

ОГЛЯДИ

УДК 577.1:581.1

ЭВОЛЮЦИОННЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ МЕХАНИЗМОВ КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ CO₂ ФОТОАВТОТРОФОВ

© 2018 г. В. В. Иванищев

*Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого»
(Тула, Россия)*

В течение двух последних десятилетий накопились сведения о существовании новых экологических групп растений, обладающих особенностями, связанными с топографией органелл внутри клетки и биохимическими механизмами фотосинтеза. Эти черты обуславливают их способности к адаптации к неблагоприятным условиям и более эффективные характеристики фотосинтетической ассимиляции неорганического углерода по сравнению с теми, которые наблюдаются у наиболее распространенных C₃-растений. Обзор посвящен анализу механизмов концентрирования CO₂, обнаруженных у фотоавтотрофов. Показано, что для их реализации важны как особенности анатомического строения листа либо топографии органелл в клетке, так и биохимические механизмы, обеспечивающие включение углекислого газа в органические соединения. Отмечено разнообразие структурных и функциональных компонентов для создания механизмов концентрирования CO₂. Кроме того, рассмотрены экспериментальные данные о возможных путях эволюции фотосинтетической ассимиляции CO₂. Подчеркнуто, что излишне механистические представления об улучшении C₃-растений не должны противоречить главному биологическому закону, согласно которому фенотип особи определяется взаимодействием генотипа и условий среды, в которых он реализуется. Рассмотрены открывающиеся перспективы управления фотосинтетическим процессом и его эффективностью с целью создания более продуктивных форм растений.

Ключевые слова: *фотосинтез, механизмы концентрирования CO₂, высшие растения, эволюционные аспекты, улучшение фотосинтеза C₃-растений*

Фотосинтез относится к наиболее изученным процессам, которые характерны для живых систем царства растений. Известное деление растений на группы, обладающие C₃- и C₄-типами фотосинтетической ассимиляции CO₂, а также открытие «промежуточных» C₃-C₄-растений (Monson, Rawsthorne, 2000) за последние два десятка лет пополнилось сведениями о существовании представителей иных экологических групп. Они обладали физиолого-биохимическими особенностями, связанными не с вариациями в анатомии листа, а с топогра-

фией органелл внутри клетки и биохимическими механизмами, обеспечивающими включение углекислого газа в органические соединения (Voznesenskaya et al., 2002). Оказалось, что эти черты обуславливают также более эффективные характеристики фотосинтетической ассимиляции неорганического углерода, чем у наиболее распространенных на нашей планете C₃-растений. Более того, особенности топографии органелл в клетке позволяют таким растениям выживать на засоленных почвах в условиях высокой инсоляции и засушливого климата.

Другие аспекты фотосинтеза касаются особенностей его протекания у представителей растительного царства разных таксономических групп (Raven, Beardall, 2003; Roberts et al., 2007; Meyer, Griffiths, 2013). При этом фермен-

Адрес для корреспонденции: Иванищев Виктор Васильевич, Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого, пр. Ленина, 125, Тула, 300026, Россия;
e-mail: avdey_VV@mail.ru

ты цикла Кальвина у них и, главным образом, Рубиско (D-рибулозо-1,5-бисфосфат-карбоксилаза-оксигеназа, КФ 4.1.1.39), первый фермент цепи реакций, образуют своеобразные структуры – пиреноиды или карбоксисомы, которые позволяют снижать потери CO_2 на иной основе, не связанной с анатомией листа или топографией органелл в клетке. В результате эффективность фотосинтеза также возрастает.

Более того, даже у ряда традиционных C_3 -растений – арабидопсиса, риса, табака – в последние годы были обнаружены биохимические особенности процессов преобразования неорганического углерода в органику в некоторых частях листа – черешках и средних жилках листовой пластинки (Shen et al., 2016).

В целом накопленные результаты о существовании разнообразных механизмов концентрирования CO_2 в связи с биологической продуктивностью способствуют развитию представлений о возможности улучшения фотосинтеза C_3 -растений, которые составляют большинство важнейших сельскохозяйственных культур, а также развитию иных биотехнологических приложений знаний человечества в области фотосинтеза.

Цель настоящего обзора – обобщить новые данные в области изучения механизмов концентрирования CO_2 у растений и рассмотреть открывающиеся перспективы по управлению фотосинтетическим процессом и его эффективностью с целью создания более продуктивных форм растений.

Механизмы концентрирования CO_2 у растений

Обнаружение механизмов концентрирования CO_2 у высших растений. Исследование многообразия представителей растительного царства и особенностей проявления фотосинтетического процесса у них существенно расширило знания о механизмах первичной фотосинтетической ассимиляции углекислого газа.

Развитие подобных изысканий проходит на фоне известных представлений о низкой (для большинства растений) концентрации углекислого газа в атмосфере нашей планеты. Открытие C_4 -растений обнаружило созданный природой механизм концентрирования CO_2 , позволяющий растениям этой группы в силу их особых морфологических и физиолого-биохимических характеристик обладать большей устойчивостью к некоторым факторам среды, более экономно расходовать воду и иметь большую продуктивность (Gowik, Westholl, 2011; Lundgren et al., 2014) (рис. 1).

Развитие этой темы и обнаружение растений с C_3 - C_4 -промежуточным типом (точнее C_3 -растений, у которых наблюдаются характеристики фотосинтетического процесса, похожие на те, которыми обладают C_4 -растения) привело к формулированию идеи о возможности создания C_3 -растений с улучшенными показателями фотосинтеза и продуктивности (Иванищев, 2011; Магомедов, 2015).

Биохимические механизмы C_4 -фотосинтеза у высших растений. Растения с C_4 -фотосинтетическим путем ассимиляции неорганического углерода представлены тремя основными разновидностями, которые характеризуются биохимическими особенностями использования первого стабильного продукта – четырехуглеродного соединения (малата и/или аспартата) в качестве источника CO_2 для Рубиско. Эти формы растений обозначают как НАДФ-малик-энзимная, НАД-малик-энзимная и ФЕП(фосфоенолпируват)-карбоксикиназная – по названию ключевого фермента, декарбоксилирующая активность которого обеспечивает неорганическим углеродом (CO_2) Рубиско в цикле Кальвина (Edwards, Walker, 1983; Monson, Rawsthorne, 2000). Исследование разнообразия трав привело к обнаружению 14 разновидностей анатомо-биохимических комбинаций C_4 -типа фотосинтеза (Muhaidat et al., 2007). Они различаются по многим анатомо-морфологическим и физиологическим характеристикам, включая размеры клеток мезофилла и клеток обкладки сосудистых пучков, общие объемы, занимаемые клетками разного типа, особенности локализации хлоропластов в клетках, особенности гранальной структуры хлоропластов и т.д. Такие изменения сопровождаются соответствующими биохимическими вариациями в распределении по клеткам ключевых ферментов и их активности.

