

APARICIÓN Y EVOLUCIÓN DE LA FOTOSÍNTESIS C₄

J. C. Raya-Pérez¹; C. L. Aguirre-Mancilla²

¹Centro de Investigación Aplicada del Instituto Tecnológico Superior de Uruapan (CIA-ITESU). Carretera Uruapan-Carapan Núm. 5555, Colonia La Basilia, Uruapan, Michoacán. C. P. 60015.

Autor para correspondencia. Correo-e: jraya@tecuruapan.com.mx.

²Instituto Tecnológico de Roque, Km 8, Carretera Celaya-J. Rosas. Celaya, Gto. Apdo. Postal 508, C. P. 38110.

RESUMEN

La fotosíntesis C₄ surgió hace unos 7-5 millones de años y tiene un origen polifilético. La disminución en la concentración atmosférica de CO₂ a menos de 500 partes por millón (ppm) propició la aparición de un mecanismo para concentrar este gas en la zona donde actúa la Rubisco (ribulosa bifosfato carboxilasa/oxigenasa), evitando así su actividad de oxigenasa. El análisis de los genes que codifican para las enzimas usadas en la vía C₄, así como la caracterización bioquímica de algunas de estas enzimas, permiten entrever algunos de los cambios que han sufrido a fin de adaptarse a una nueva función, la de concentrar el CO₂ a fin de que sea utilizado por la Rubisco.

PALABRAS CLAVE: fotosíntesis, enzima málico, fosfoenolpiruvato carboxilasa, piruvato ortofosfato dicinasa, malato deshidrogenasa, *Flaveria*, *Amaranthus*, *Zea mays*.

APPEARANCE AND EVOLUTION OF C₄ PHOTOSYNTHESIS

SUMMARY

The photosynthesis type C₄ had its origin 7-5 millions years ago in several genera of plants. The atmospheric diminution of CO₂ concentration leads to a concentrative mechanism. Some studies of genes and enzymes than participate in this pathway shown several changes than have occurred in DNA and proteins in order to adapt them for a new function, CO₂ concentrating mechanism. This mechanism avoid Rubisco's oxygenase function.

KEY WORDS: photosynthesis, malic enzyme, phosphoenolpyruvate carboxylase, pyruvate orthophosphate dikinase, malate dehydrogenase, *Flaveria*, *Amaranthus*, *Zea mays*.

INTRODUCCIÓN

La evolución de la fotosíntesis C₄ es un tema muy interesante, tanto por ser un proceso vivo, actual, en el que vemos a la evolución actuando, como por las implicaciones que tiene para la pretensión humana de crear supercultivos que gasten poca agua y fijen mucho carbono.

Aunque todas las plantas finalmente fijan el CO₂ mediante la vía de Calvin (haciéndolo reaccionar con un azúcar de cinco carbonos para producir luego dos moléculas de tres carbonos, la dihidroxiacetona-fosfato y el gliceraldehído-3-fosfato) las C₄ lo fijan primero mediante un

compuesto de cuatro carbonos (oxaloacetato) en las células del mesófilo y este compuesto es traslocado a las células de la vaina del haz, donde el compuesto es descarboxilado para liberar el CO₂ y así ser fijado mediante el ciclo de Calvin (Drincovich *et al.*, 1998).

Más del 90 % de las plantas terrestres son C₃ y de ellas se derivan las C₄ y las CAM o MAC, (metabolismo ácido de las crasuláceas). La vía fotosintética C₄ existe tanto en plantas monocotiledóneas como en dicotiledóneas y tiene un origen polifilético. La existencia de plantas acuáticas con metabolismo MAC, o con fotosíntesis C₄ indica que

