

УДК 581.1:577.1

ЭВОЛЮЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ C₄-ФОТОСИНТЕЗА

В.В. Иванищев

Рассмотрены вопросы, касающиеся многообразия проявлений фотосинтетической ассимиляции углекислого газа у растений и эволюционных аспектов C₄-типа фотосинтеза. Показано, что за последние полтора десятилетия получены экспериментальные данные, которые существенным образом меняют наши представления о путях возникновения C₄-фотосинтеза и реализации его особенных свойств у ряда типичных C₃-растений. Обсуждаются перспективы использования таких знаний для выработки стратегии по улучшению эффективности фотосинтеза C₃-растений для повышения их продуктивности.

Ключевые слова: растения, ассимиляция неорганического углерода, C₃-C₄-фотосинтез, C₄-фотосинтез, эволюционные аспекты, продуктивность растений.

Введение

Фотосинтез – главный путь метаболизма, благодаря которому на нашей планете идет преобразование неорганического углерода в органические соединения. Исследование механизмов фотосинтетического процесса привело к формированию представлений о биохимических путях ассимиляции неорганического углерода C₃- и C₄-типов. После открытия оксигеназной реакции Рубиско (D-рибулозо-1,5-бисфосфат-карбоксилазы-оксигеназы, КФ 4.1.1.39) было принято говорить о фотодыхании, как параллельном процессе [1]. Отдельные специалисты, в т.ч. автор, внесший значительный вклад в представления о биохимии фотодыхания, стали выделять и так называемый C₂-фотосинтез [2]. Обнаруженные особенности транспорта (не в митохондриях и пероксисомы этой же клетки) и метаболизма там фосфогликолата (образованного при окислении кислородом D-рибулозо-1,5-бисфосфата), а его перенос и метаболизм в клетках обкладки с последующим «улавливанием» выделяющегося CO₂ хлоропластами в этих клетках позволили сформулировать представления о C₂-фотосинтезе [2]. В таком случае даже оксигеназная реакция Рубиско рассматривается как поставщик CO₂, в результате чего общая эффективность фотосинтеза, хотя бы, не сильно снижается.

Активные исследования растений, чья жизнь приурочена к специфическим экологическим условиям, за последние три десятилетия позволили обнаружить некоторые вариации в проявлении разных путей метаболизма углерода при фотосинтезе. При этом выявлена высокая морфологическая и биохимическая пластичность как C₃-, так и C₄-растений. Кроме того, было открыто многообразие механизмов, за счет которых растения C₃-типа проявляли ряд свойств, характерных для растений C₄-типа [3].

В специфических экологических условиях засоления и засухи Центральной Азии были обнаружены растения, обладающие C_4 -подобным путем фотосинтеза без классической Кранц-анатомии листа [4-6]. Более того, благодаря еще одному открытию стирается резкая грань между двумя основными типами растений по механизму фиксации CO_2 . Показано, что в клетках, окружающих центральную жилку проводящей системы листьев риса (типичного C_3 -растения), присутствуют ключевые ферменты, характерные для C_4 -типа фотосинтеза [7].

Всё это делает необходимым провести обобщение полученных результатов с целью определения дальнейших направлений исследований в данной области науки и возможных путей повышения эффективности фотосинтеза (и продуктивности) классических C_3 -растений, которые составляют большинство среди важнейших сельскохозяйственных культур.

Анатомо-морфологические особенности и пластичность

C_4 -фотосинтеза

Растения с C_4 -типом фотосинтеза обладают, как известно, целым комплексом особенностей. Они обеспечивают растениям ряд важных характеристик практического характера – большую устойчивость к некоторым факторам среды (повышенной температуре, засухе), более экономный расход воды, большую продуктивность при меньшем расходе азота [3], что объясняет экономическую заинтересованность производителей при возделывании подобных сельскохозяйственных культур. Характерные свойства структуры листа, в первую очередь, обеспечивают C_4 -растениям CO_2 -концентрирующий механизм, позволяющий предотвращать потери углекислого газа, и тем самым снижать фотодыхание, из-за которого эффективность фотосинтеза у C_3 -растений может уменьшаться на величину до 40%, особенно в условиях повышенной температуры и засухи [8].

У C_3 -растений можно наблюдать два физиологически и пространственно разделенных типа клеток, а именно: одна группа более или менее равномерно распределена и образует мезофилл, другая часть клеток сосредоточена вокруг проводящих пучков. Такая картина делает их похожими на C_4 -растения. Однако биохимически такие клетки одинаковы.