В отличие от этих трав, у двудольных обнаружены только два типа растений, у которых роль декарбоксилирующего фермента отведена НАДФ-малик-энзиму или НАД-малик-энзиму. ФЕП-карбоксикиназа у некоторых двудольных обеспечивает реакции вторичных путей метаболизма углеводов (Sage, 2004). Следует также отметить, что анатомо-морфологические и физиолого-биохимические черты таких растений обусловлены особенностями экологических условий их роста и развития, которые существенно влияют на эти показатели. Ярким примером служит обнаружение пяти разновидностей Кранц-анатомии листа у C_4 -представителей семейства *Chenopodiaceae*.

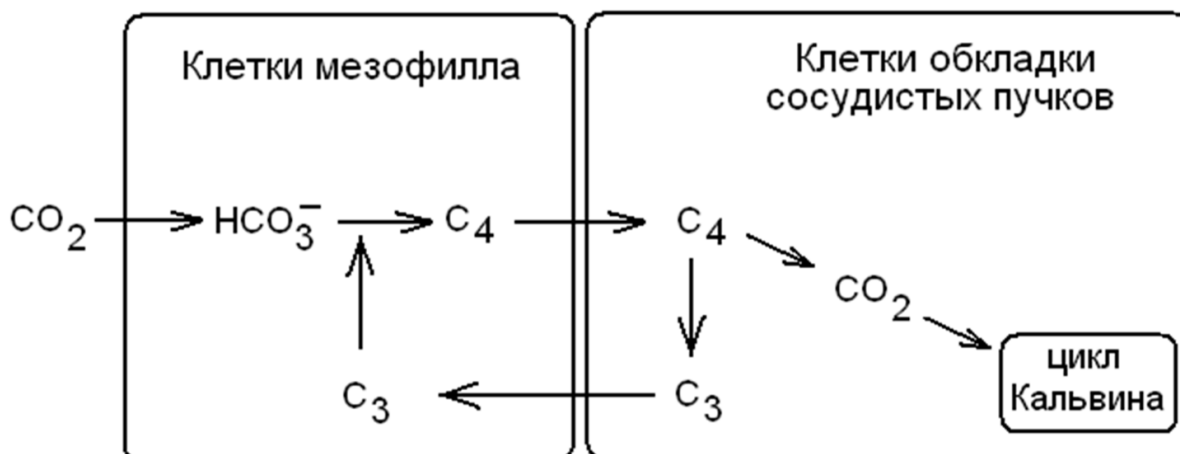


Рис. 1. Принципиальная схема C₄-фотосинтеза.

Показаны два типа клеток, между которыми пространственно разделены ассимиляция неорганического углерода и его включение в продукты цикла Кальвина.

Исследование биохимических характеристик двудольных C₄-растений показало, что в целом описанные параметры были сходными с теми, которые являются обычными для других C₄-видов. В то же время не вполне ясно, для чего в листьях одного растения часто присутствуют сразу два декарбоксилирующих фермента (НАД-малик-энзим + ФЕП-карбоксикиназа или НАДФ-малик-энзим + ФЕП-карбоксикиназа). Полагают, что это может быть важно для синтеза ФЕП (используемого в шикиматном пути), либо связано с экономией АТФ для обеспечения других процессов и т.п. (Muhaidat et al., 2007).

Особенности фотосинтеза «промежуточных» C₃-C₄-растений. Кроме основных двух групп растений (C₃- и C₄-типа) несколько позже были обнаружены так называемые C₃-C₄-промежуточные растения (Edwards, Walker, 1983). Среди характерных черт этой группы (C₃-C₄-интермедиатов) можно отметить особые показатели газообмена листьев, которые проявляются, например, в низкой величине CO₂ компенсационной точки, ее нелинейной зависимости от концентрации кислорода в среде. Такие свойства во многом определяются иной компартиментализацией процесса фотодыхания и его более низкой величиной без существенного изменения пути ассимиляции неорганического углерода в целом (Monson, Rawsthorne, 2000).

Такие свойства отчасти обеспечиваются несколько иной анатомией листьев, для которой характерно более рыхлое расположение клеток мезофилла, чем у традиционных C₄-растений. В то же время число органелл у них больше, чем у C₃-растений, причем в клетке

они локализованы ближе к центру. Количество митохондрий и пероксисом примерно в четыре раза больше, чем в клетках мезофилла, а митохондрии – вдвое крупнее (Monson, Rawsthorne, 2000). Имеются и иные характеристики, которые в целом обеспечивают более активные биохимические процессы и быстрый обмен метаболитами.

Особенности биохимических превращений состоят также в том, что ключевая роль отведена ферменту глицин-декарбоксилазе, благодаря которой один из конечных продуктов фотодыхания – глицин – становится источником внутриклеточного CO₂ для Рубиско. Подобная особенность локализации органелл позволяют таким растениям снизить потери углекислого газа в ходе фотодыхания примерно в 1,5 раза (Hunt et al., 1987). Все это объясняет повышенную эффективность фотосинтетической ассимиляции CO₂, особенно при повышенной температуре, в использовании воды и др., что успешно описывается с помощью математической модели (von Caemmerer, 1989).

С другой стороны, у таких растений нет типичного распределения ключевых ферментов (ФЕП-карбоксилазы и Рубиско) по разным клеткам, в результате чего ключевые ферменты C₄-обмена (ФЕП-карбоксилаза, НАДФ-малат-дегидрогеназа, НАДФ-малик-энзим, пируват-ортофосфат-дикиназа) работают неэффективно. При этом их активность также невелика. Изучение распределения радиоактивной метки в продуктах фотосинтетической ассимиляции ¹⁴CO₂ показало, что большая его часть оказывается в составе глицина, серина и особенно фумарата (Monson, Rawsthorne, 2000). По этой

причине преимущества некоторых C_3 - C_4 -растений связаны, главным образом, с активным обменом и утилизацией глицина.