ambas formas evolucionaron para lograr un mecanismo mediante el cual concentrar el CO_2 , paso limitante en la fijación del carbono. Cuando la concentración de CO_2 cae por debajo de 190 (ppm) no hay fijación neta de este gas en las plantas C_3 . Incluso en los microorganismos fotosintéticos se induce un mecanismo concentrador de CO_2 cuando la concentración de éste cae por debajo de la K_m de la Rubisco (Wang y Spalding, 2006) (La K_m es la concentración de sustrato necesario para que la enzima trabaje a la mitad de su velocidad máxima). La vía C_4 apareció como consecuencia de la baja en la concentración de CO_2 , a menos de 500 ppm, hace entre 7 y 5 millones de años (ma), a finales del Mioceno y principios del Plioceno. La composición de los isótopos del carbono en los dientes de los mamíferos de aquél periodo indica que los ecosistemas con plantas C_4 tuvieron una expansión muy importante hace 7-5 ma, en que se registró un cambio significativo en la fauna a lo ancho del mundo, lo que indica que hubo un cambio climático global. La fosfoenolpiruvato carboxilasa, que es la primera enzima que fija el carbono en las plantas C_4 tiene una menor discriminación que la Rubisco contra los isótopos ^{13}C del carbono, por lo que este isótopo se acumula más en las C_4 . Esto se refleja en la composición del esmalte de los dientes de los herbívoros pues al alimentarse de material vegetal rico en ^{13}C , acumulan también más de este isótopo en sus tejidos. Las MAC tienen valores intermedios, entre las C_3 y C_4 , en cuanto al contenido de ^{13}C (Cerling *et al.*, 1997; Beerling y Berner, 2005).

Las enzimas implicadas en la ruta C_4 manifiestan adaptaciones que las adecuan para usarse en esta vía y surgieron a partir de enzimas no utilizadas en la fotosíntesis pero preexistentes en las plantas C_3 (Drincovich *et al.*, 1998).

Las C_4 superan la baja en la concentración atmosférica de CO_2 concentrándolo en el sitio donde actúa la Rubisco que en trigo (C_3) y maíz (C_4) tiene una especificidad relativa semejante para funcionar como oxigenasa o carboxilasa. Esta enzima, la Rubisco, es la enzima más abundante en la biosfera y tiene como sustrato a la Ribulosa bifosfato, que una vez unida a la enzima se convierte en un enediol muy reactivo que puede tener muchos destinos: puede formar xilulosa difosfato, un inhibidor que se une fuertemente a la enzima; perder el fosfato del carbono 1 o reaccionar con electrófilos gaseosos. La Rubisco maneja al intermediario de tal manera que maximiza la reacción de carboxilación. A la concentración actual de gases el oxígeno debería ganar 25:1 de tal manera que sólo 4 % del enediol sería carboxilado. Una Rubisco típica de C_3 dirige 75 % del enediol hacia la carboxilación, lo que indica claramente la influencia de la enzima sobre la reacción. Se ha postulado que un incremento en la selectividad de la Rubisco hacia la carboxilación mejoraría el rendimiento de los cultivos. Pero también se cree que las mejoras que se puedan introducir en la enzima por diseño es improbable que excedan las variantes superiores que han evolucionado de forma natural, como la del alga roja *Griffithsia monilis* (Gutteridge y Pierce, 2006).

Las C_4 primero hidratan el CO_2 usando anhidrasa carbónica (AC), enseguida lo convierten a un compuesto de cuatro carbonos mediante la fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPC) y lo descarboxilan mediante el uso de una a tres enzimas: el enzima málico dependiente de NADP (EM-NADP), o dependiente de NAD (EM-NAD) o fosfoenolpiruvato carboxicinas (PEP Carboxicinas). La caña de azúcar, el maíz y el sorgo usan EM-NADP pero lo más común es encontrar combinaciones como EM-NAD-/EM-NADP y EM-NADP/PEP Carboxicinas; el uso de una sola enzima descarboxilante es raro.