С другой стороны, некоторые растения C_3 -типа проявляют характеристики C_4 -растений в отсутствие двух анатомически существенно различных типов клеток в соответствии с классическими представлениями о C_4 -пути фиксации углекислого газа [3]. Несмотря на это, C_4 -фотосинтез характеризуется рядом строго специфических функциональных особенностей. Понимание эволюционных преобразований в этом аспекте

базируется на представлениях об изменении характеристик клеток и их генетическом предопределении.

У большинства C_4 -растений функционирование ФЕП-карбоксилазы и цикла Кальвина пространственно разделено по таким двум типам клеток. Высокая плотность жилок проводящих пучков приводит к тому, что соотношение объемов тканей, образованных клетками мезофилла и обкладки сосудистых пучков, составляет примерно 1:1 [8].

Изучение образования этих типов клеток показывает, что в ходе онтогенеза внутренние слои клеток могут дифференцироваться из клеток прокамбия, а внешние слои – из клеток меристемы. Филогенетический анализ показывает, что C_4 -растения появились благодаря нескольким разным путям эволюционных изменений. При этом стенки клеток обкладки проводящих пучков могут содержать суберин, который ограничивает диффузию CO_2 за пределы таких клеток. В то же время аналогичный слой суберина обнаруживают и у некоторых C_3 -растений на внешних стенках внутренних слоев обкладки сосудистых пучков. Таким образом, никаких характеристик, которые специфичны только для клеток листьев C_4 -растений, до сих пор не обнаружено [3].

Другим важным моментом является расстояние между клетками двух типов для обеспечения максимальной скорости обмена метаболитами между ними. Это объясняет то, что количество слоев клетки обкладки ограничивается одним-двумя. В то же время повышение эффективности процесса фотосинтеза достигается, с другой стороны, и небольшим количеством клеток мезофилла между клетками обкладки, число которых может составлять у некоторых видов до четырех. При этом количество клеток между проводящими пучками в целом – невелико. Чтобы уменьшить расстояние между двумя типами клеток, в листьях иногда встречаются бесхлорофилльные клетки [3].

В то же время изучение разнообразных двудольных C_4 -растений показало, что в сравнении с типичными C_3 -растениями многие их анатомо-морфологические характеристики оказались сходными. Это касается таких показателей как плотность жилок на 1 мм^2 поверхности листа, толщина листа, процент межклеточного пространства. Другие показатели имели более широкие или узкие пределы изменчивости, либо они были сдвинуты в сторону более высоких или низких величин [3, 9].

Третьим важным обстоятельством, характерным для C_4 -растений, является большой компартмент, обеспечивающий максимально возможное связывание (без потерь) выделяемого CO_2 при декарбоксилировании четырехуглеродного соединения. Это объясняет наличие увеличенного количества хлоропластов, присутствующих в клетках обкладки. Превышение объема клеток обкладки над объемом клеток мезофилла достигается несколькими путями, а именно: за счет увеличения числа хлоропластов в клетках обкладки, увеличения числа клеток обкладки, либо

– количества проводящих пучков или изменения диаметра жилок [3]. Описанные показатели являются взаимозависимыми и, отчасти, определяются экологическими условиями, которые обеспечивают, в первую очередь, необходимые параметры водного обмена и сопутствующие показатели, такие как гидравлическое давление, скорость поступления и передвижения воды в растении и т.п. Всё это обуславливает разнообразие анатомического проявления C_4 -синдрома.

Заключительная особенность C_4 -растений состоит в том, что хлоропласты клеток обкладки сосудистых пучков и клеток мезофилла различаются не только по числу, но и морфологически, и функционально. В то же время, большое количество хлоропластов в клетках обкладки характерно не только для C_4 -растений, но и для растений, с так называемым, C_2 -фотосинтезом, при котором, образуемый при фотодыхании глицин, переносится из клеток мезофилла в клетки обкладки, где, выделяемый при его метаболизме CO_2 , далее захватывается хлоропластами и используется в цикле Кальвина [2, 10]. Такие особые черты реализации этого типа фотосинтеза рассматриваются исследователями как один из путей, благодаря которому эволюция механизмов фотосинтетической ассимиляции неорганического углерода может быть представлена в виде последовательности: $C_3 \rightarrow C_2 \rightarrow C_4$ [11-13]. К другим характерным чертам C_4 -синдрома можно отнести особенности распределения между разными клетками листьев растений таких органелл как митохондрии и пероксисомы, а также особенности ультраструктуры и фотохимических свойств хлоропластов [3].

