

张智胜, 朱国辉, 彭新湘. 优化碳同化实现作物高光效研究进展 [J]. 华南农业大学学报, 2022, 43(6): 69-77.
ZHANG Zhisheng, ZHU Guohui, PENG Xinxiang. Advances in improvement of crop photosynthetic efficiency by optimizing the photosynthetic carbon assimilation[J]. Journal of South China Agricultural University, 2022, 43(6): 69-77.

特约综述

优化碳同化实现作物高光效研究进展

张智胜, 朱国辉, 彭新湘

(华南农业大学 生命科学学院, 广东广州 510642)

摘要: 随着全球人口的持续增长和耕地面积的不断减少, 人类生存所面临的粮食危机越来越严重。进一步提高作物产量是保障我国粮食生产安全的重要途径。光合作用是作物产量形成的物质基础, 采用现代育种技术以提高作物光合效率为中心的作物改良被认为是新一轮的“绿色革命”。本文从提高 Rubisco 羧化活性、将 C_4 光合途径引入 C_3 作物、降低光呼吸碳耗损等方面, 介绍了优化改进植物光合碳同化领域的研究进展、存在的瓶颈问题, 以及提高作物光合效率的实践应用; 对当前改善植物光合碳同化的研究重点和方向进行了展望。

关键词: 高光效; 光合作用; 光呼吸; 作物

中图分类号: Q945.11; S5

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2022)06-0069-09

Advances in improvement of crop photosynthetic efficiency by optimizing the photosynthetic carbon assimilation

ZHANG Zhisheng, ZHU Guohui, PENG Xinxiang

(College of Life Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: With the continuing growth of population and the decrease in arable lands, the global food crisis is becoming a serious problem for human beings. Therefore, further improving crop yield is important for our country to ensure food production safety. Photosynthesis is the material basis for crop yield, and the crop improvement focusing on increasing photosynthetic efficiency via modern breeding technologies is considered to be a new round of “Green revolution”. In this review, we summarize recent advances, current challenges, and applications in enhancing plant carbon assimilation through different approaches, including improving the carboxylation activity of Rubisco, introducing C_4 photosynthesis into C_3 crops, and reducing photorespiration. We also propose promising research emphasis and directions for improving photosynthetic carbon assimilation of plants.

Key words: High photosynthetic efficiency; Photosynthesis; Photorespiration; Crop

根据联合国粮食及农业组织 (FAO)2020 年的数据 (<https://www.fao.org/hunger/en/>), 由于全球人口的持续增长和可耕地面积的持续减少, 全球超过 8 亿人正遭受饥饿和粮食安全问题, 作物产量需要

收稿日期: 2022-08-08 网络首发时间: 2022-09-21 10:55:58

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20220921.0901.002.html>

作者简介: 张智胜, 副教授, 博士, 主要从事光呼吸调控机理研究, E-mail: zzsheng@scau.edu.cn; 通信作者: 彭新湘, 研究员, 博士, 主要从事光合作用与植物逆境生物学研究, E-mail: xpeng@scau.edu.cn

基金项目: 国家重点研发计划 (2020YFA0907600); 岭南现代农业科学与技术广东省实验室科研项目 (NZ2021004); 国家自然科学基金 (32070265)

大幅度增加才能满足人们对粮食的需求。大量研究证明,作物产量提升将主要依赖于生物量的提高,而生物量与光合效率密切相关。植物通过光合作用将光能转化为生物量的效率仅为 1% 左右,距理论效率值 (5%~6%) 还有很大的提升空间^[1],因此以提高作物光合效率为中心的育种技术,被认为是新一轮的“绿色革命”^[2-4]。

提高作物光合作用效率可以从 2 个方面着手:一是优化光能的吸收、传递和转化效率,包括优化捕光天线系统、提高电子在光合膜上的传递效率和转化效率等^[4-7];二是提高光合碳同化效率,包括提高核酮糖-1,5-二磷酸羧化/加氧酶 (Ribulose-1,5-bisphosphatecarboxylase/oxygenase, Rubisco) 羧化活性、引入 C₄ 光合作途径和降低光呼吸等。本文将聚焦作物光合碳同化方面的研究进展。

1 改良 Rubisco, 提升其羧化效率

1.1 Rubisco 的进化和催化特性

Rubisco 是地球上含量最丰富的酶,其催化 CO₂ 的固定反应是地球生物圈有机碳的主要来源。在 35~40 亿年前, Rubisco 就已在一些远古光合细菌中出现,那时地球大气中 O₂ 体积分数仅为现在的 1/10¹⁴,而 CO₂ 体积分数是现在的 100 多倍^[8-9]。也就是说, Rubisco 是从没有 O₂ 选择压的环境中进化而来,其活性中心特异性识别 CO₂ 与 O₂ 的能力差^[10-11]。随着蓝藻 *Cyanobacteria* 光合作用 (约 30 亿年前) 和氧气大爆发事件 (Great oxidation event, 约 25 亿年前) 的出现^[12-13],大气中 CO₂ 体积分数逐渐下降而 O₂ 体积分数逐渐上升, Rubisco 底物特异性差、羧化效率低的缺陷随之暴露出来。尽管在漫长的进化过程中, Rubisco 部分改善了对 CO₂ 的选择能力,但仍不可避免地保留了可观的加氧反应活性。

已知的 Rubisco 主要有 3 种类型 (I 型、II 型和 III 型),高等植物的 Rubisco 以 I 型为主,一般是由 8 个大亚基 (RbcL) 和 8 个小亚基 (RbcS) 构成的 L₈S₈ 蛋白寡聚体^[14]。不同光养生物 Rubisco 催化 CO₂ 羧化反应的转换数 (K_{cat}^c) 存在较大差异,介于 2~10 s⁻¹ 之间,是自然界目前已知转换数最低的酶^[15],这导致 Rubisco 羧化反应成为了光合碳同化过程的关键限速步骤^[16-17]。不同光养生物 Rubisco 的特异性常数 ($S_{c/o}$) 表示对 CO₂ 和 O₂ 的偏好程度,也呈现显著差异,介于 10~240 mol/mol 之间^[18-20]。如何有效提高作物 Rubisco 的 K_{cat}^c 和 $S_{c/o}$,是当前改良 Rubisco 以提升羧化效率的关注焦点。