Para poder llevar a cabo este tipo de fotosíntesis las plantas han desarrollado la anatomía tipo Kranz o de corona, en la que ocurre la separación espacial entre la fijación del carbono por parte de la PEPC y su reutilización por parte de la Rubisco. La fijación del CO_2 ocurre primero en las células del mesófilo mediante la PEPC, (que no tiene actividad de oxigenasa) y produce oxaloacetato que es reducido a malato y transportado a las células de la vaina del haz, donde es descarboxilado por la ME-NAPD. El CO_2 así liberado es usado por la Rubisco para fijarlo mediante el ciclo de Calvin o C_3 y formar carbohidratos. La concentración de CO_2 en las células de la vaina puede ser tres o cuatro veces mayor que la atmosférica y así se evita en buena medida la actividad de oxigenasa de la Rubisco y, por lo tanto, la fotorrespiración. Los cloroplastos de las células de la vaina del haz son grandes y tienen gran cantidad de Rubisco en el estroma, pero no tienen grana y son deficientes en fotosistema II (PSII), lo que evita la liberación de O_2 en el sitio donde cataliza la Rubisco. Además, en muchas especies las células de la vaina del haz presentan una pared celular muy gruesa, incluso con una banda suberizada que las hace impermeables, lo que evita las "fugas" de CO_2 y, en cierta medida, las aísla de la atmósfera. Estas características, además, resaltan la importancia de los traslocadores de malato y piruvato, a fin de propiciar el paso de metabolitos de un tipo de célula a otra. Las células del mesófilo no tienen Rubisco, pero presentan alta actividad de ambos fotosistemas y en ellas es regenerado el fosfoenolpiruvato (PEP) mediante la piruvato-ortofosfotodicasa (PPDK). A diferencia de las células de la vaina, las células del mesófilo tienen una pared celular delgada, lo que facilita la difusión del CO_2 .

Los arreglos anatómicos y organulares son muy diversos y demuestran el origen polifilético de las C_4 . Una especie del género *Borszczowia* tiene valores isotópicos semejantes a las de las C_4 y cloroplastos diferenciados en los polos de células largas arregladas radialmente. En las Chenopodiaceas los arreglos son también muy variados y en el género *Flaveria* hay especies C_3 , formas intermedias C_3 - C_4 y otras netamente C_4 . En general, las C_4 tienen mayor eficiencia en el uso del agua y de los nutrientes como el nitrógeno y la fotorrespiración es mucho más baja que en las C_3 (Dai *et al.*, 1993; Ku *et al.*, 1996; Cowling, 1999).

La regulación de la expresión de los genes de la vía C_4

Los análisis de las secuencias de promotores de genes, los estudios de plantas mutantes y transgénicas, sugieren que no hay un mecanismo universal regulando los distintos genes C_4 , pero necesariamente hay cambios como la expresión específica en un determinado tipo celular (células de la vaina del haz o del mesófilo), como en el caso de la anhidrasa carbónica. La duplicación de genes y adquisición de promotores fuertes para un nivel alto de expresión. También cambia la cinética y propiedades reguladoras de la enzima (PEPC). Por ejemplo la PPDK, que tiene una alta expresión de las isoformas cloroplásticas en células específicas (Edwards *et al.*, 2001).

En hojas de maíz cultivado en la oscuridad la Rubisco está presente a muy bajos niveles en las células de la vaina y del mesófilo, sin poderse detectar las enzimas de la vía C_4 , pero el enverdecimiento por exposición a la luz, confina la expresión de la Rubisco a las células de la vaina y se inicia la expresión de las de la vía C_4 (Nomura *et al.*, 2000b)

En *Amaranthus hypochondriacus* los genes C_4 son regulados de una forma independiente durante el desarrollo y la diferenciación celular. La regulación a nivel postranscripcional determina los patrones específicos de expresión durante el desarrollo temprano de la hoja, independientemente de la luz (Tsuchida *et al.*, 2001). En *Flaveria trinervia* la expresión de la PEPC y la PPDK en mesófilo es posterior a la expresión de la subunidad pequeña de la Rubisco en células de la vaina del haz; esto ha sido también observado en hojas jóvenes de maíz, amaranto y *Atriplex rosea* y podría deberse a que la vaina ya está delimitada antes de que cesen las divisiones celulares en el mesófilo; es decir, mientras unas células, las de la vaina, ya adquirieron su identidad, otras, las del mesófilo, aún no terminan de dividirse (Drincovich *et al.*, 1998).