Описанные выше показатели весьма пластичны. В зависимости от условий среды они могут существенно меняться, благодаря чему растения с C_3 -путем фотосинтеза могут приобретать черты, характерные для C_4 -пути. В то же время многообразие возможных анатомо-морфологических изменений различных черт у C_4 -растений позволяет им поддерживать свои физиолого-биохимические характеристики на необходимом уровне. Однако в целом пластичность C_3 -растений в этом аспекте оценивается выше, несмотря на то, что экспериментальных данных в этой области явно не хватает [3].

Биохимические особенности проявлений C_4 -фотосинтеза у высших растений

Классические общие представления о C_4 -пути фиксации неорганического углерода включают три основных разновидности использования первого стабильного продукта – четырехуглеродного соединения (малата и/или аспартата) в качестве источника CO_2 для D-рибулозо-1,5-бисфосфат-карбоксилазы-оксигеназы (Рубиско) – ключевого фермента цикла Кальвина. Такие формы растений обозначают как НАДФ-

малик-энзимная, НАД-малик-энзимная и ФЕП-карбоксикиназная – по названию ключевого фермента, обеспечивающего декарбоксилирование четырехуглеродного соединения с выделением CO_2 [14, 15]. Позднее у трав C_4 -типа были обнаружены 14 разновидностей анатомо-биохимических комбинаций [9]. Они различались по таким характеристикам, как размеры клеток мезофилла и клеток обкладки сосудистых пучков, общие объемы клеток разного типа, особенности расположения хлоропластов в клетках, наличие числа гран в хлоропластах и т.д. с соответствующими вариациями в распределении по клеткам и величине активности ферментов.

В противоположность этим травам у двудольных известны только два типа растений: НАДФ-малик-энзимного и НАД-малик-энзимного типа, в то время как ФЕП-карбоксикиназа у ряда видов вовлечена во вторичные пути метаболизма углеводов [16]. При этом анатомо-биохимические особенности таких растений также связаны с экологическими особенностями их роста и развития. Так, например, исследование позволило выявить пять разновидностей Кранц-анатомии листа у C_4 -представителей семейства *Chenopodiaceae*.

Исследование биохимических характеристик двудольных C_4 -растений показало, что в целом описанные показатели были сходными с теми, которые характерны для других C_4 -видов [9]. В качестве особенностей следует еще раз отметить, что ФЕП-карбоксикиназа не вносит существенного вклада в обмен дикарбоновых кислот в отличие от однодольных трав. С другой стороны, остается во многом неясным присутствие сразу двух декарбоксилирующих ферментов у одного вида (НАД-малик-энзима + ФЕП-карбоксикиназы или НАДФ-малик-энзима + ФЕП-карбоксикиназы). Отчасти это можно объяснить, например, необходимостью синтеза ФЕП (для шикиматного пути), экономией АТФ для обеспечения других процессов и т.п. [9].

В итоге, было установлено, что среди растений C_4 -типа преобладают виды с атриплектоидной (характерной для представителей рода *Atriplex*) анатомией листа и НАДФ-малик-энзимной биохимией.

Особенности «промежуточных» C_3 - C_4 -растений

Исследование разных представителей растительного царства дало возможность говорить о специфической фотосинтетической группе, которую стали обозначать, как C_3 - C_4 -растения [14, 15]. Характерными чертами этой группы (C_3 - C_4 -интермедиатов) являются уникальные особенности газообмена листьев, которые показывают низкую CO_2 компенсационную точку и ее криволинейную зависимость от концентрации кислорода в среде. Это обусловлено особенной компартментализацией (местом протекания) фотодыхания в клетках без изменения фотосинтетического метаболизма углерода. Большинство

представителей интермедиатов обладают фотосинтезом C_3 -типа, а их основной характеристикой является наличие пониженного фотодыхания [15].

Анатомическое строение листьев C_3 - C_4 -интермедиатов отличает их от типичных C_3 - и C_4 -растений. В отличие от C_4 -растений у интермедиатов клетки мезофилла не концентрируются вокруг клеток обкладки сосудистых пучков и расположены более рыхло в структуре листа. При этом в клетках интермедиатов содержится большое количество органелл, причем многие из них располагаются в клетках обкладки центрипетально (к центру). Число митохондрий и пероксисом здесь – в четыре раза больше, чем в клетках мезофилла, а митохондрии – вдвое крупнее [15]. В то же время количество плазмодесм между клетками обкладки и мезофилла намного больше, чем у C_3 -растений, и приближается к показателю, характерному для C_4 -типа. Это обеспечивает быстрый обмен метаболитами между разными клетками листьев растений.

Ключевой фермент, за счет которого происходит выделение CO_2 – глицин-декарбоксилаза, в основном, локализован в клетках обкладки. Особенности взаимного расположения различных органелл в клетках позволяют C_3 -растениям улавливать до 50 % образуемого (в реакциях преобразования глицина) CO_2 , в то время как у C_3 - C_4 -интермедиатов эта величина может достигать 75 % [17].