1.2 提高 Rubisco 含量和活化水平

极低的催化速率导致植物需要大量合成 Rubisco 来维持正常的光合作用,植物叶片中 Rubisco 含量一般占总蛋白含量的 20%~30%,在一些特定生长条件下可达到 50%^[15]。增加作物中 Rubisco 含量可以提高植株整体光合速率。例如,在水稻中过表达 *OsRbcL*、*OsRbcS* 以及相应的 Rubisco 组装伴侣蛋白基因 *OsRAFI*,转基因水稻叶片中 Rubisco 含量增加 90%~110%,在中、高氮种植条件下光合速率提升约 14%,植株增产 20%~28%;但在低氮种植条件下 Rubisco 含量、光合速率与产量均未表现出明显优势^[21]。在玉米中过表达 *ZmRbcL*、*ZmRbcS* 与 *ZmRAFI* 基因,也可使转基因玉米维管束鞘细胞中 Rubisco 含量上升 30%,CO₂ 同化速率提高约 15%^[22]。

Rubisco 由 Rubisco 活化酶 (Rubisco activase, RCA) 催化活化,其活化程度显著影响羧化反应活性。正常生长条件下,C₃ 植物中约 80% 的 Rubisco 可被 RCA 激活,但高温、干旱等逆境条件抑制 RCA 的催化功能,导致 Rubisco 羧化活性和光合效率下降^[23]。在 C₃ 植物中提高 RCA 表达量或者引入热稳定性更好的 RCA,可显著提高 Rubisco 的活化程度和催化速率,从而提升植株的整体光合速率和产量^[24-25]。

1.3 改良 Rubisco 催化特性

相比 C₃ 植物,C₄ 植物的 Rubisco 具有更高的羧化速率,若能将 C₄ 植物的 Rubisco 亚基导入 C₃ 植物或者替换 C₃ 植物中的 Rubisco 亚基,理论上可以显著增加植物的羧化效率,进行作物的高光效改造^[26]。

水稻有 5 个 RbcS 编码基因 (*OsRbcS1*~*5*),叶片中的 RbcS 由 *OsRbcS2*~*5* 负责编码。*OsRbcS1* 主要在叶鞘、根以及花粉等组织中表达,其编码的 RbcS1 蛋白序列与叶片的 RbcS 序列相似性较低,基因家族进化分析结果也显示 *OsRbcS1* 与 *OsRbcS2*~*5* 分属不同的亚家族,*OsRbcS1* 与葡萄 *Vitis vinifera* L. 和杨树 *Populus* L. 的 RbcS 序列更相似^[27]。在水稻叶片中表达 *OsRbcS1*,转基因植株叶片中的 Rubisco 全酶包含原本的 RbcS 以及引入的 RbcS1 这 2 种小亚基,该杂合型的 Rubisco 表现出更高的羧化速率,其 K_{cat}^c 为野生型的 1.2~1.5 倍,但对 CO₂ 的亲合力与特异性下降 (即 $S_{c/o}$ 下降),从而导致转基因水稻在正常大气中光合效率并无明显提升^[27]。

在水稻中引入 C₄ 作物高粱 *Sorghum bicolor*

的 *SbRbcS* 小亚基基因, 然后利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术敲除转基因水稻的 *RbcS2~5*, 最终获得工程水稻植株, 其叶片 Rubisco 具有由水稻 RbcL 和高粱 *SbRbcS* 组成的杂合型结构。该工程植株中 Rubisco 羧化速率明显上升, 不过也表现出对 CO_2 亲和力及特异性下降的问题, 只有在高体积分数 CO_2 条件下, 该水稻材料才表现出更高的 CO_2 同化速率^[28]。值得注意的是, 上述杂合型 Rubisco 全酶的羧化速率 (K_{cat}) 与 CO_2 亲和力 (K_c , $S_{c/o}$) 所呈现的负相关关系, 在不同光合生物自然变异的 Rubisco 中也较常见^[1, 29-30], 这也表明现阶段通过遗传改良 Rubisco 来提高 C_3 作物羧化效率, 仍面临着较大的理论和实践问题^[1, 31]。

低等光合生物 (比如蓝藻和红藻 Rhodophyta) Rubisco 的碳同化效率一般高于 C_3 植物, 但是其 Rubisco 大亚基 RbcL 在 C_3 植物中一直存在表达不理想的问题。Lin 等^[32] 构建了蓝藻大、小亚基及其装配蛋白的多基因表达载体, 通过质体转化用多基因替换了烟草自身 *NtRbcL* 基因, 获得的转基因烟草可组装具有活性的蓝藻 Rubisco 全酶, 在高体积分数 CO_2 条件下 (φ 为 0.9%), 该 Rubisco 具有更高的羧化活性和 CO_2 同化速率, 研究为利用低等光合生物 Rubisco 改造 C_3 作物提供了范例。

2 将 C_4 光合途径引入 C_3 作物, 建立碳浓缩机制

提高作物 CO_2 同化效率, 一方面可以通过改良 Rubisco 催化特性, 另一方面可以通过提高 Rubisco 周围 CO_2 体积分数, 以此形成碳浓缩机制 (Carbon-concentrating mechanism, CCM)。自然界中, C_4 植物光合作用是典型的 CCM。

2.1 C_4 植物的光合特征

C_4 植物具有较高的 CO_2 同化能力和光合作用效率, 地球上 250 000 种植物中只有不到 3% 的 C_4 植物, 但它们产生了 23% 的生物量^[33]。因此, 在 C_3 植物中引入 C_4 光合作用途径是当前的研究热点之一。2008 年, 国际水稻研究所 (IRRI) 启动了国际“ C_4 水稻”项目 (<http://irri.org/c4rice>), 期望通过遗传改造创制高光效的 C_4 水稻。