LA PEPC fosfoenol piruvato carboxilasa

La fosfoenol piruvato carboxilasa de *Flaveria trinervia* es activada por luz debido a que es fosforilada por la fosfoenol piruvato carboxilasa protein cinasa; la forma fosforilada tiene una V_{max} mayor y una sensibilidad menor a la inhibición por malato. En la oscuridad es desfosforilada por una fosfatasa tipo PP2A. Cuando reciben luz las células del mesófilo se alcalinizan, permitiendo una mejor solubilización del bicarbonato en el citosol y se calcula que alcanza una concentración de 80 μM a pH 7.4. En hojas iluminadas La Km de la enzima por el HCO_3^- es de 0.011 mM y su V_{max} es de 0.064 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$ por mg de proteína. En hojas no expuestas a la luz la Km es de 0.031 mM y la V_{max} 0.16 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$ por mg de proteína (Shu *et al.*, 1999).

En maíz hay al menos cuatro genes que codifican para esta enzima. Tres son expresados principalmente en raíz y

el otro tiene un alto nivel de expresión en hojas verdes, incluidas las del totomoxtle (Hojas que recubren la mazorca) (Dai *et al.*, 1993). El promotor del gen PPCZm1 dirige la expresión específica del gen reportero GUS en células del mesófilo de arroz y maíz. La expresión del gen GUS, además, es influida por el estado de desarrollo, luz, glucosa, acetato y probablemente también por la biogénesis del cloroplasto. El efecto de la luz podría deberse a los cambios en el desarrollo inducidos por la señal luminosa más que a un efecto directo. El factor de transcripción Dof 1 regula específicamente al promotor del gen PPCZm1, que codifica para la fosfoenolpiruvato carboxilasa en protoplastos de mesófilo de maíz (Drincovich *et al.*, 1998; Tsuchida *et al.*, 2001). La comparación entre los genes de *Flaveria trinervia* (C_4) y *F. pringlei* (C_3) sugiere que unas pocas alteraciones en la región promotora del gen son las responsables para la alta tasa de expresión de la forma C_4 y éstas incluyen un potenciador o enhancer específico de hoja. La región promotora del gen PPCA1 (la forma C_4) de *F. trinervia* es suficiente para conferir la expresión específica en mesófilo de *F. bidentis* (una C_4) transformada con este gen. En *F. trinervia* el RNA mensajero que codifica para la PEPC se acumula a altos niveles a los cuatro días de desarrollo de los cotiledones, disminuye a los cinco días y alcanza el nivel estacionario a los siete días (Drincovich *et al.*, 1998).

Anhidrasa carbónica (AC)

La anhidrasa carbónica, convierte el CO_2 a HCO_3^- ; este último, es el sustrato de la PEPC. En hojas iluminadas de *F. trinervia* la actividad de la AC es diez veces más alta que en hojas no iluminadas (Shu *et al.*, 1999). En el maíz (C_4) 20-60 % de la actividad de esta enzima se encuentra localizada en la membrana plasmática, liberando el HCO_3^- en el citosol. En el trigo (C_3) la actividad presente en la membrana plasmática es de 1-3 %. Las formas presentes en el cloroplasto y en el citosol evolucionaron a partir de un gen ancestral, antes de la divergencia entre plantas dicotiledóneas y monocotiledóneas (Dai *et al.*, 1993).