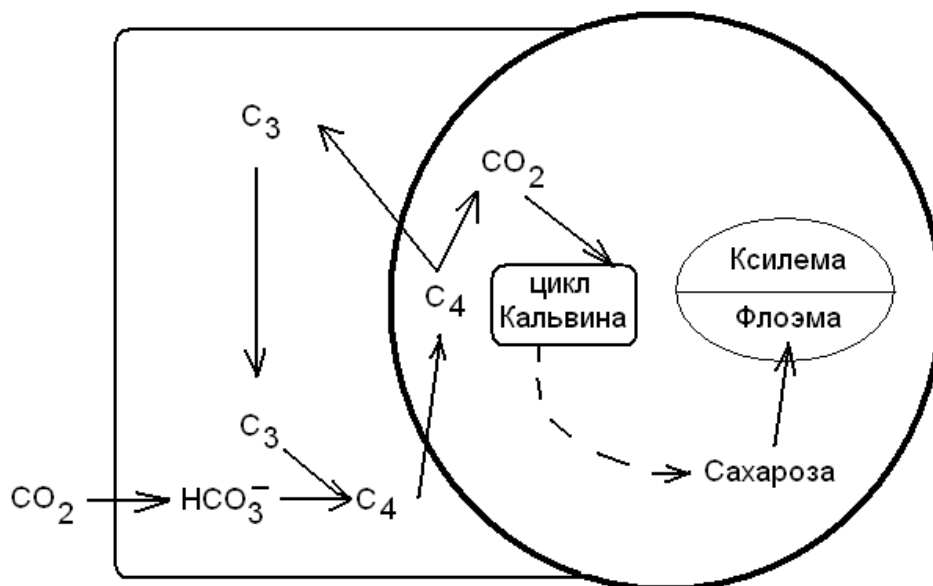
В результате указанные особенности дают возможность интермедиатам проявлять лучшие характеристики в эффективности фотосинтетической ассимиляции CO_2 , особенно при повышенной температуре, в использовании воды и др., что успешно описывается с помощью математической модели [18].

Изучение особенностей биохимии показало, что интермедиаты не обладают типичным специфическим распределением ключевых ферментов (ФЕП-карбоксилазы и Рубиско) по разным клеткам, как это имеет место у растений с C_4 -типом фотосинтеза, показывают неэффективность работы имеющихся компонентов ферментативных систем C_4 -типа, характеризуются низкой активностью ферментов, связанных с обменом C_4 -дикарбоновых кислот (ФЕП-карбоксилазы, НАДФ-малат-дегидрогеназы, НАДФ-малик-энзима, пируват-ортофосфат-дикиназы). При этом значительные количества меченого углерода из ассимилируемого $^{14}CO_2$ оказываются в составе глицина, серина и, особенно, фумарата [15]. В то же время преимущества некоторых C_3 - C_4 -растений обусловлены только наличием активного обмена глицина между клетками листьев, о чем говорилось выше. Однако активный обмен углерода должен сопровождаться и активным балансом азота, но картина этого процесса остается неизвестной.

С₄-фотосинтез без Кранц-анатомии листа

С₄-фотосинтез, обусловленный наличием Кранц-анатомии листа, предполагает, что клеточная стенка между клетками обкладки и мезофилла препятствует потерям СО₂, выделяемого при декарбоксилировании С₄-метаболита [5, 19]. Однако изучение растительного многообразия, приуроченного к существованию в различных экологических нишах, позволило обнаружить в Центральной Азии растения, в листьях которых многие черты С₄-фотосинтеза реализуются в пределах одной клетки без кардинального изменения анатомии листа. При этом известные данные о механизмах концентрирования СО₂ у водных растений, а также наличие у некоторых из них С₄-фотосинтетического цикла в пределах индивидуальной клетки во многом определяются условиями существования в водной среде.

В отличие от них у наземных растений должна существовать физическая граница (толстая клеточная стенка, мембрана, оболочка), разделяющая клетки, где происходит фотосинтетическая ассимиляция углекислого газа, и клетки, где функционирует цикл Кальвина [5, 19] (рис.).