C_4 植物的高效光合作用主要源于其独特的叶片花环结构 (Kranz anatomy) 和两型细胞 CO_2 同化途径^[34]。花环结构特点是叶脉相对密集、维管束鞘细胞和叶肉细胞围绕叶脉形成同心层、维管束鞘细胞在内层而叶肉细胞在外层 (图 1), 这种解剖结构可最大化叶中 2 类细胞间的相邻界面, 也使参与 C_4 光合作用的酶区室化, 为其 CO_2 高效同化提供结构基础^[35]。

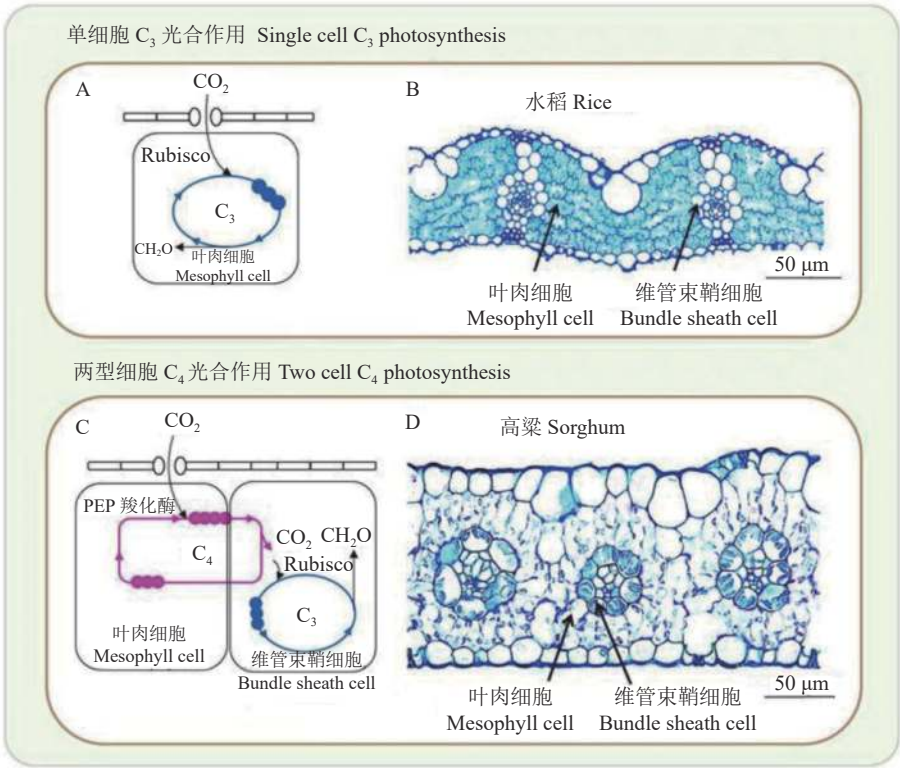


图 1 C_3 与 C_4 植物光合作用比较^[35]

Fig. 1 Comparison of the photosynthesis pathways of C_3 and C_4 plants

与 C₃ 植物单细胞光合作用不同, 大多数 C₄ 植物光合作用发生在 2 种类型细胞中 (图 1)。C₄ 植物碳的固定发生在叶肉细胞, 由磷酸烯醇式丙酮酸 (Phosphoenolpyruvate, PEP) 羧化酶催化 PEP 羧化反应产生四碳化合物草酰乙酸, 后者转化为苹果酸或者天冬氨酸, 通过扩散进入维管束鞘细胞, 然后释放出 CO₂。维管束鞘细胞内 CO₂ 的释放有 3 种不同方式, 分别由 NADP-苹果酸酶 (NADP-dependent malic enzyme, NADP-ME)、NAD-苹果酸酶 (NAD-ME) 和 PEP 羧激酶 (PEP carboxykinase, PEPCK) 催化^[35], 大多数 C₄ 农作物都是 NADP-ME 类型^[36]。维管束鞘细胞内释放的 CO₂ 在 Rubisco 周围形成 CCM, 有利于抑制 Rubisco 加氧反应和光呼吸, 增强 CO₂ 同化反应。

2.2 创制 C₄ 水稻

C₄ 作物 (比如玉米、高粱) 的光能利用效率比 C₃ 作物 (比如水稻、小麦) 高出 50% 以上, 在水稻中导入 C₄ 光合作用机制有望大幅度提高作物产量^[37-38]。然而, 创制 C₄ 水稻将会是一个逐步和长期的过程, 需要 2 个方面的突破性工作: 一是在水稻中导入完整的 C₄ 光合生物化学过程, 二是在水稻叶片中制造双细胞层的花环结构, 其中关键的因素包括改变植物组织解剖结构、建立维管束鞘形态、以及确保光合酶在不同细胞中的特异性表达等^[35, 39-40]。

2.2.1 水稻中引入 C₄ 光合生物化学途径 在早期的尝试中, 一些 C₄ 光合循环中起关键作用的酶, 比如 PEPCK、磷酸丙酮酸二激酶 (Pyruvate orthophosphate dikinase, PPDK)、NADP-苹果酸脱氢酶 (NADP-malate dehydrogenase, NADP-MDH) 和 NADP-ME, 以单个或者组合的形式在水稻中过量表达, 大部分转化事件中水稻叶片光合速率并没有明显提高, 而部分报道增加了光合速率和产量的转化水稻, 也并非形成类似 C₄ 植物的 CCM 机制^[41-43]。显然, 单靠表达几个 C₄ 途径的酶并不能产生 C₄ 水稻, 在水稻中导入完整的 C₄ 光合生物化学过程已逐步成为共识, 这需要解决以下几个方面的问题:

首先是鉴定并创制 C₄ 水稻所需的酶和蛋白并进行功能解析。C₄ 光合循环包括碳酸酐酶 (Carbonic anhydrase, CA)、PEPCK、MDH、NADP-ME 和 PPDK, 以及协助中间代谢产物转运的转运蛋白, 比如 OMT1、PPT、DiT2 和 NHD1 等^[44]。需要指出的是, 大部分 C₄ 光合途径的酶在水稻中存在相应的异构体, 并承担特定的生理功能。外源酶的导入可能破坏水稻正常代谢, 造成负面生长表型^[43]。例如, 水稻中过量表达玉米 NADP-ME 会造成光抑制、植

株褪绿和生长缓慢等表现, 而过量表达水稻源 NADP-ME 不会影响光合作用和植株生长^[42, 45-46]。因此, 解析引入酶的表达和动力学特征是创制 C₄ 水稻的关键一步。

其次是确保引入酶在特定的细胞类型中表达。创建 C₄ 光合碳循环需要 CA、PEPCK、MDH 和 PPDK 等蛋白在水稻叶肉细胞表达, 而 NADP-ME 在维管束鞘细胞表达。筛选水稻细胞特异性表达的启动子和关键顺式元件至关重要^[43-44]。例如, 玉米 PPDK 只在叶肉细胞中表达, 而利用玉米自身启动子驱动 PPDK 在水稻中过量表达, 在水稻叶肉和维管束鞘细胞中均检测到玉米 PPDK 的表达^[43]。

最后是多基因协同表达。如上所述, 引入完整的 C₄ 途径需要至少表达 5 个功能基因和一些转运蛋白。传统的单基因转化和杂交技术显然很难满足这个要求, 一是获得多基因纯合表达株系将耗费很长的时间, 二是不同来源基因协同表达的问题。近年来, 多基因组装技术和合成生物学的发展为解决此类问题提供了路径^[40, 47-48]。

2.2.2 水稻中创制 C₄ 花环结构 创制 C₄ 水稻另一方面的尝试是在水稻中创建花环结构。然而, 花环结构形成的分子遗传基础仍知之甚少, 鲜见鉴定控制 C₄ 叶片解剖结构的基因^[44, 49]。当前的研究进展主要体现在改变水稻叶片维管束鞘形态和叶脉密度。

水稻有维管束鞘细胞, 但其体积小、叶绿体含量很少。在水稻中表达玉米转录因子 GOLDEN2 或 GOLDEN2-LIKE 基因, 可诱导水稻维管束鞘细胞中的叶绿体和线粒体发育、叶肉细胞与维管束鞘细胞的胞间连丝增加, 这些特征体现了原初花环结构 (Proto-Kranz anatomy) 的特征^[50-52]。

为改变水稻叶片结构, 有研究将来自玉米的 60 个发育调节因子在水稻中分别单独表达, 但没有 1 个基因在水稻中诱导形成类似 C₄ 的叶脉形态^[53]。最近一项研究表明, 在水稻中过量表达 NB-LRR (Nucleotide-binding and leucine-rich repeat) 基因可减少叶脉间叶肉细胞数量、增加叶脉密度^[54], 这为通过基因工程创造 C₄ 水稻提供了线索。

3 重构光呼吸代谢途径, 降低光呼吸碳损耗

除了利用 C₄ 植物的 CCM 来改善作物光合效率, 近年来, 科学家通过重构光呼吸代谢途径, 将其在线粒体中的 CO₂ 部分分流至叶绿体中释放, 构建以光呼吸为引擎的 CCM, 已取得较好的进展。

3.1 光呼吸重构的可行性和必要性

Rubisco 催化加氧反应生成 2-磷酸乙醇酸 (2-Phosphoglycolic acid, 2-PG)。2-PG 是有毒代谢产物, 其微量积累强烈抑制卡尔文循环中的磷酸丙糖异构酶 (Triose-phosphate isomerase, TPI) 和景天庚酮糖-1,7-二磷酸酶 (Sedoheptulose-1,7-bisphosphatase, SBPase) 等酶的活性, 从而抑制核酮糖-1,5-二磷酸 (RuBP) 的再生与淀粉合成^[55-56]。植物进化出的光呼吸代谢途径可使 2 分子 2-PG 再生为 1 分子 3-磷酸甘油酸 (3-Phosphoglyceric acid, 3-PGA), 后者进入卡尔文循环。光呼吸代谢可解毒 2-PG, 同时实现 75% 有机碳的回收, 这被认为是光呼吸最重要的生物学功能^[57]。然而, 光呼吸是一个消耗物质和能量的代谢过程。C₃ 植物中光呼吸是仅次于光合作用的第二大代谢流, 正常生长条件下可损耗光合固定碳的 25%~30%, 在高温、高光或干旱等逆境条件下可高达 50%^[58-60]。

鉴于光呼吸的高耗能特性, 重构光呼吸代谢途径被认为是提高植物光合效率的一个关键突破口, 但也存在不少争议与质疑, 主要体现在 2 个方面: 光呼吸是经过漫长进化 (约 25 亿年) 保留下来的一个具有普遍性的代谢途径, 那么其改造优化的难度可能很大, 因此可行性存疑; 当前大气中 CO₂ 体积分数在不断上升, 过去的 100 年间上升了 0.01%, 已抑制了 25% 左右的光呼吸^[61], 如果未来大气中 CO₂ 体积分数持续上升, 改造优化光呼吸就不具有现实的必要性。

针对可行性质疑, 可以依据光呼吸进化历程加以解答。光呼吸是因为大气中 O₂ 体积分数上升而进化出现的, 是以适应环境生存为主要目标的一个拯救性代谢途径。从理论逻辑出发, 光呼吸途径对植物光合作用而言未必是最优的方案。因此, 通过现代技术手段改造优化光呼吸代谢提高植物光合效率具有可行性, 至少在正常生长环境下的有效性是可期的。对于现实性质疑, 科学家通过大量的模型模拟分析认为, 即使在未来气候变化趋势下大气中 CO₂ 体积分数达到预测的最高水平, 降低植物光呼吸仍可望使光合效率提高 12%~55%^[59]。其主要原因是 CO₂ 体积分数升高也会导致环境温度升高, 高温一方面降低 Rubisco 对 CO₂ 的亲合力, 另一方面也降低 CO₂ 在细胞介质中的溶解度, 这 2 个方面的因素对光呼吸的促进作用可基本抵消环境 CO₂ 体积分数升高对光呼吸的抑制效果^[59]。