EM-NADP, la enzima málica dependiente de NADP

En *Flaveria* hay tres y tal vez cuatro genes que codifican para esta enzima; una de las formas, Me1, es expresada en tejido fotosintético C_4 y la otra, Me2, parece ser constitutiva; ambas se localizan en plantas C_3 y C_4 y parecen haber surgido por duplicación de un gen ancestral. Las C_3 presentan baja actividad de esta enzima, atribuible a una forma de peso molecular alto; la forma de bajo peso molecular está también presente, pero su actividad es aún menor. La EM-NADP de trigo tiene mayor peso molecular y menor actividad que la de maíz. El maíz expresa esa misma isoforma, pero lo hace en raíz y hojas etioladas; la de bajo peso molecular la utiliza en la fotosíntesis C_4 .

La enzima de 72 kDa es la de alto peso y es expresada de manera constitutiva en hojas, tallos y raíces de plantas

C_3 y C_4 . La de 62 kDa, y otra forma menos abundante de 64 kDa, aparece sólo en las hojas verdes de C_4 . Las formas de *Flaveria*, con características de C_3 y C_4 , tienen enzimas de 62, 64 y 72 kDa. La forma presente en las especies C_3 de *Flaveria* parece tener una Km mayor por el NADP que la forma presente en las especies C_4 de *Flaveria*, donde se localiza principalmente en los cloroplastos de la vaina del haz, pero en las formas intermedias aparece también en los cloroplastos del mesófilo. Los genes Me1 y Me2 de *F. bidentis* están presentes en especies C_3 y C_4 y ambos tienen péptidos de tránsito para dirigir la proteína al cloroplasto, lo que sugiere que son parálogos que surgieron por duplicación genética. Me1 aparece en los cloroplastos de la vaina, es específico de hoja, su expresión depende de luz y se expresa en C_4 solamente. El gen Me2, que codifica para la forma de 72 kDa, se expresa constitutivamente y aparece en plastidios de hojas, tallos y raíces de C_3 y C_4 . En maíz transgénico la sobreexpresión, inducida, de EM-NADP en raíces provoca una reducción en la actividad del PSII y reduce la grana apilada, lo que indica co-regulación de genes no relacionados (Edwards *et al.* 2001).

En cloroplastos de arroz transformado, la acumulación de EM-NADP de maíz tiene efectos negativos sobre el crecimiento de las plantas cultivadas bajo luz natural; presentaron caquexia y supresión del crecimiento, con síntomas más severos conforme aumenta la actividad de la enzima en hojas. La concentración de malato fue mucho más alta en las hojas caquécicas, que tuvieron menor contenido de proteína soluble y de Rubisco. En las plantas transformadas con la EM-NADP del propio arroz no se observaron síntomas deletéreos, a pesar de que hubo plantas con cinco veces más actividad enzimática con respecto a las plantas no transformadas. A pH 7.5 la isoforma de la enzima de arroz (C_3) tiene una V_{max} que es menor al 10 % de la isoforma de maíz. Los efectos negativos sobre las plantas de arroz transformadas, a altas intensidades luminosas, podrían explicarse por el hecho de que la EM-NADP muestra un incremento de su actividad bajo iluminación al aumentar el pH y la concentración de Mg^{2+} en el estroma. Otras posibilidades son que consuma el NADP⁺ y exponga los cloroplastos a la fotoinhibición, o por la consunción del malato por descarboxilación (Nomura *et al.*, 2000a).