Упрощенная схема компартментализации С₄-фотосинтеза (показаны два типа клеток, между которыми пространственно разделены ассимиляция неорганического углерода и его включение в продукты цикла Кальвина)

Наземные растения семейства *Chenopodiaceae*, представленные более чем 1300 видами, часто являются устойчивыми к засухе и засолению, что во многом обеспечивается наличием у них С₄-типа фотосинтеза. Среди представителей этого семейства были обнаружены виды, у которых С₄-фотосинтез реализуется в пределах одной клетки без

наличия классической Кранц-анатомии листа [4, 6]. Это – *Bienertia cycloptera*, *B. sinuspersici*, *Suaeda aralocaspica*. Они растут в условиях засоления и/или нехватки воды. При этом размеры растений существенно различаются, а именно: если высота *B. cycloptera* и *Suaeda aralocaspica* составляет 20 ... 50 см, то растения *B. sinuspersici* могут достигать 130 ... 160 см.

У этих видов обнаружены два типа топографического распределения органелл внутри клеток. Так, в клетках *S. aralocaspica* различают дистальную и проксимальную части. В дистальной части локализованы агранальные хлоропласты, в которых не синтезируется крахмал, но есть фермент – пируват-ортофосфат-дикиназа для синтеза ФЕП, и здесь (в этой части клетки) осуществляется фиксация CO_2 с образованием C_4 -продукта. В проксимальной части клетки сосредоточены хлоропласты с ферментами цикла Кальвина и малик-энзимом, за счет которого малат преобразуется в пируват с выделением CO_2 для его включения в продукты реакций цикла Кальвина с участием Рубиско и других ферментов.

В клетках видов рода *Bienertia* выделяют центральный компартмент и периферический. В периферической части расположены хлоропласты с малым количеством гран, почти нет митохондрий, но присутствуют ключевые ферменты C_4 -пути – пируват-ортофосфат-дикиназа и ФЕП-карбоксилаза, обеспечивающие синтез ФЕП и фиксацию углекислого газа, соответственно. В центральной части клетки сосредоточены митохондрии и хлоропласты с развитой гранальной структурой, большим количеством Рубиско и другими ферментами цикла Кальвина [4, 6]. При этом центральный компартмент для избегания потери CO_2 окружен вакуолью (вакуолями) [5].

В то же время у описанных видов наблюдается разное соотношение активностей ключевых ферментов, важных для реализации C_3 - и C_4 -путей, что отличает их от настоящих C_4 -видов [5].

Еще одним интересным открытием можно признать обнаружение C_4 -подобного типа фотосинтеза в стеблях и черешках табака [20], а также в средних жилках листьев арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana* L.) [21] – представителей двудольных. Эти особенные черты касаются наличия высокой активности всех ключевых ферментов C_4 -синдрома, в т.ч. одновременного присутствия высокой активности всех декарбоксилирующих ферментов (НАД- и НАДФ-малик-энзимов, а также ФЕП-карбоксикиназы).

Позднее аналогичное открытие было сделано для представителей однодольных. Так, в клетках, расположенных вокруг центральной жилки проводящего пучка листа типичного C_3 -растения – риса, была обнаружена подобная повышенная активность указанных выше ферментов [7]. Использование авторами иммуноблот-анализа придает полученным

результатам весомое значение в качестве доказательной базы. Показано, что активность Рубиско в клетках этой части вдвое ниже, чем в других частях листовой пластинки. Активность ФЕП-карбоксилазы увеличена 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 листа была в шесть и более раз выше. Активность еще одного важнейшего фермента – пируват-ортофосфат-дикиназы – в 7,5 раз превосходила этот показатель для клеток листовой пластинки.

С одной стороны, в ходе обсуждения исследователи интерпретируют такие данные, как один из природных (естественных) путей возможной эволюции и появления C_4 -фотосинтеза, с другой – такую картину авторы рассматривают как возможность для манипуляций человека по «улучшению» фотосинтеза C_3 -растений (о чем идут дискуссии с середины 70-х годов прошлого столетия [22]). Это касается, в первую очередь, такой значимой в мировом масштабе сельскохозяйственной культуры, какой является рис.

При этом авторы исследования значительную долю работы посвятили изучению особенностей работы пигментной системы хлоропластов, которая осуществляет энергетическое обеспечение синтеза органических соединений в ходе фотосинтеза [7].

C_4 -фотосинтез в свете эволюции

Появление растений, обладающих C_4 -типом фотосинтеза, в ходе эволюции, как полагают многие авторы, происходило несколько десятков раз независимыми путями [3, 8]. Основная масса таких растений на сегодняшний день представлена травами (примерно 4600 видов) и осоками (1600 видов), в то время как у двудольных – растения C_4 -типа представлены примерно 1600 видами, что позволяет говорить о полифилетическом эволюционном происхождении C_4 -синдрома [8]. При этом эволюционное появление нового пути фотосинтетической ассимиляции CO_2 должно было включать ряд этапов, затрагивающих развитие Кранц-анатомии листа, создание CO_2 -помпы для концентрирования углекислого газа, локализацию и становление C_4 -цикла, изменения в экспрессии генов с дальнейшей оптимизацией свойств ферментов [8].