C₄-фотосинтез без Кранц-анатомии листа. Показано, что для C_4 -фотосинтеза Кранц-анатомия листа предполагает наличие барьера (мембраны, клеточной стенки) между клетками обкладки и мезофилла, который препятствует потерям CO_2 , образуемого при декарбоксилировании малата или оксалоацетата (Иванищев, 1992; Sage, 2002), хотя не все исследователи согласны с такой точкой зрения (Voznesenskaya et al., 2002). Поэтому, несколько неожиданным оказалось обнаружение в Центральной Азии растений, листья которых обладают фотосинтезом, очень сходным по характеристикам с традиционным C_4 -типом. Однако обязательное наличие Кранц-анатомии в структурной организации листа для них оказалось не характерным. Было показано также, что аналогичные механизмы встречаются у водных растений, где препятствием для потерь CO_2 служит окружающее растение водное пространство (Meurer, Griffiths, 2013).

Таковыми растениями оказались представители семейства *Chenopodiaceae*, которое включает более, чем 1300 видов. Многие из них обладают устойчивостью к засухе и засолению. Биохимия фотосинтеза похожа на C_4 -тип, но в то же время листья таких растений не имеют типичной Кранц-анатомии (Voznesenskaya et al., 2002; Lara et al., 2006; Lara, Andreo, 2016). Среди них можно отметить, например, *Bienertia cycloptera*, *B. sinuspersici*, *Suaeda aralocaspica* и др. Несмотря на то, что они растут в похожих условиях засоления и (или) нехватки воды, их размеры значительно отличаются друг от друга. Так, высота *B. cycloptera* и *Suaeda aralocaspica* составляет всего 20-50 см, в то время как растения *B. sinuspersici* могут достигать 130-160 см.

Характерной особенностью представителей подобных видов является особая топография органелл внутри фотосинтезирующей клетки листа. Например, в клетках *S. aralocaspica* различают дистальную и проксимальную части. В дистальной части находятся агранальные хлоропласты, в которых не синтезируется крахмал из-за отсутствия ферментов цикла Кальвина, но обнаружен фермент пируват-ортофосфат-дикиназа, который катализирует синтез ФЕП. Благодаря этому в данной части клетки происходит связывание CO_2 при участии ФЕП-карбоксилазы с образованием C_4 -продукта. В проксимальной части клетки рас-

положены хлоропласты, в которых функционирует цикл Кальвина и малик-энзим. В результате малик-энзиму принадлежит важная функция в обеспечении Рубиско неорганическим углеродом за счет реакции декарбоксилирования малата.

В клетках видов рода *Bienertia* обнаружены иные особенности для реализации C_4 -подобного фотосинтеза. Там различают два компартмента: центральный и периферический. В периферической части находятся хлоропласты с малым количеством гран, почти нет митохондрий, но присутствуют ключевые ферменты C_4 -пути – пируват-ортофосфат-дикиназа и ФЕП-карбоксилаза, необходимые для синтеза ФЕП и связывания углекислого газа, соответственно. При этом в центральной части клетки расположены митохондрии, а также хлоропласты с развитой гранальной структурой, большим количеством Рубиско и другими ферментами цикла Кальвина, которые фактически и обеспечивают продукционный процесс этих растений (Voznesenskaya et al., 2002; Lara, Andreo, 2016). Дополнительные особенности состоят в том, что центральный компартмент окружен вакуолями (вакуолями), что позволяет избежать потерь неорганического углерода, выделяемого в реакции декарбоксилирования малата. При этом соотношение активностей ферментов, важных для реализации C_3 - и C_4 -путей, все-таки несколько иное, чем у классических C_4 -видов (Sage, 2002).

Использование такого чувствительного метода как иммуоблот-анализ позволило обнаружить ферменты C_4 -пути в стеблях и черешках листьев табака (Hibberd, Quick, 2002), а также в средних жилках листьев арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana* L.) (Brown et al., 2010). Несколько позже аналогичное открытие было сделано для представителей однодольных. Оказалось, что в клетках, расположенных вокруг центральной жилки проводящего пучка листа риса (типичного C_3 -растения), присутствуют ферменты C_4 -пути фотосинтеза (Shen et al., 2016). Использование метода иммуоблот-анализа не позволяют усомниться в результатах исследования. При этом показано, что в клетках этой части листьев активность Рубиско была примерно вдвое ниже, чем в других частях листовой пластинки. Активность ФЕП-карбоксилазы оказалась выше примерно на 30%. В то же время активность каждого из декарбоксилирующих ферментов (НАД- и НАДФ-малик-энзимов, а также ФЕП-карбоксикиназы) в области средней жилки лис-

та была в шесть и более раз выше. Активность еще одного важного фермента – пируват-ортофосфат-дикиназы в 7,5 раза превосходила этот показатель для клеток листовой пластинки.

Такие результаты исследований можно рассматривать как одно из доказательств существования природных путей эволюции и становления C_4 -фотосинтеза. В то же время открываются новые перспективы для возможности «индукции» C_4 -пути фотосинтеза у традиционных C_3 -растений, дискуссии о которой идут примерно с середины 70-х годов прошлого столетия (Иванищев, 2011; Магомедов, 2015) и активизируются в последние годы (Price et al., 2011; 2013). При этом разные авторы придают особое значение разным составляющим фотосинтетического процесса. Так, одни исследователи обращают больше внимания на особенности работы пигментной системы хлоропластов, что важно для энергетического обеспечения этого физиологического процесса (Shen et al., 2016). Другие – сосредотачивают внимание на свойствах ключевых ферментов, например, ФЕП-карбоксилазы (Lara et al., 2006).

C_4 -фотосинтез в свете эволюции

Проведенные исследования позволяют ряду авторов говорить о том, что в ходе эволюции появление растений, обладающих C_4 -типом фотосинтеза, могло происходить много раз, причем независимыми путями, т.е. говорят о полифилетическом происхождении C_4 -синдрома. Основанием для этого служат результаты обнаружения примерно 4600 видов трав и 1600 видов осок (представителей однодольных) и примерно такого же количества двудольных растений с этим синдромом (Gowik, Westholl, 2011; Lundgren et al., 2014). При этом ряд исследователей считает, что важными шагами эволюционных изменений явилось появление Кранц-анатомии листа, создание CO_2 -помпы для концентрирования углекислого газа, изменения в локализации и формировании полноценного C_4 -цикла, что достигалось, по-видимому, изменениями в экспрессии генов с дальнейшей оптимизацией свойств ферментов (Gowik, Westholl, 2011). Эти авторы также обращают внимание на то, что параллельно должны были несколько меняться и пути метаболизма других важных химических элементов, таких как азот и сера, играющих важную роль в жизнеобеспечении растений. Поэтому, длительность становления C_4 -фотосинтеза могла составлять от 20 млн. (у двудольных) до 30 млн. лет (у злаков).