La PPK piruvato ortofosfato dicinasa

Esta enzima, la piruvato ortofosfato dicinasa, regenera el fosfoenolpiruvato en las células del mesófilo. El gen que codifica para esta enzima es llamado *pdk* y su transcripción puede iniciarse a partir de dos promotores, en dos sitios distintos. Uno de los transcritos lleva el exón 1, que codifica para un péptido de tránsito que dirige a la enzima al cloroplasto; esta es la enzima tipo C_4 . El mRNA de menor tamaño no lleva la parte que codifica para el exón 1 y la enzima es enviada al citosol. En *F. trinervia* (C_4) y en arroz (C_3) también hay dos promotores en el gen, pero el gen de maíz tiene elementos en *cis* (es decir, que se hallan en la

secuencia del DNA) que le confieren una expresión muy alta dependiente de luz; el gen de arroz no los tiene; sin embargo, la enzima de maíz se parece más a la de arroz que a la de *Flaveria* (C_4). Los genes que codifican para las enzimas de *Flaveria* y de maíz serían ortólogos, tienen un ancestro común y realizan la misma función en organismos distintos (Drincovich *et al.*, 1998).

En plantas de arroz transformadas con el gen reportero GUS bajo el control del promotor del gen *pdk* de maíz muestran el mismo patrón de tinción para GUS que el que presentan las plantas de arroz transformadas con el gen GUS bajo el control del propio promotor de arroz, luego de 24 h de exposición a la luz, pero las que llevan el promotor de maíz tienen una tinción mucho más intensa. En plantas de maíz transformadas con el gen GUS bajo el control del promotor de arroz la actividad de la enzima se observa además en órganos no fotosintetizadores. El arroz transformado con la enzima GUS bajo el control del promotor de maíz muestra tinción sólo en las células del mesófilo. Estos resultados indican que la regulación de la expresión del gen *pdk* es distinta en arroz y maíz. Sin embargo, la expresión inducida con el promotor de arroz es compatible con la de maíz pero la expresión inducida con el promotor de maíz no lo es con la de arroz (Nomura *et al.*, 2000b).

RbcS subunidad pequeña de la Rubisco

La Rubisco consta de ocho subunidades grandes (55 kDa) y ocho pequeñas (13 kDa). En el genoma de arroz hay tres o cuatro genes que codifican para la subunidad pequeña y en hojas verdes 64 % del mRNA son transcritos provenientes del gen tipo I y 33 % provienen del gen tipo II. Esta proteína es expresada específicamente en las células del mesófilo en las plantas C_3 . En las C_4 se expresa en las células de la vaina del haz pero no en mesófilo. En el maíz la represión del gen ocurre, bajo condiciones de luz en células del mesófilo que están hasta tres células más allá de una vena. A pesar de las diferencias en expresión la estructura del gen en la región que codifica para la proteína está muy conservada en el arroz y el maíz. En plantas de arroz transgénico la expresión del gen reportero GUS bajo el control del promotor de maíz del gen de la *rbcS* (subunidad pequeña de la rubisco), es dependiente de luz y se expresa sólo en mesófilo. Este patrón de expresión es igual al que presenta el gen endógeno de arroz. En cambio, las plantas de maíz transformadas con el gen GUS bajo el control del promotor de arroz también expresan el gen en las células del mesófilo, además de las células de la vaina del haz. El promotor de maíz induce la expresión del gen GUS específicamente en las células de la vaina del haz; el de arroz en toda la hoja. Sin embargo, cuando las hojas de plántulas etioladas son expuestas a la luz, la expresión del gen GUS se observa después de ocho horas de exposición a la luz, con cualquiera de los dos promotores. Dada la conservación de las secuencias entre los dos genes los autores concluyen que las diferencias en los patrones de

expresión se deben a elementos actuando en trans (proteínas que se unen al DNA) (Parvathi *et al.*, 2000).