Достаточно ясная и простая теоретическая картина появления C_4 -фотосинтеза, безусловно, затрагивает и вопросы, касающиеся изменений путей метаболизма других химических элементов и, в первую очередь, азота и серы. Поэтому появление злаковых растений с C_4 -синдромом могло произойти достаточно давно – примерно 30 млн лет назад, в то время как появление двудольных с таким типом фотосинтеза оценивают в 20 млн лет [8].

Возникновение C_4 -фотосинтетического пути рассматривали ранее через появление C_3 - C_4 -интермедитов как переходных форм. Изучение многообразия особенностей расположения органелл в клетках мезофилла и обкладки сосудистых пучков, а также ряда ферментов показало, что ключевой механизм в появлении C_4 -синдрома состоит, по-видимому, в перераспределении между разными клетками глицин-декарбоксилазы, активность которой была резко снижена или потеряна в клетках мезофилла. Косвенным доказательством такого пути является то, что активность этого фермента у C_4 -растений присутствует только в клетках обкладки. В то же время остается не ясным, почему у таких C_3 - C_4 -видов при наличии глицинового «шаттла» (переноса) из одного типа клеток в другой с последующим декарбоксилированием предсказываемые теорией преимущества в скорости ассимиляции CO_2 , эффективности использования воды и азота не проявляются в условиях обычных концентраций углекислого газа [15].

Рассмотрение возможностей анатомических изменений структуры листа показывает, что каждая особенность, характерная для C_4 -синдрома, у C_3 -растений может меняться независимо (размеры клеток мезофилла и обкладки, толщина листа, расстояние между жилками проводящих пучков), в то время как для C_4 -фотосинтеза важна координация подобных изменений. С этой позиции переход к C_4 -растениям многие исследователи рассматривают через возникновение так называемого C_2 -фотосинтеза, акцентируя внимание на транспорте глицина и его декарбоксилировании в клетках обкладки [3].

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.

Перспективы создания механизмов концентрирования

CO_2 у C_3 -растений

Теоретические изыскания и ряд экспериментальных данных позволили говорить о потенциальной генетической трансформации C_3 -растений, благодаря которой можно было бы улучшить их (приблизить по фотосинтетическим показателям, устойчивости к факторам среды и продуктивности к C_4 -растениям) [22, 23]. Позже была экспериментально обоснована возможность работы подобного механизма только при участии оксалоацетат-декарбоксилазы [24, 25].

В настоящее время решение проблемы повышения эффективности фотосинтеза (и как конечный результат – увеличение продуктивности) C_3 -растений, представляющих основную массу возделываемых сельскохозяйственных культур, рассматривается в виде нескольких путей.

При этом многие из предложенных решений [26] вызывают обоснованные возражения [27].

Отдельный интерес в этом аспекте представляет недавняя работа [3], которая посвящена не только подробному разбору особенностей проявления C_4 -синдрома для понимания эволюции путей фотосинтеза, но и обоснованию генетического детерминизма эволюции C_3 -растений в C_4 -тип. При этом отмечается, что до сих пор генетические механизмы, которые обеспечили появление у растений специфической анатомии листа, характерной для C_4 -фотосинтеза, остаются неизвестными, и это – главная проблема в попытках биоинженерии по приданию новых характеристик или трансформации большинства важнейших сельскохозяйственных C_3 -растений в C_4 -тип.

Особенности генетических механизмов могут состоять в том, что многие черты C_4 -фотосинтеза реализуются, по-видимому, с помощью многих генов, проявление активности которых имеет малые эффекты, которые только суммарно дают необходимый эффект. При этом пути генетического детерминизма, как показывают данные о различных C_3 - C_4 - и C_4 -растениях, могут быть многообразными, поскольку у представителей отдельных семейств и родов переходные формы $C_3 \rightarrow C_3$ - $C_4 \rightarrow C_4$ имеют особые черты и свойства. В этой связи вначале необходимо отследить такие особенности переходов в семействах и родах растений, которые являются таксономически близкими к соответствующим представителям важных сельскохозяйственных культур.