Интересно, что первоначально исследователи в качестве переходных форм рассматривали так называемые C_3 - C_4 -«промежуточные» формы растений. В настоящее время такая позиция существенно изменилась. Это связано с развитием представлений о C_2 -фотосинтезе, при котором значительное внимание уделяется ферменту глицин-декарбоксилазе (Lundgren et al., 2014). Перераспределение активности фермента между разными клетками листа параллельно с активизацией транспорта глицина и тесная связь величины активности фермента с продуктивностью растений привлекли внимание к такому механизму фотосинтетической ассимиляции CO_2 . В то же время показано, что у традиционных «промежуточных» C_3 - C_4 -видов наличие активного переноса глицина из одного типа клеток в другой и его декарбоксилирование там в условиях обычных концентраций углекислого газа вовсе не обеспечивают преимуществ в скорости ассимиляции CO_2 , эффективности использования воды и азота, как это предсказывается теорией (Monson, Rawsthorne, 2000).

Тем не менее, некоторые авторы полагают, что ключевой механизм в появлении C_4 -синдрома состоит в перераспределении между разными клетками именно глицин-декарбоксилазы, активность которой была резко снижена или потеряна в клетках мезофилла. В качестве косвенного доказательства приводятся сведения о том, что активность этого фермента у C_4 -растений присутствует только в клетках обкладки (Monson, Rawsthorne, 2000).

К особым чертам C_3 -растений можно отнести то, что у них многие анатомические характеристики (например, размеры клеток мезофилла и обкладки, толщина листа, расстояние между жилками проводящих пучков) могут меняться независимо друг от друга, в то время как для растений C_4 -типа важна координация подобных изменений (Lundgren et al., 2014).

Таким образом, полифилетическое происхождение C_4 -синдрома стало возможным только благодаря появлению многочисленных характерных черт, что было скоординировано в ходе естественного отбора в меняющихся условиях среды.

Механизмы концентрирования CO_2 у бактерий и водорослей. В свете описываемых механизмов фотосинтетического процесса следует уделить внимание тому, каким образом он реализуется и у одноклеточных автотрофов. Было обнаружено, что у таких организмов тоже существует концентрирующий CO_2 механизм

(КСМ), который реализуется совершенно иным способом, чем у растений. Известно, что цианобактерии и многие эукариотические водоросли способны индуцировать этот механизм разными путями (Meyer, Griffiths, 2013). Во всех случаях КСМ обеспечивается работой нескольких компонентов, включающих переносчик неорганического углерода (как правило, функционирующий благодаря энергии АТФ, НАДФН или ионного градиента), различающиеся по физико-химическим свойствам изоформы карбоангидразы и микрокомпаратмент (некое образование, структуру), который осуществляет доставку углекислого газа к молекулам Рубиско. При этом работа специфических переносчиков состоит в поддержании пула растворимого неорганического углерода в форме бикарбоната-иона. Благодаря наличию карбоангидразы растворимая форма неорганического углерода трансформируется в форму CO_2 , которая и является субстратом Рубиско, а микрокомпаратментная организация белковых молекул этого фермента помогает минимизировать потерю CO_2 .

Показано также, что у цианобактерий молекулы Рубиско участвуют в образовании сразу нескольких капсид-подобных карбоксисом (специальных образований). У эукариотических водорослей Рубиско часто (но не всегда) образует единственную или несколько аналогичных своеобразных структур – пиреноидов (Raven, Beardall, 2003). Современные молекулярно-биологические исследования в этой области состоят в идентификации отдельных белков, участвующих в образовании отмеченных выше каналов для переноса неорганического углерода, в установлении особенностей структуры и свойств карбоангидраз для этого процесса, а также в выявлении белковых факторов, регулирующих работу КСМ.

Структурные характеристики пиреноида определяются тем, что это – электронно-плотная, полукристаллическая белковая структура, присутствующая в хлоропластах многих, если не всех, эукариотических водорослей (Meyer, Griffiths, 2013). Подобные структуры также обнаружены у единственной группы прикрепленных к субстрату водных растений – роголистника (*Ceratophyllum*), хотя это растение – не вполне обычное, так как не имеет корней. Их заменяют ризоидные ветви, с помощью которых оно удерживается в донных отложениях водоемов. У этих растений пиреноид более чем на 90% состоит из молекул фермента Рубиско. Именно эта микрокомпаратментная струк-

тура является местом своеобразного концентрирования и фиксации неорганического углерода.

В то же время показано, что у представителя одноклеточных водорослей *Chlamydomonas* на долю Рубиско приходится только 5% общего белка, а у цианобактерий и других водорослей содержание главного фермента цикла Кальвина редко превышает 10%. Эти величины примерно в пять раз меньше, чем содержание Рубиско в фотосинтезирующих тканях высших C_3 -растений (Evans, 1989; Raven, 1991; Meyer, Griffiths, 2013). Среди иных белков, непосредственно участвующих в образовании пиреноида, обнаружен фермент Рубиско-активаза, компоненты фотосистемы I и др., что может указывать на их связь с образованием АТФ за счет циклического транспорта электронов. Здесь вновь следует указать на традиционную интерпретацию взаимосвязи между разными видами переноса электронов и синтезом АТФ, которые разделены во времени и в пространстве, о чем говорилось в недавней работе (Иванищев, 2017б).

Сравнение фотосинтетических характеристик одноклеточных эукариот и растений представляет интерес и с точки зрения генетики. Показано, что гены, характерные для обеспечения C_4 -фотосинтеза, обнаружены не только у известных высших растений, но и у многих, например, диатомовых водорослей. При этом только у одной из них – *Thalassiosira* проявляются характеристики промежуточного C_3 - C_4 -типа пути фотосинтеза (Roberts et al., 2007).

Таким образом, у представителей царства растений обнаружены различные варианты механизмов концентрирования CO_2 , что позволяет им выживать в разнообразных экологических условиях, сопряженных с низкой концентрацией углекислого газа в атмосфере или водной среде.