Perspectivas

El estudio de los genes que participan en la fotosíntesis C_4 , es algo que sin duda continuará y ayudará a entender como evolucionó y cómo se regula en las especies. Aunque de lo hallado hasta ahora, se podría concluir que será muy difícil hacer generalizaciones pues, como hemos visto, algunos genes se han modificado a nivel de promotor, en otros casos las enzimas han sufrido cambios en residuos de aminoácidos y también, se hace uso de factores de transcripción al parecer no presentes en las C_3 , o pudiera ser que allí reconocieran secuencias diferentes. Otros aspectos importantes e interesantes son el estudio bioquímico de las distintas enzimas de la vía y de los transportadores de malato y piruvato. Es de esperarse que con la clonación de los genes se obtenga proteína pura en cantidad suficiente para hacer los estudios bioquímicos y poder comparar entre las enzimas de especies C_4 y C_3 , además de investigar cómo se regula la diferenciación celular (entre células de la vaina del haz y células del mesófilo). Respecto a este tema, se sabe que la posición de la célula es muy importante para determinar cual será su destino. La clonación del gen SbRLK1 (Kaplan *et al.*, 2001), que codifica para un receptor con actividad de cinasa, permite especular sobre la posibilidad que intervenga en procesos específicos de las células del mesófilo, que es donde se observa su mayor expresión. La existencia de plasmodesmos entre las células del mesófilo y de la vaina del haz, deja abierta la posibilidad de que haya transferencia de proteínas, tales como factores de transcripción (proteínas que permiten la expresión de genes), que ayuden a regular la expresión específica de genes en las células. Esto último ha sido observado en el caso del desarrollo de órganos florales en *Arabidopsis* (Kaplan *et al.*, 2001; Annen y Stockhaus, 1999).

Si alguien hubiera podido predecir, hace 5-7 ma, que las plantas, ante la caída en la concentración de CO_2 atmosférico, desarrollarían mecanismos concentradores de este gas, hubiera acertado. Ahora se pretende introducir características de las C_4 a cultivos C_3 como el arroz. Sin duda, habrá que considerar que tan viable es esto desde un punto de vista técnico y también ambiental, toda vez que el incremento en la temperatura y en la concentración de CO_2 podría favorecer a las C_3 . Los registros fósiles indican que las primeras plantas terrestres experimentaron concentraciones altas de CO_2 en el Devoniano, y eran plantas pequeñas desprovistas de hojas. Durante los siguientes 40 millones de años una caída en el CO_2 atmosférico provocó un aumento en la densidad estomatal y un máximo en la anchura de la hoja en varios grupos independientes que llevan al desarrollo de árboles y forman bosques estratificados, con sistemas de raíces profundos. La remoción de CO_2 durante este periodo es evidenciado por los enormes depósitos de carbón de los periodos Mississippico y Pérmico. Debe

considerarse que esto se dio a lo largo de millones de años y la humanidad está interesada en prever qué va a pasar en el corto plazo (Beerling y Berner, 2005).

Se está trabajando intensamente en tratar de obtener mutantes en la Rubisco a fin de disminuir su actividad de oxigenasa; en este aspecto, se está tratando de seguir un camino distinto al que siguieron las plantas para responder a la baja en la concentración ambiental de CO_2 ; es decir, desarrollar un mecanismo concentrador. Otra posibilidad es la de introducir el gen que codifica para la Rubisco del alga *Griffithsia monilis* y "convencer" a los cultivos de que trabajen con esta enzima. Aunque es difícil hacer predicciones respecto a las tendencias evolutivas de los organismos.