Имеющие место проблемы по трансформации C_3 -растений в C_4 -тип описаны в работе Gowik и Westhoff [8]. Авторы отмечают не только необходимость разделения по разным клеткам реакций с участием ФЕП-карбоксилазы и Рубиско, но и затрагивают вопросы о необходимости изменений в экспрессии разных генов. Это связано, например, с тем, что количество Рубиско у C_4 -растений в несколько раз ниже, чем у C_3 -растений. При этом механизмы регуляции в клетках каждого типа (мезофилла и обкладки) существенно различаются. Так, у C_4 -растения *Flaveria trinervia* в клетках мезофилла присутствует цис-регуляторный элемент, который обозначают как MESOPHYLL EXPRESSION MODULE1. Такой же генетический элемент есть и в генах растений C_3 -типа этого рода *Flaveria*, но он не обладает необходимой специфичностью проявления. Небольшая модификация такого элемента достаточна для специфической экспрессии указанного гена [28].

В противоположность изложенному выше специфическая (для клеток обкладки сосудистых пучков) экспрессия одного из генов, кодирующих малую субъединицу Рубиско, FbRbcS1, регулируется в основном на посттранскрипционном уровне. При этом кажется, что стабильность транскриптов этого гена в клетках мезофилла и обкладки различная [29].

Таким образом, трансформация C_3 -растений в C_4 -тип во многом связана с изменением регуляции активности разных генов. При этом ключевую роль играют, по-видимому, GOLDEN2-LIKE транскрипционные факторы GLK1 и GLK2, которые характерны для всех наземных растений [8]. У растения *Arabidopsis* они контролируют экспрессию более 100 генов, многие из которых связаны с фотосинтетическим процессом, в то время как у кукурузы (C_4 -растения) наблюдали специфичную для клеток обкладки экспрессию генов этой группы [30]. Такие результаты дали основание авторам [8] сделать заключение о том, что эти белки являются важными для генной регуляции в образовании клеток мезофилла и обкладки сосудистых пучков. Однако дальнейшие шаги могут касаться оптимизации количества и свойств многих ферментов.

Таким образом, эволюция фотосинтеза представляется весьма сложной и многообразной, причем проблемы биоинженерии и управления продуктивностью растений с помощью генетических манипуляций, по-видимому, имеют перспективы решения с учетом накопленных знаний о путях регуляции морфологических и биохимических характеристик, важных для проявления более эффективного C_4 -пути фотосинтеза.

Список литературы

1. Хелдт Г.-В. Биохимия растений. М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011. 471 с.
2. Tolbert N. E. The C_2 oxidative photosynthetic carbon cycle // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 1997. V. 48. P. 1–25.
3. Lundgren M.R., Osborne C.P., Christin P.-A. Deconstructing Kranz anatomy to understand C_4 evolution // J. Exp. Bot. 2014. V. 65 (13). P. 3357–3369.
4. Proof of C_4 photosynthesis without Kranz anatomy in *Bienertia cycloptera* (Chenopodiaceae) / E.V. Voznesenskaya [et al.] // The Plant Journal. 2002. V. 31 (5). P. 649–662.
5. Sage R.F. C_4 photosynthesis in terrestrial plants does not require Kranz anatomy // TRENDS in Plant Science. 2002. V. 7 (7). P. 283–285.
6. Wickramage A.T. Single cell C_4 photosynthesis. 2008. <https://www.slideshare.net/anupathisalwickramage/single-cell-c4photosynthesis>.
7. The existence of C_4 -bundle-sheath-like photosynthesis in the mid-vein of C_3 rice / W.J. Shen [et al.] // Rice. 2016. V. 9. No 20. DOI: 10.1186/s12284-016-0094-5.
8. Gowik U., Westholl P. The path from C_3 to C_4 photosynthesis // Plant Physiol. 2011. V. 155. P. 56–63.
9. Muhaidat R., Sage R.F., Dengler N.G. Diversity of Kranz anatomy and biochemistry in C_4 eudicots // Amer. J. Bot. 2007. V.94 (3). P. 362–381.
10. C_2 photosynthesis generates about 3-fold elevated leaf CO_2 levels in the C_3 – C_4 intermediate species *Flaveria pubescens* / O. Keerberg [et al.] //

Journal of Experimental Botany. 2014. V. 65. No. 13. P. 3649–3656. doi:10.1093/jxb/eru239.

11. Glycine decarboxylase is confined to the bundle-sheath cells of leaves of C₃-C₄ intermediate species / C.M. Hylton [et al.] // *Planta*. 1988. V. 175. P. 452–459.

12. Sage R.F., Sage T.L., Kocacinar F. Photorespiration and the evolution of C₄ photosynthesis // *Annual Review of Plant Biology*. 2012. V. 63. P. 19–47.

13. Phenotypic landscape inference reveals multiple evolutionary paths to C₄ photosynthesis / B.P. Williams [et al.] // *eLife* 2. 2013. e00961. doi.org/10.7554/eLife.00961.