3.2 光呼吸重构的路径

重构光呼吸代谢的设计目标有 2 个: 一是截流

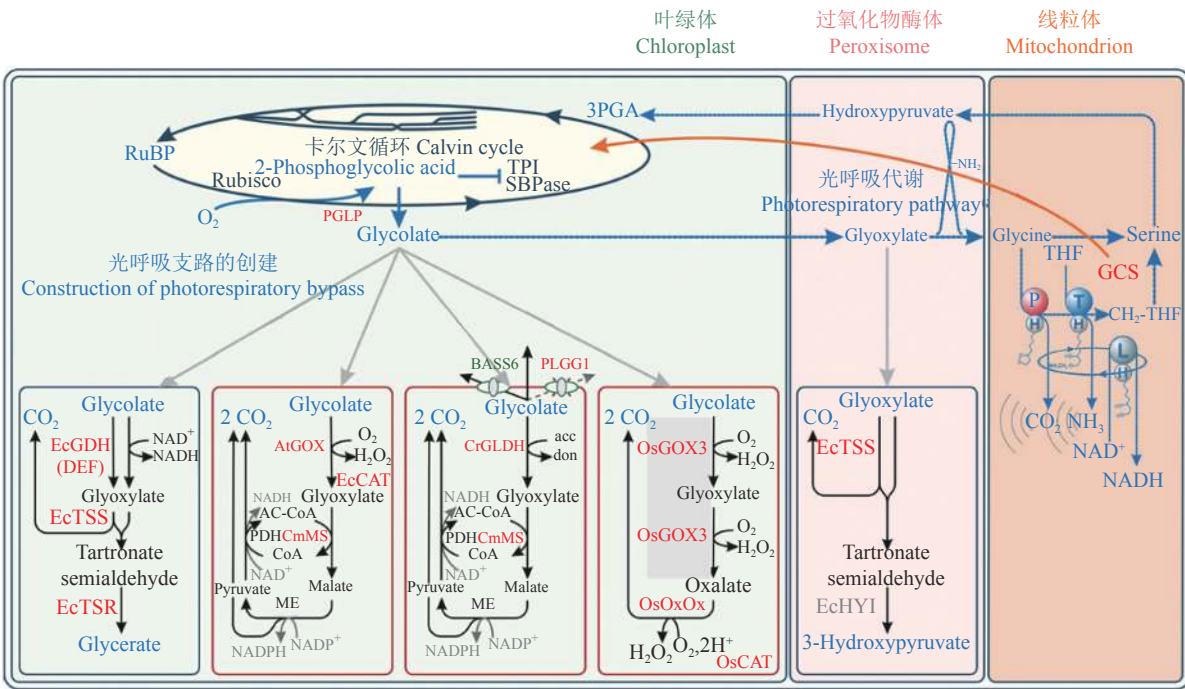
天然光呼吸代谢, 降低线粒体中甘氨酸脱羧反应导致的 CO₂ 与 NH₃ 的释放, 从而降低光呼吸碳与能量损耗; 二是将光呼吸中的 CO₂ 分流一部分至叶绿体中释放, 以此构建一个以光呼吸为引擎的光合 CO₂ 浓缩机制, 从而抑制光呼吸和提高光合效率。目前, 已报道能显著提高植物光合效率、生物量与产量的光呼吸支路一共有 4 条 (图 2)。

最早的一条支路是将大肠埃希菌中催化甘油酸途径的乙醇酸脱氢酶 (Glycolate dehydrogenase, EcGDH)、乙醛酸聚醛酶 (Glyoxylate carboligase, EcGCL) 和羟基丙二酸半醛还原酶 (Tartronate-semialdehyde reductase, EcTSR) 的基因导入拟南芥并使其定位于叶绿体中 (简称 GGT 支路)^[62]。在这 3 个酶的作用下, 叶绿体中直接架通了从乙醇酸到甘油酸的反应转化桥梁, 形成了一条光呼吸代谢捷径 (图 2)。结果显示, 转基因拟南芥净光合速率与生物量均显著提高、光呼吸降低, 但上述表型性状仅出现在短日照和低光照条件下^[62]。随后这一支路的有效性在亚麻荠 *Camelina sativa*、马铃薯 *Solanum tuberosum* L.、烟草 *Nicotiana tabacum*、水稻 *Oryza sativa* L. 等不同植物中得到了进一步的证实^[63-67]。

第 2 条支路将拟南芥乙醇酸氧化酶 (Glycolate oxidase, AtGOX)、南瓜苹果酸合酶 (Malate synthase, CmMS) 和大肠埃希菌过氧化氢酶 (Catalase, EcCAT) 导入拟南芥并定位于叶绿体中 (简称 GMC 支路)^[68], 整个途径是由导入的 3 个酶与植物内源的酶共同作用完成, 将光呼吸乙醇酸先后转化为乙醛酸和苹果酸, 苹果酸在内源酶的作用下最终完全氧化为 CO₂ (图 2)。结果显示, 转基因植株的净光合速率和生物量均显著提高, 但上述表型性状同样只出现在短日照和低光照条件下, 在高光条件下植株出现黄化表型^[68]。

第 3 条支路类同于 GMC 支路, 区别在于莱茵衣藻乙醇酸脱氢酶 (CrGLDH) 替代了 GMC 支路中的 AtGOX 和 EcCAT, 同时采用 RNA 干扰技术下调叶绿体内膜上乙醇酸转运蛋白 PLGG1 的表达, 以减少乙醇酸运出叶绿体, 从而增强 GMC 支路的分流量 (简称 GMC+Ri 支路)。结果显示, 转基因烟草在大田种植条件下生物量可增加 40%^[66]; 同时, 高温条件下转基因株系表现出更强的热稳定性, 光合性能和田间生物量显著高于对照材料^[69]。

