyptus globulus* // *Plant Physiology*. 2003. V. 131. P. 1544–1554. <https://doi.org/10.1104/pp.102.016303>
- Chen X. L., Yang Q. C., Song W. P., Wan, L. C., Guo W. Z., Xue X. Z.* Growth and nutritional properties of lettuce affected by different alternating intervals of red and blue LED irradiation. // *Sci. Hortic.* 2017. V. 223. P. 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.04.037>
- Dubinsky A. Yu., Ivlev A. A.* Computational analysis of the possibility of the oscillatory dynamics in the processes of CO₂ assimilation and photorespiration // *Biosystems*. 2011. V. 103. P. 285–290. <https://doi.org/10.1016/j.biosystems.2010.11.003>
- Dubinsky A. Yu., Ivlev A. A., Igamberdiev A. U.* Theoretical Analysis of the Possibility of Existence of Oscillations in Photosynthesis // *Biophysics*. 2010. V. 55. № 1. P. 55–58. <https://doi.org/10.1134/S0006350910010094>
- Gessler A., Keitel C., Kodama N., Weston Ch, Winters A. J., Keith H., Grice K., Leuning R., Farquhar G. D.* δ¹³C of organic matter transported from the leaves to the roots in *Eucalyptus delegatensis*: short-term variations and relation to respired CO₂ // *Funct. Plant Biology*. 2007. V. 34. P. 692–706. <https://doi.org/10.1071/FP07064>
- 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. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2008.01806.x>
- 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. Najafpour M. M. Intech Publishers. Croatia. 2012. P. 341–366. <https://doi.org/10.5772/26219>
- Lerman J. C., Deleens E., A. Nato, A. Moyses.* Variations in the Carbon isotope Composition of a Plant with Crassulacean Acid Metabolism // *Plant Physiology*. 1974. V. 53. P. 581–584. <https://doi.org/10.1104/pp.53.4.581>
- Lanoue J., Leonardos E. D., Grodzinski B.* Effects of light quality and intensity on diurnal patterns and rates of photo-assimilate translocation and transpiration in tomato leaves. *Front. Plant Sci.* 2018. V. 9. P. 756–762. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00756>
- Monti A., Amaducci M. T., Pritoni G., Venturi G.* Variation in carbon isotope discrimination during growth and at different organs in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) // *Field Crops Research*. 2006. V. 98. Iss. 2.3. P. 157–163. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2006.01.002>
- Murthy B. F., Nier A. O.* Variations in the relative abundances in the carbon isotopes // *Phys. Rev.* 1941. V. 59. P. 771–772. <https://doi.org/10.1021/ja01872a047>
- Saranga Y., Flash I., Pateresson A. H., Yakir D.* Carbon isotope ratio in cotton varies with growth stage and plant organ // *Plant Science*. 1999. V. 142. P. 47–56. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(99\)00004-7](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00004-7)
- Shimazaki K., Doi M., Assmann S. M., Kinoshita T.* Light regulation of stomatal movement // *Annu. Rev. Plant Biol.* 2007. V. 58. P. 219–247. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105434>
- Son K. H., Oh M. M.* Leaf shape, growth, and antioxidant phenolic compounds of two lettuce cultivars grown under various combinations of blue and red light-emitting diodes // *Hort. Sci.* 2013. V. 48. P. 988–995. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.48.8.988>
- Tarakanov I. G., Tovstyko D. A., Lomakin M. P., Shmakov A. S., Sleptsov N. N., Shmarev A. N., Litvinskiy V. A., Ivlev A. A.* Effects of light spectral quality on the photosynthetic activity, biomass production, and carbon isotope fractionation in lettuce plants // *Plants*. 2022. V. 11. P. 441. <https://doi.org/10.3390/plants11030441>
- Wickman F. E.* Variations in the relative abundance of carbon isotope in plants // *Geochim. et Cosm. Acta.* 1952. V. 2. P. 243–254. <https://doi.org/10.1038/1691051a0>

**On the use of isotopic differences of carbon fractions of biomass
in plants to study transport flows
and source-sink relations under different light conditions**

© 2024 A. A. Ivlev*,[@], V. A. Litvinsky**, N. M. Przewalsky***, D. A. Tovstyko***,
A. S. Shmakov***, M. P. Lomakin***, N. N. Sleptsov***, I. G. Tarakanov***

*All-Russian Scientific Research Geological Petroleum Institute (VNIGNI), Moscow. April branch.
Aprelevka, 1st St. Ketritsa, Moscow region, 143360 Russia

**A. A. Borisyak Paleontological Institute of the Russian Academy of Sciences, Profsoyuznaya Street,
Moscow, 117647 Russia

***Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy,
Timiryazevskaya str., 49, Moscow, 127434 Russia

[@]E-mail: aa.ivlev@list.ru

It is shown that the differences in the isotopic composition of carbon in the water-soluble and water-insoluble fractions of plant leaf biomass, as well as phloem, are evolutionarily determined. They associated with metabolic reactions during assimilation and photorespiration and do not depend on the illumination mode and on the spectral ranges of headlights used in illumination. The above isotopic shifts are the cause of isotopic differences in assimilatory and photorespiratory carbon stocks that feed various metabolic processes. Due to the strict temporal and spatial organization of metabolism, carbon fluxes from the funds retain isotopic differences without complete mixing. The differences in the isotopic composition of carbon of the water-soluble fraction of biomass and carbon of phloem juice from carbon of the water-insoluble fraction are small (1–3%), but they are quite stable and easily fixed. The carbon of the water-soluble fraction is very close in isotopic composition to the carbon of the phloem and is noticeably enriched with the isotope ^{13}C relative to the water-insoluble fraction, which makes it possible to use it as a marker in the study of assimilate transport in plants, especially during budding and fruiting. It is shown that the reason for the enrichment of autotrophic organs and tissues with isotope ^{12}C relative to carbon of heterotrophic parts of the plant is the predominant participation in their formation of an isotopically light assimilation fund, whereas an isotopically heavy photorespiratory fund takes part in the formation of heterotrophic organs. It is shown that the manifestation of the formation of two isotopically different funds is the discovered relationship of the carbon isotope composition of leaves with their age.

Keywords: photosynthesis, fractionation of carbon isotopes, assimilation and photorespiratory funds, transport flows, source-sink relationships, light regimes, spectral composition of light, water-soluble and water-insoluble fractions of biomass.