14. Эдвардс Дж., Уокер Д. Фотосинтез C₃- и C₄-растений: механизмы и регуляция. М.: Мир, 1986. 590 с.

15. Monson R.K. CO₂ assimilation in C₃-C₄-intermediate plants // *Photosynthesis: Physiology and Metabolism* / R.C. Leegood, T.D. Sharkey, S. von Caemmerer (eds). Kluwer Academic Publishers. 2000. P. 533-550.

16. Sage R.F. The evolution of C₄ photosynthesis // *New Phytologist*. 2004. V. 161. P. 341-370.

17. Hunt S., Smith A.M., Woolhouse H.W. Evidence for a light-dependent system for reassimilation of photorespiratory which does not include a cycle, in the intermediate species *Moricandia arvensis* // *Planta*. 1987. V. 171. P. 227–234.

18. von Caemmerer S. A model of photosynthetic assimilation and carbon-isotope discrimination in leaves of certain intermediates // *Planta*. 1989. V. 178. P. 463–474.

19. Иванищев В.В. Об определении эффективности карбоксилирования у растений, обладающих механизмом концентрирования CO₂ // *Физиология растений*. 1992. Т. 39. № 3. С. 437-444.

20. Hibberd J.M., Quick W.P. Characteristics of C₄ photosynthesis in stems and petioles of C₃ flowering plants // *Nature*. 2002. V. 415 (6870). P. 451–454. doi:10.1038/415451a.

21. 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 / N.J. Brown [et al.] // *Plant J*. 2010. V. 61(1). P. 122–133. doi:10.1111/j.1365-3113X.2009.04040.x.

22. Магомедов И.М. К вопросу об истории открытия C₄-фотосинтеза. Современное состояние проблемы // *Успехи современного естествознания*. 2015. № 1 (часть 6). С. 962-965.

23. Насыров Ю.С. Генетика фотосинтеза и селекция. М.: Знание, 1982. 64 с.

24. Абдуллаев А., Горенкова Л.Г., Иванищев В.В. О распределении некоторых ферментов метаболизма C_4 -кислот в хлоропластах ржи // Физиология растений. 1989. Т. 36. № 4. С. 665-668.

25. Иванищев В.В. Биологическое значение метаболизма оксалоацетата в хлоропластах C_3 - растений // Физиология растений. 1997. Т. 44. № 3. С. 462-470.

26. Meyer V., Griffiths H. Origins and diversity of eucariotic CO_2 -concentrating mechanisms: lessons for the future // J. Exp. Bot. 2013. V. 64. No 3. P. 769-786.

27. Иванищев В.В. Проблемы фотосинтетической ассимиляции неорганического углерода высшими растениями // Вестник ГОУ ДПО ТО "ИПК И ППРО ТО". Тульское образовательное пространство. 2017. № 3 (в печати).

28. Evolution and function of a cis-regulatory module for mesophyllspecific gene expression in the C_4 dicot *Flaveria trinervia* / M. Akyildiz [et al.] // Plant Cell. 2007. V. 19. P. 3391–3402.

29. Patel M., Siegel A.J., Berry J.O. Untranslated regions of FbRbcS1 mRNA mediate bundle sheath cell-specific gene expression in leaves of a C_4 plant // J. Biol Chem. 2006. V. 281. P. 25485–25491.

30. Waters M.T., Langdale J.A. The making of a chloroplast // EMBO J. 2009. V. 28. P. 2861–2873.

Иванищев Виктор Васильевич, д-р биол. наук, ст. науч. сотрудник, зав. кафедрой, avdey_VV@mail.ru, Россия, Тула, Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого

EVOLUTIONARY ASPECTS OF C_4 -PHOTOSYNTHESIS

V.V. Ivanishchev

The review deals with the variety of manifestations of photosynthetic assimilation of carbon dioxide in plants and the evolutionary aspects of the C_4 -type photosynthesis. It is shown that over the last decade and a half, experimental data have been obtained that significantly change our understanding of the ways of the onset of C_4 photosynthesis and the realization of its specific properties in a number of typical C_3 plants. The prospects of application such knowledge for developing a strategy for improving the efficiency of photosynthesis of C_3 plants are discussed in order to increase their productivity.

Key words: plants, assimilation of inorganic carbon, C_3 - C_4 -photosynthesis, C_4 -photosynthesis, evolutionary aspects, plant productivity.

Ivanishchev Viktor Vasiljevich, Doctor of Biology, Senior Researcher, head of chair, avdey_VV@mail.ru, Russia, Tula, Tula State Lev Tolstoy Pedagogical University