Перспективы создания модифицированных C_3 -растений и управления их продуктивностью

Обнаружение растений с C_4 -типом фотосинтеза, обеспечивающим им преимущества в биологической продуктивности на фоне более высокой устойчивости к повышенной температуре и более экономного расхода воды, а также выявление C_3 - C_4 -интермедиатов способствовало развитию представлений о возможности придания классическим C_3 -растениям некоторых положительных свойств C_4 -растений посредством генетических манипуляций (Насыров, 1982; Магомедов, 2015). Однако несколько по-

же была показана возможность работы подобного механизма только при участии оксалоацетат-декарбоксилазы, которая была обнаружена и охарактеризована у C_3 -растений (Абдуллаев и др., 1989; Иванищев, 1997).

В настоящее время мы наблюдаем возрождение надежд в этом аспекте в связи с существенно расширившимися знаниями и возможностями манипуляций на уровне отдельных генов (Price et al., 2011; 2013). Среди предлагаемых путей подобных модификаций можно отметить, например, пути обхода фотодыхания (его «перевод» в C_2 -фотосинтез), введение элементов C_4 -пути и др. (Meuer, Griffiths, 2013). При этом ряд из них вызывает обоснованные возражения (Иванищев, 2017в), а другие не выдержали экспериментальной проверки. Например, попытки внесения элементов C_4 -пути в такие важные сельскохозяйственные культуры, как рис, посредством введения новых генов должно сопровождаться и изменением структуры листа с двумя типами клеток, как у C_4 -растений, чего не наблюдали в эксперименте (Hibberd, Covshoff, 2010). Интересно, что теоретически с помощью математических выражений такая ситуация была показана еще в работе (Иванищев, 1992).

Особый интерес в этом аспекте вызывает работа группы исследователей, в которой рассмотрен генетический детерминизм эволюции C_3 -растений в C_4 -тип (Lundgren et al., 2014). Главной проблемой, по мнению авторов, является отсутствие фундаментальных знаний о генетических механизмах, которые обеспечивают появление у растений специфической анатомии листа. По этой причине невозможно управлять этим основополагающим признаком при попытке трансформировать важные сельскохозяйственные культуры, многие из которых являются типичными представителями растений с C_3 -типом фотосинтетической ассимиляции CO_2 . Особенности таких генетических механизмов могут состоять в том, что многие черты C_4 -синдрома обусловлены работой многих генов с малым эффектом, которые только в сумме дают наблюдаемую картину анатомии листа и сопутствующих биохимических событий. Такая точка зрения обусловлена тем, что у представителей отдельных семейств и родов переходные формы $C_3 \rightarrow C_3-C_4 \rightarrow C_4$ имеют особые черты и свойства. Поэтому, важно искать подобные формы растений, которые были бы эволюционно наиболее близки к представителям важнейших сельскохозяйственных культур.

В качестве сложности процесса трансформации Gowik и Westhoff указывают на необходимость не только распределить ключевые ферменты ассимиляции неорганического углерода (ФЕП-карбоксилазу и Рубиско) по разным типам клеток, но и оказать влияние на экспрессию их генов. Это связано, например, с тем, что у C_3 -растений количество Рубиско в несколько раз больше, чем у C_4 -растений (Gowik, Westhoff, 2011), а механизмы регуляции активности ферментов, например, ФЕП-карбоксилазы, различны (Lara et al., 2016). В качестве яркого примера другие исследователи приводят данные о том, что у C_4 -растения *Flaveria trinervia* в клетках мезофилла присутствует цис-регуляторный элемент, который обозначают как MESOPHYLL EXPRESSION MODULE1. Такой же генетический элемент обнаружен и в генах растений этого же рода, но обладающих C_3 -типом фотосинтеза. При этом специфичность проявления этого гена у представителей с разным типом фотосинтеза не обнаружена. В то же время небольшая модификация такого элемента кажется достаточной для специфической экспрессии указанного гена у растений C_3 -типа (Akyildiz et al., 2007).

На иную сложность указывают Patel с соавт. (Patel et al., 2006). Они отмечают, что специфическая (для клеток обкладки сосудистых пучков) экспрессия одного из генов, которые кодируют малую субъединицу Рубиско, FbRbcS1, регулируется, в основном, на пост-транскрипционном уровне. При этом результаты исследования предполагают, что стабильность транскриптов этого гена в клетках мезофилла и обкладки различная, что существенно усложняет картину событий.

Кроме того, проблема может оказаться еще более сложной, поскольку имеются иммуно-электронные доказательства того, что ферменты цикла Кальвина (по крайней мере, пять из них) образуют единый полиферментный комплекс (Agarwal et al., 2009), благодаря которому достигается «туннелирование» такого субстрата, как рибозо-5-фосфат. Присутствует ли такой комплекс ферментов у C_4 -растений – неизвестно.

Таким образом, трансформация C_3 -растений в C_4 -тип, во многом, может быть связана с изменением регуляции активности разных генов. При этом следует отметить ключевую роль, которую играют, по-видимому, GOLDEN2-LIKE транскрипционные факторы GLK1 и GLK2, которые являются важными для проявления разных признаков у всех наземных