第 4 条支路是将水稻自身的乙醇酸氧化酶 (OsGLO3)、草酸氧化酶 (Oxalate oxidase, OsOXO3) 和过氧化氢酶 (OsCATC) 导入水稻并定



红色字体表示在叶绿体中过表达的酶；Ac-CoA：乙酰辅酶 A；CmMS：南瓜苹果酸酶；CrGLDH：单亚基莱茵衣藻乙醇酸脱氢酶；EcGDH (DEF)：多亚基大肠埃希菌乙醇酸脱氢酶；EcTSR：羟基丙二酸半醛还原酶；ME：内源苹果酸酶；OsGOX3：双功能乙醇酸氧化酶；OsOxOx：草酸氧化酶；PDH：内源丙酮酸脱氢酶；PLGG1：叶绿体乙醇酸/甘油酸转运体

Overexpressed enzymes in chloroplast are shown in red; Ac-CoA: Acetyl-CoA; CmMS: *Cucurbita moschata* malate synthase; CrGLDH: *Chlamydomonas reinhardtii* single-protein glycolate dehydrogenase; EcGDH(DEF): Multi-subunit glycolate dehydrogenase; EcTSR: Tartronate-semialdehyde reductase; ME: Endogenous malate enzyme; OsGOX3: Bifunctional glycolate oxidase; OsOxOx: Oxalate oxidase; PDH: Endogenous pyruvate dehydrogenase; PLGG1: Plastidglycolate/glycerate translocator 1

图 2 以提高光合效率为目标的光呼吸支路改造策略^[7, 13, 62-68]

Fig. 2 Strategies of manipulating photorespiration pathways aiming at improving photosynthetic rate

位至叶绿体中 (简称 GOC 支路)^[65]。GOC 支路使乙醇酸直接在叶绿体内被催化为草酸并最终完全分解为 CO₂，从而形成 CCM。结果显示，GOC 水稻光合效率、生物量和籽粒产量均有显著提高。同时，GOC 水稻叶片与籽粒中的氮含量也显著升高，这意味着分流光呼吸代谢可能减少了氮损耗，从而提高了植物的氮素利用效率^[65]。

计量分析 4 条支路中的碳与能量，GGT 支路具有明显优势，甚至可能优于天然光呼吸途径，因为其不但可回收 75% 的碳重新进入光合碳循环，还伴随有还原力的产生；而其他 3 条支路都是将乙醇酸完全氧化为 CO₂，按照代谢模型的分析，GMC 与 GOC 支路均不应具有高光效方面的优势^[70]。但也有科学家认为，只要光呼吸 CO₂ 分流在叶绿体内释放，势必会提高植物的光合效率^[71]。尽管光呼吸支路改造取得了一些实质性的进展，但光呼吸重构提升光合效率的机理及最优化方案还有待进一步的研究。

4 展望

越来越多的研究开始关注植物光合碳同化的改善，以期提高 C₃ 作物的产量。除了文中所综述的

改造 Rubisco、创制 C₄ 光合机制和重构光呼吸代谢等，近些年来，改进光合碳同化在其他方面也有大量的研究，包括优化表达光合作用关键酶、导入蓝细菌和绿藻 CCM、创建 C₂ 光合作用、创建单细胞 C₄ 光合作用机制等^[39-40, 72]。

目前，对光合碳同化的改造途径大都涉及多个基因的操作。植物代谢网络是一个复杂的系统，多个基因的导入可能造成难以预测的影响。比如，重构光呼吸支路提高了植物的光合效率和生物量，然而光呼吸代谢的复杂性，尤其是在目前对光呼吸代谢的调控机制知之甚少的情况下，这些增产效应是否与光呼吸的截留直接相关还缺乏相关证据^[40, 62]。因此，进一步解析基因功能和代谢网络、多种策略组合将会是未来改进的关键所在。另一方面，在植物中过量表达卡尔文循环 (比如 SBPase) 和光呼吸循环 (比如 GDC-H、GDC-L) 中的单个关键酶，也会增强植物光合速率、生物量和作物产量^[73-76]。最近报道在水稻中过量表达转录因子 OsDREB1C，可协同调节光合作用和氮素利用的多个基因，水稻产量增幅达 40% 以上^[77]。因此，进一步挖掘光合碳同化的限速因子和调控基因，或许是近期更加值得关注的方向。

参考文献:

[1] ZHU X, LONG S P, ORT D R. Improving photosynthetic efficiency for greater yield[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2010, 61(1): 235-261.

[2] ZHU X, LONG S P, ORT D R. What is the maximum efficiency with which photosynthesis can convert solar energy into biomass?[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2008, 19(2): 153-159.

[3] 程建峰, 沈允钢. 作物高光效之管见[J]. *作物学报*, 2010, 36(8): 1235-1247.

[4] LONG S P, MARSHALL-COLON A, ZHU X. Meeting the global food demand of the future by engineering crop photosynthesis and yield potential[J]. *Cell*, 2015, 161(1): 56-66.

[5] 张立新, 卢从明, 彭连伟, 等. 利用合成生物学原理提高光合作用效率的研究进展[J]. *生物工程学报*, 2017, 33(3): 486-493.

[6] ORT D R, ZHU X, MELIS A. Optimizing antenna size to maximize photosynthetic efficiency[J]. *Plant Physiology*, 2011, 155(1): 79-85.

[7] SOUTH P F, CAVANAGH A P, LOPEZ-CALCAGNO P E, et al. Optimizing photorespiration for improved crop productivity[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2018, 60(12): 1217-1230.

[8] BUICK R. When did oxygenic photosynthesis evolve?[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 2008, 363(1504): 2731-2743.

[9] KASTING J F, HOWARD M T. Atmospheric composition and climate on the early Earth[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2006, 361(1474): 1733-1742.