LITERATURA CITADA

- ANNEN, F.; STOCKHAUS J. 1999. SbRLK1, a receptor-like protein kinase of *Sorghum bicolor* (L.) Moench that is expressed in mesophyll cells. *Planta* 208: 420-425.
- BEERLING, D. J.; BERNER, R. A. 2005. Feedbacks and the coevolution of plants and atmospheric. *Proc. Natl. Acad. Sci* 102: 1302-1305.
- CERLING, T. E.; HARRIS, J. M.; MCFADDEN, B. J.; LEAKEY, M. G.; QUADE, J.; EISENMANN V.; EHLERINGER, J. R. 1997. Global vegetation change through the Miocene/Pliocene boundary. *Nature* 389: 153-158.
- COWLING, S. A. 1999. Plants and temperature- CO_2 uncoupling. *Science* 285: 1500-1501.
- DAI, Z.; KU, M. S. B.; EDWARDS, G. E. 1993. C_4 Photosynthesis. *Plant Physiol* 103: 83-90.
- DRINCOVICH, M. F.; CASATI, P.; ANDREO, C. S.; CHESSIN, S. J.; FRANCESCHI, V. R.; EDWARDS, G. E.; KU, M. S. B. 1998. Evolution of C_4 photosynthesis in *Flaveria* species. *Plant Physiol* 117: 733-744.
- EDWARDS, G. E.; FURBANK, R. T.; HATCH, M. D.; OSMOND, C. B. 2001. What does it take to be C_4 ? Lessons from the evolution of C_4 photosynthesis. *Plant Physiol* 125: 46-49.
- GUTTERIDGE, S.; PIERCE, J. 2006. A unified theory for the basis of the limitations of the primary reaction of photosynthetic fixation: was Dr Pangloss right? *Proc. Natl. Acad. Sci.* 103: 7203-7204.
- KAPLAN, A. Y.; HELMAN, D.; TCHERNOV, L.; REINHOLD. 2001. Acclimation of photosynthetic microorganisms to changing ambient CO_2 concentration. *PNAS* 98: 4817-4818.
- KU, M. S. B.; KANO-MURAKAMI, Y.; MATSUOKA, M. 1996. Evolution and expression of C_4 photosynthesis genes. *Plant Physiol* 111: 949-957.
- NOMURA, M.; SENTOKU, N.; NISHIMURA, A.; LIN, J. H.; HONDA, C.; TANIGUCHI, M.; ISHIDA, Y.; OHTA, S.; KOMARI, T.; MIYAO-TOKUTOMI, M.; KANO-MURAKAMI, Y.; TAJIMA, S.; KU, M. S. B.; MATSUOKA, M. 2000a. The evolution of C_4 plants: acquisition of *cis*-regulatory sequences in the promotor of C_2 -type pyruvate, orthophosphate dikinase gene. *Plant J* 22:211-221.
- NOMURA, M.; KATAYAMA, K.; NISHIMURA, A.; ISHIDA, Y.; OHTA, S.; KOMARI, T.; MIYAO-TOKUTOMI, M.; TAJIMA, S.; MATSUOKA, M. 2000b. The promotor of *rbcS* in a C_3 plant (rice) directs organ-specific, light-dependent expression in a C_4 plant (maize), but does not confer bundle sheath cell-specific expression. *Plant Mol Biol.* 44: 99-106.

- PARVATHI, K.; BHAGWAT, A. S.; UENO, Y.; IZUI, K.; RAGHAVENDRA, A. S. 2000. Illumination increases the affinity of phosphoenolpyruvate carboxylase to bicarbonate in leaves of a C₄ plant, *Amaranthus hypochondriacus*. *Plant Cell Physiol* 41: 905-910.
- SHU, G.; PONTIERI, V.; DENGLER, N. G.; METS, L. J. 1999. Light induction of cell type differentiation and cell-type-specific gene expression in cotyledons of a C₄ plant, *Flaveria trinervia*. *Plant Physiol*. 121: 731-741.
- TSUCHIDA, H.; TAMAI, T.; FUKAYAMA, H.; AGARIE, S.; NOMURA, M.; ONODERA, H.; ONO, K.; NISHIZAWA, Y.; LEE, B. H.; HIROSE, S.; TOKI, S.; KU, M. S. B.; MATSUOKA, M.; MIYAO, M. 2001. High level expression of C₄-specific NADP-malic enzyme in leaves and impairment of photoautotrophic growth in a C₃ plant, rice. *Plant Cell Physiol*. 42: 138-145.
- WANG, Y.; SPALDING, M. H. 2006. An inorganic carbon transport system responsible for acclimation specific to air levels of CO₂ in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Proc Natl Acad Sci* 103: 10110-10115.