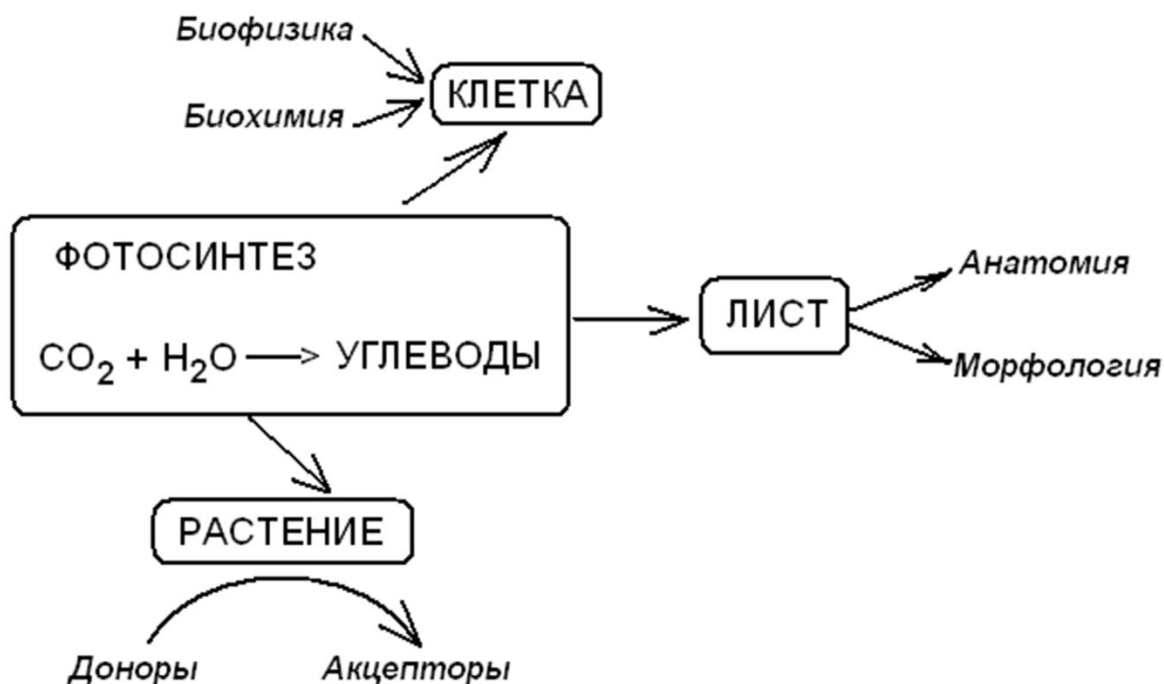


Рис. 2. Принципиальная схема уровней регуляции фотосинтетического процесса (по: Flügge et al., 2016, с изменениями).

растений (Gowik, Westholl, 2011). Показано, что у растений арабидопсиса они контролируют экспрессию более 100 генов, причем многие из них связаны с процессом фотосинтеза. В то же время у кукурузы (C_4 -растения) наблюдали специфичную экспрессию генов этой группы, характерную для клеток обкладки (Waters, Langdale, 2009). Такие результаты дали основание авторам (Gowik, Westholl, 2011) полагать, что эти белки играют важную роль в регуляции генов, обеспечивающих формирование клеток мезофилла и обкладки сосудистых пучков. Дальнейшие пути работы в этом направлении могут быть связаны с оптимизацией количества и свойств многих ферментов.

В связи с этим вполне резонно заключение авторов (Meyer, Griffiths, 2013) о том, что повышение эффективности работы Рубиско у высших растений, скорее всего, возможно через организацию механизма концентрирования CO_2 , подобного тому, который существует у водорослей или цианобактерий. Во всяком случае это не будет требовать изменений такого сложного морфологического признака, как структура листа.

Исходя из выше изложенного, можно заключить, что проблема управления продуктивностью растений с помощью генетических манипуляций на основе представлений об эволюции фотосинтеза, по-видимому, все еще имеет надежду на положительное решение. При этом,

безусловно, должно быть принято во внимание все многообразие накопленных знаний о путях повышения эффективности фотосинтетической ассимиляции CO_2 , реализуемых в природе и не всегда требующих значительных морфологических изменений структуры листа как целого.

Заключение

Фотосинтез – это основной путь, благодаря которому образуется подавляющая масса органических соединений на нашей планете. В недавнем обзоре, посвященном достижениям в исследовании фотосинтеза, отмечалось, что продуктивность растений определяется тремя составляющими. Первый компонент включает клеточные механизмы, где биохимические и биофизические реакции и процессы играют ключевую роль. Второй компонент касается особенностей морфологии и анатомии главного ассимилирующего органа растений – листа. Третий – включает процессы, связанные с взаимоотношениями между листьями как донорами органических соединений (и, в первую очередь, углеводов) и другими органами и тканями растения как акцепторами (Flügge et al., 2016) (рис. 2).

Вне зависимости от описанных уровней (клеточного, органного, организменного) в основе любых физиологических и генетических процессов лежат биохимические механизмы, которые определяются разными скоростями

отдельных реакций. В целом они формируют и конечный результат – биологическую продуктивность растений, повышение которой является главной целью исследований, кроме потенциально возможных биотехнологических приложений. Многообразие фотосинтетических механизмов позволяет, в конечном итоге, завоевывать растениям все возможные экологические ниши. При этом следует помнить, что включение биохимических механизмов – это крайняя мера адаптации, к которой вынужденно прибегают биологические системы для сохранения своей жизнеспособности в тех случаях, когда они не могут по каким-либо причинам покинуть данную территорию (Хочачка, Сомеро, 1977).

У растений это достигается, в первую очередь, приспособлением ассимиляционного аппарата к работе в новых условиях среды, в результате чего мы обнаруживаем в природе несколько основных принципиальных механизмов, обозначаемых нами как C_3 -, C_4 - и др. Поэтому неудивительны факты, свидетельствующие о том, что наличие элементов C_4 -пути фотосинтеза не всегда обеспечивает проявление предсказываемых теорией улучшений показателей фотосинтетического процесса или продуктивности растений в нормальных условиях среды (Monson, Rawsthorne, 2000).

В этом аспекте следует признать, что излишне механистические представления о возможности «улучшения» C_3 -растений (Price et al., 2011; 2013) не должны вводить в заблуждение о простоте подобных манипуляций, несмотря на то, что глубина и обширность наших знаний в этом вопросе значительно выросли за последние годы (Flügge et al., 2016). Эксперименты в этой области неизбежно приводят к созданию трансгенных организмов, когда гены представителя одного биологического вида (пусть даже близкого) оказываются в геноме другого вида. В результате меняется генотип в целом, поскольку в нем появляется новый элемент. Это предполагает, что биологическая система должна выйти на новый (иной) стационарный уровень, где все процессы находятся в определенном равновесии, иначе система будет обладать неустойчивостью и страдать рядом вредных для организма свойств, что часто наблюдается, например, в исследованиях с трансгенными животными.

Касаясь создания трансгенных сельскохозяйственных культур, следует вспомнить непреложный генетический закон, согласно которому организм – это результат взаимодействия

генотипа и среды, в которой он развивается (Иванищев, 2017а). К сожалению, об этом даже биологи часто забывают, особенно, если глубина исследований проблемы кажется вполне достаточной для следующего шага – попыток управления наследственностью и изменчивостью организмов. С этой позиции при возделывании таких растений должна меняться и агротехника, благодаря которой создаются новые условия для нового генотипа. Именно в этом, во многом, лежит и решение проблем воспроизводства семенного материала трансгенных растений, о чем исследователи и производители практически не говорят.