[10] TABITA F R, HANSON T E, LI H, et al. Function, structure, and evolution of the Rubisco-like proteins and their Rubisco homologs[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2007, 71(4): 576-599.

[11] BADGER M R, BEK E J. Multiple Rubisco forms in proteobacteria: Their functional significance in relation to CO₂ acquisition by the CBB cycle[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2008, 59(7): 1525-1541.

[12] PETERHANSEL C, HORST I, NIESSEN M, et al. Photorespiration[J]. *The Arabidopsis Book*, 2010, 8: e130.

[13] FERNIE A R, BAUWE H. Wasteful, essential, evolutionary stepping stone? The multiple personalities of the photorespiratory pathway[J]. *The Plant Journal*, 2020, 102(4): 666-677.

[14] IÑIGUEZ C, CAPÓ BAUÇA S, NIINEMETS Ü, et al. Evolutionary trends in Rubisco kinetics and their co-evolution with CO₂ concentrating mechanisms[J]. *The Plant Journal*, 2020, 101(4): 897-918.

[15] GALMES J, KAPRALOV M V, ANDRALOJC P J, et al. Expanding knowledge of the Rubisco kinetics variability in plant species: Environmental and evolutionary trends[J]. *Plant Cell and Environment*, 2014, 37(9): 1989-2001.

[16] WHITNEY S M, HOUTZ R L, ALONSO H. Advancing our understanding and capacity to engineer nature's CO₂-sequestering enzyme, Rubisco[J]. *Plant Physiology*, 2011, 155(1): 27-35.

[17] BUSCH F A. Photorespiration in the context of Rubisco biochemistry, CO₂ diffusion and metabolism[J]. *The Plant Journal*, 2020, 101(4): 919-939.

[18] YOUNG J N, HEUREUX A M, SHARWOOD R E, et al. Large variation in the Rubisco kinetics of diatoms reveals diversity among their carbon-concentrating mechanisms[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2016, 67(11): 3445-3456.

[19] FLAMHOLZ A I, PRYWES N, MORAN U, et al. Revisiting trade-offs between Rubisco kinetic parameters[J]. *Biochemistry*, 2019, 58(31): 3365-3376.

[20] HERMIDA-CARRERA C, KAPRALOV M V, GALMES J. Rubisco catalytic properties and temperature response in crops[J]. *Plant Physiology*, 2016, 171(4): 2549-2561.

[21] DONG-KYUNG Y, KEIKI I, MAO S, et al. Transgenic rice overproducing Rubisco exhibits increased yields with improved nitrogen-use efficiency in an experimental paddy field[J]. *Nature Food*, 2020, 1: 134-139.

[22] SALESSE-SMITH C E, SHARWOOD R E, BUSCH F A, et al. Overexpression of Rubisco subunits with RAF1 increases Rubisco content in maize[J]. *Nature Plants*, 2018, 4(10): 802-810.

[23] MUELLER-CAJAR O. The diverse AAA⁺ machines that repair inhibited Rubisco active sites[J]. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 2017, 4: 31.

[24] SCAFARO A P, ATWELL B J, MUYLAERT S, et al. A thermotolerant variant of Rubisco activase from a wild relative improves growth and seed yield in rice under heat stress[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 1663.

[25] KUMAR A, LI C, PORTIS A J. *Arabidopsis thaliana* expressing a thermostable chimeric Rubisco activase exhibits enhanced growth and higher rates of photosynthesis at moderately high temperatures[J]. *Photosynthesis Research*, 2009, 100(3): 143-153.

[26] ZHU X G, PORTIS A R, LONG S P. Would transformation of C₃ crop plants with foreign Rubisco increase productivity? A computational analysis extrapolating from kinetic properties to canopy photosynthesis[J]. *Plant Cell and Environment*, 2004, 27(2): 155-165.

[27] MORITA K, HATANAKA T, MISOO S, et al. Unusual small subunit that is not expressed in photosynthetic cells alters the catalytic properties of Rubisco in rice[J]. *Plant Physiology*, 2014, 164(1): 69-79.

[28] MATSUMURA H, SHIOMI K, YAMAMOTO A, et al. Hybrid Rubisco with complete replacement of rice Rubisco small subunits by sorghum counterparts confers C₄ plant-like high catalytic activity[J]. *Molecular Plant*,