ЛИТЕРАТУРА

- Абдуллаев А., Горенкова Л.Г., Иванищев В.В. 1989. О распределении некоторых ферментов метаболизма C_4 -кислот в хлоропластах ржи. Физиология растений. 36 (4) : 665-668. (Abdullaev A., Gorenkova L.G., Ivanishchev V.V. 1989. Distribution of some enzymes of C_4 -acid metabolism in rye chloroplasts. Soviet Plant Physiol. (Fiziologiya Rastenii). 36 (4) : 538-541.)
- Иванищев В.В. 1992. Об определении эффективности карбоксилирования у растений, обладающих механизмом концентрирования CO_2 . Физиология растений. 39 (3) : 437-444. (Ivanishchev V.V. 1992. Determination of carboxylation efficiency in plants possessing a CO_2 concentrating mechanism. Soviet Plant Physiol. (Fiziologiya Rastenii). 39 (3) : 273-277.)
- Иванищев В.В. 1997. Биологическое значение метаболизма оксалоацетата в хлоропластах C_3 -растений. Физиология растений. 44 (3) : 462-470. (Ivanishchev V.V. Biological role of oxaloacetate metabolism in chloroplasts of C_3 plants. Russ. J. Plant Physiol. (Fiziologiya Rastenii). 44 (3) : 401-408.)
- Иванищев В.В. 2011. Продукционный процесс у растений и его регуляция. Тула : 114 с. (Ivanishchev V.V. 2011. Productsionnyj protsess u rastenii i ego reguljatsiya. Tula : 114 p.)
- Иванищев В.В. 2017а. Основы генетики. Москва : 207 с. (Ivanishchev V.V. 2017. Osnovy genetiki. Moscow : 207 p.)
- Иванищев В.В. 2017б. Проблемы биоэнергетики в свете новых идей в биологии. Изв. Тульского гос. ун-та. Естеств. науки. 1 : 98-109. (Ivanishchev V.V. 2017. Bioenergy issues in the light of new ideas in biology. Izv. Tul'skogo Gos. Univer. Yes-tesvenniye Nauki. 1 : 98-109.)
- Иванищев В.В. 2017в. Проблемы фотосинтетической ассимиляции неорганического углерода высшими растениями. Вестник ГОУ ДПО ТО «ИПК и ППРО ТО». 3 : 59-65. (Ivanishchev V.V. 2017. Issues of photosynthetic inorganic carbon as-

- similation in higher plants. Vestnik GOU DPO TO IPK I PPRO TO. 3 : 59-65.)
- Магомедов И.М. 2015. К вопросу об истории открытия C₄-фотосинтеза. Современное состояние проблемы. Успехи соврем. естествознания. 1 (6) : 962-965. (Magomedov I.M. 2015. On the history of the discovery C₄-photosynthesis. current state of problem. Advances in Current Natural Sciences (Uspekhi Sovrem. Yestestvoznaniya). 1 (6) : 962-965.)
- Насыров Ю.С. 1982. Генетика фотосинтеза и селекция. Москва : 64 с. (Nasyrov Yu.S. 1982. Genetika fotosinteza i selektsiya. Moscow : 64 p.)
- Хочачка П., Сомеро Дж. 1977. Стратегия биохимической адаптации. Москва : 398 с. (Hochachka P.W., Somero G.N. 1973. Strategies of biochemical adaptation. Philadelphia, London, Toronto : W.B. Saunders Company.)
- Agarwal R., Ortlebb S., Sainisa J.K., Melzer M. 2009. Immunoelectron microscopy for locating Calvin cycle enzymes in the thylakoids of synechocystis 6803. Mol. Plant. 2 : 32-42.
- Akyildiz M., Gowik U., Engelmann S., Koczor M., Streubel M., Westhoff P. 2007. Evolution and function of a cis-regulatory module for mesophyllspecific gene expression in the C₄ dicot *Flaveria trinervia*. Plant Cell. 19 : 3391-3402.
- Brown N.J., Palmer B.G., Stanley S., Hajaji H., Janacek S.H., Astley H.M., Parsley K., Kajala K., Quick W.P., Trenkamp S., Fernie A.R., Maurino V.G., Hibberd J.M. 2010. C₄ acid decarboxylases required for C₄ photosynthesis are active in the mid-vein of the C₄ species *Arabidopsis thaliana*, and are important in sugar and amino acid metabolism. Plant J. 61 : 122-133.
- Edwards G., Walker D. 1983. C₃, C₄: Mechanisms and Cellular and Environmental Regulation of Photosynthesis. Berkeley : 590 p.
- Evans J.R. 1989. Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C₃ plants. Oecologia. 78 : 9-19.
- Flügge U.I., Westhoff P., Leister D. 2016. Recent advances in understanding photosynthesis. F1000Res. 5 : 2890-2895. doi: 10.12688/f1000research.9744.1. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5224682/>
- Hibberd J.M., Covshoff S. 2010. The regulation of gene expression required for C₄ photosynthesis. Ann. Rev. Plant Biol. 61 : 181-207.
- Hibberd J.M., Quick W.P. 2002. Characteristics of C₄ photosynthesis in stems and petioles of C₃ flowering plants. Nature. 415 : 451-454
- Hunt S., Smith A.M., Woolhouse H.W. 1987. Evidence for a light-dependent system for reassimilation of photorespiratory which does not include a cycle, in the intermediate species *Moricandia arvensis*. Planta. 171 : 227-234.
- Gowik U., Westhoff P. 2011. The path from C₃ to C₄ photosynthesis. Plant Physiol. 155 : 56-63.
- Lara M.V., Chuong S.D.X., Akhani H., Andreo C.S., Edwards G.E. 2006. Species having C₄ single-cell-type photosynthesis in the Chenopodiaceae family evolved a photosynthetic phosphoenolpyruvate carboxylase like that of Kranz-type C₄ species. Plant Physiol. 142 : 673-684.
- Lara M.V., Andreo C.S. 2016. Photosynthesis in nontypical C₄ species C₄ cycles without Kranz anatomy and C₄ Crassulacean acid metabolism transitions. In: Handbook of Photosynthesis. Ed. M. Pessarakli. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group : 307-326.
- Lundgren M.R., Osborne C.P., Christin P.-A. 2014. Deconstructing Kranz anatomy to understand C₄ evolution. J. Exp. Bot. 65 : 3357-3369.
- Meyer V., Griffiths H. 2013. Origins and diversity of eucariotic CO₂-concentrating mechanisms: lessons for the future. J. Exp. Bot. 64 : 769-786.
- Monson R.K., Rawsthorne S. 2000. CO₂ assimilation in C₃-C₄-intermediate plants. In: Photosynthesis: Physiology and Metabolism. Eds R.C. Leegood, T.D. Sharkey, S. von Caemmerer. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers: 533-550.
- Muhaidat R., Sage R.F., Dengler N.G. 2007. Diversity of Kranz anatomy and biochemistry in C₄ eudicots. Amer. J. Bot. 94 : 362-381.
- Patel M., Siegel A.J., Berry J.O. 2006. Untranslated regions of FbRbcS1 mRNA mediate bundle sheath cell-specific gene expression in leaves of a C₄ plant. J. Biol Chem. 281 : 25485-25491.
- Price G.D., Badger M.R., von Caemmerer S. 2011. The prospect of using cyanobacterial bicarbonate transporters to improve leaf photosynthesis in C₃ crop plants. Plant Physiol. 155 : 20-26.
- Price G.D., Pengelly J.J.L., Forster B., Du J., Whitney S.M., von Caemmerer S., Badger M.R., Howitt S.M., Evans J.R. 2013. The cyanobacterial CCM as a source of genes for improving photosynthetic CO₂ fixation in crop species. J. Exp. Bot. 64 : 753-768.
- Raven J.A. 1991. Physiology of inorganic C acquisition and implications for resource use efficiency by marine phytoplankton: relation to increased CO₂ and temperature. Plant Cell Environ. 14 : 779-794.
- Raven J.A., Beardall J. 2003. Carbon acquisition mechanisms of algae: carbon dioxide diffusion and carbon dioxide concentrating mechanisms. In: Photosynthesis in algae. Advances in Photosynthesis and Respiration. Eds. A.W. Larkum, S.E. Douglas, J.A. Raven. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 14 : 225-244.
- Roberts K., Granum E., Leegood R.C., Raven J.A. 2007. C₃ and C₄ pathways of photosynthetic carbon assimilation in marine diatoms are under genetic, not

ЭВОЛЮЦИОННЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ

- environmental, control. *Plant Physiol.* 145 : 230-235.
- Sage R.F. 2002. C₄ photosynthesis in terrestrial plants does not require Kranz anatomy. *Trends Plant Sci.* 7 : 283-285.
- Sage R.F. 2004. The evolution of C₄ photosynthesis. *New Phytol.* 161 : 341-370.
- Shen W.J., Ye L.H., Ma J., Yuan Z.Y., Zheng B.G., Lv C.G., Zhu Z.Q., Chen X., Gao Z.P., Chen G.X. 2016. The existence of C₄-bundle-sheath-like photosynthesis in the mid-vein of C₃ rice. *Rice.* 9. Doi: 10.1186/s12284-016-0094-5.
- von Caemmerer S. 1989. A model of photosynthetic assimilation and carbon-isotope discrimination in leaves of certain intermediates. *Planta.* 178 : 463-474.
- Voznesenskaya E.V., Franceschi V.R., Kiirats O., Artyusheva E.G., Frejtag H., Edwards G.E. 2002. Proof of C₄ photosynthesis without Kranz anatomy in *Bienertia cycloptera* (*Chenopodiaceae*). *Plant J.* 31 : 649-662.
- Waters M.T., Langdale J.A. 2009. The making of a chloroplast. *EMBO J.* 28 : 2861-2873.

Поступила в редакцию
26.01.2018 г.

EVOLUTIONARY AND APPLIED ASPECTS OF MECHANISMS OF CO₂ CONCENTRATING IN PHOTOAUTOTROPHS

V. V. Ivanishchev

*Lev Tolstoy Tula State Pedagogical University
(Tula, Russia)
E-mail: avdey_VV@mail.ru*

Over the past two decades, information has accumulated on the existence of new ecological groups of plants with features related to the topography of organelles within cell and the biochemical mechanisms of photosynthesis. These features determine their ability to adapt to unfavorable conditions and more effective characteristics of photosynthetic assimilation of inorganic carbon, compared with those observed in the most common C₃ plants. The review is devoted to the analysis of CO₂ concentrating mechanisms detected in photoautotrophs. It is shown that for their implementation, both features of anatomical structure of leaf, topography of organelles in cell, and biochemical mechanisms that ensure incorporation of carbon dioxide into organic compounds are important. A variety of structural and functional components for creating mechanisms concentrating CO₂ has been noted. In addition, experimental data on possible ways of evolution of photosynthetic assimilation of CO₂ and potential directions in application of accumulated knowledge are considered. It is emphasized that overly mechanistic ideas about the improvement of C₃-plants should not contradict the main biological law, according to which the phenotype of an individual is determined by interaction of genotype and environmental conditions in which it is realized. Opening perspectives of management of photosynthetic process and its efficiency with the aim of creating more productive forms of plants were examined.

Key words: *photosynthesis, CO₂ concentrating mechanisms, higher plants, evolutionary aspects, improvement of photosynthesis in C₃-plants*

ЕВОЛЮЦІЙНІ І ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ МЕХАНІЗМІВ КОНЦЕНТРУВАННЯ CO₂ ФОТОАВТОТРОФІВ

В. В. Іванищев

*Федеральна державна бюджетна освітня установа вищої освіти
«Тульський державний педагогічний університет ім. Л.М. Толстого»
(Тула, Росія)*

E-mail: avdey_VV@mail.ru

Протягом двох останніх десятиліть накопичилися відомості про існування нових екологічних груп рослин, що мають особливості, пов'язані з топографією органел всередині клітини і біохімічними механізмами фотосинтезу. Ці риси зумовлюють їх здатність до адаптації до несприятливих умов і більш ефективні характеристики фотосинтетичної асиміляції неорганіч-

ИВАНИЦЕВ

ного вуглецю, порівняно з тими, що спостерігаються у найбільш поширених C_3 -рослин. Огляд присвячений аналізу механізмів концентрування CO_2 , виявлених у фотоавтотрофів. Показано, що для їх реалізації важливі як особливості анатомічної будови листка, або топографії органел в клітині, так і біохімічні механізми, що забезпечують включення вуглекислого газу в органічні сполуки. Відзначено різноманітність структурних і функціональних компонентів для створення механізмів концентрування CO_2 . Крім того, розглянуті експериментальні дані про можливі шляхи еволюції фотосинтетичної асиміляції CO_2 . Наголошується, що надмірно механістичні уявлення про поліпшення C_3 -рослин не повинні суперечити головному біологічному законом, згідно з яким фенотип особини визначається взаємодією генотипу та умов середовища, в яких він реалізується. Розглянуто перспективи керування фотосинтетичним процесом і його ефективністю з метою створення більш продуктивних форм рослин.

Ключові слова: *фотосинтез, механізми концентрування CO_2 , вищі рослини, еволюційні аспекти, поліпшення фотосинтезу C_3 -рослин*