- 2020, 13(11): 1570-1581.
- [29] TCHERKEZ G G, FARQUHAR G D, ANDREWS T J. Despite slow catalysis and confused substrate specificity, all ribulose biphosphate carboxylases may be nearly perfectly optimized[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006, 103(19): 7246-7251.
- [30] ISHIKAWA C, HATANAKA T, MISOO S, et al. Screening of high k_{cat} Rubisco among poaceae for improvement of photosynthetic CO_2 assimilation in rice[J]. Plant Production Science, 2009, 12(3): 345-350.
- [31] CARMO-SILVA E, SCALES J C, MADGWICK P J, et al. Optimizing Rubisco and its regulation for greater resource use efficiency[J]. Plant, Cell and Environment, 2015, 38(9): 1817-1832.
- [32] LIN M T, OCCHIALINI A, ANDRALOJC P J, et al. A faster Rubisco with potential to increase photosynthesis in crops[J]. Nature, 2014, 513(7519): 547-550.
- [33] SAGE R F, SAGE T L, KOCACINAR F. Photorespiration and the evolution of C_4 photosynthesis[M]. Annual Review of Plant Biology, 2012, 63: 19-47.
- [34] VON CAMMERER S, QUICK W P, FURBANK R T. The development of C_4 rice: Current progress and future challenges[J]. Science, 2012, 336(6089): 1671-1672.
- [35] GOWIK U, WESTHOFF P. The path from C_3 to C_4 photosynthesis[J]. Plant Physiology, 2011, 155(1): 56-63.
- [36] VON CAEMMERER S, FURBANK R T. Strategies for improving C_4 photosynthesis[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2016, 31: 125-134.
- [37] HIBBERD J M, SHEEHY J E, LANGDALE J A. Using C_4 photosynthesis to increase the yield of rice-rationale and feasibility[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2008, 11(2): 228-231.
- [38] KAJALA K, COVSHOFF S, KARKI S, et al. Strategies for engineering a two-celled C_4 photosynthetic pathway into rice[J]. Journal of Experimental Botany, 2011, 62(9): 3001-3010.
- [39] SCHULER M L, MANTEGAZZA O, WEBER A P. Engineering C_4 photosynthesis into C_3 chassis in the synthetic biology age[J]. The Plant Journal, 2016, 87(1): 51-65.
- [40] KUBIS A, BAR-EVEN A. Synthetic biology approaches for improving photosynthesis[J]. Journal of Experimental Botany, 2019, 70(5): 1425-1433.
- [41] KU M S, AGARIE S, NOMURA M, et al. High-level expression of maize phosphoenolpyruvate carboxylase in transgenic rice plants[J]. Nature Biotechnology, 1999, 17(1): 76-80.
- [42] TANIGUCHI Y, OHKAWA H, MASUMOTO C, et al. Overproduction of C_4 photosynthetic enzymes in transgenic rice plants: An approach to introduce the C_4 -like photosynthetic pathway into rice[J]. Journal of Experimental Botany, 2008, 59(7): 1799-1809.
- [43] MIYAO M, MASUMOTO C, MIYAZAWA S, et al. Lessons from engineering a single-cell C_4 photosynthetic pathway into rice[J]. Journal of Experimental Botany, 2011, 62(9): 3021-3029.
- [44] ERMAKOVA M, DANILA F R, FURBANK R T, et al. On the road to C_4 rice: Advances and perspectives[J]. The Plant Journal, 2020, 101(4): 940-950.
- [45] TSUCHIDA H, TAMAI T, FUKAYAMA H, et al. High level expression of C_4 -specific NADP-malic enzyme in leaves and impairment of photoautotrophic growth in a C_3 plant, rice[J]. Plant and Cell Physiology, 2001, 42(2): 138-145.
- [46] FAHNENSTICH H, SAIGO M, NIESSEN M, et al. Alteration of organic acid metabolism in Arabidopsis overexpressing the maize C_4 NADP-malic enzyme causes accelerated senescence during extended darkness[J]. Plant Physiology, 2007, 145(3): 640-652.
- [47] BATISTA-SILVA W, DA FONSECA-PERETRA P, MARTINS A O, et al. Engineering improved photosynthesis in the era of synthetic biology[J]. Plant Communications, 2020, 1(2): 100032.
- [48] 盛阳阳, 徐秀美, 张巧红, 等. 光合作用碳同化的合成生物学研究进展[J/OL]. 合成生物学, [2022-09-06]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/10.1687.q.20220630.1823.002.html>.
- [49] 许大全, 朱新广. 创造“玉米稻”: 禾谷作物高产优质的一个新战略[J]. 植物生理学报, 2020, 56(7): 1313-1320.
- [50] WANG P, KHOSHRAVESH R, KARKI S, et al. Re-creation of a key step in the evolutionary switch from C_3 to C_4 leaf anatomy[J]. Current Biology, 2017, 27(21): 3278-3287.
- [51] LI X, WANG P, LI J, et al. Maize *GOLDEN2-LIKE* genes enhance biomass and grain yields in rice by improving photosynthesis and reducing photoinhibition[J]. Communications Biology, 2020, 3(1): 151.
- [52] YEH S, LIN H, CHANG Y, et al. Maize Golden2-like transcription factors boost rice chloroplast development, photosynthesis, and grain yield[J]. Plant Physiology, 2022, 188(1): 442-459.
- [53] WANG P, KARKI S, BISWAL A K, et al. Candidate regulators of early leaf development in maize perturb hormone signaling and secondary cell wall formation when constitutively expressed in rice[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 4535.
- [54] LO S F, CHATTERJEE J, BISWAL A K, et al. Closer vein spacing by ectopic expression of nucleotide-binding and leucine-rich repeat proteins in rice leaves[J]. Plant Cell Reports, 2022, 41(2): 319-335.
- [55] LI J, WERADUWAGE S M, PREISER A L, et al. A cytosolic bypass and G6P shunt in plants lacking peroxisomal hydroxypyruvate reductase[J]. Plant Biology, 2019, 180(2): 783-792.
- [56] FLUGEL F, TIMM S, ARRIVAUULT S, et al. The photorespiratory metabolite 2-phosphoglycolate regulates

lates photosynthesis and starch accumulation in *Arabidopsis*[J]. *Plant Cell*, 2017, 29(10): 2537-2551.

[57] HAGEMANN M, BAUWE H. Photorespiration and the potential to improve photosynthesis[J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2016, 35: 109-116.

[58] BAUWE H, HAGEMANN M, FERNIE A R. Photorespiration: Players, partners and origin[J]. *Trends in Plant Science*, 2010, 15(6): 330-336.

[59] WALKER B J, VANLOOCCKE A, BERNACCHI C J, et al. The costs of photorespiration to food production now and in the future[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2016, 67(1): 107-129.

[60] 张智胜, 彭新湘. 光呼吸的功能及其平衡调控[J]. *植物生理学报*, 2016, 52(11): 1692-1702.

[61] EHLERS I, AUGUSTI A, BETSON T R, et al. Detecting long-term metabolic shifts using isotopomers: CO₂-driven suppression of photorespiration in C₃ plants over the 20th century[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(51): 15585-15590.

[62] KEBEISH R, NIESSEN M, THIRUVEEDHI K, et al. Chloroplastic photorespiratory bypass increases photosynthesis and biomass production in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Nature Biotechnology*, 2007, 25(5): 593-599.

[63] DALAL J, LOPEZ H, VASANI N B, et al. A photorespiratory bypass increases plant growth and seed yield in biofuel crop *Camelina sativa*[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2015, 8: 175.

[64] AHMAD R, BILAL M, JEON J, et al. Improvement of biomass accumulation of potato plants by transformation of cyanobacterial photorespiratory glycolate catabolism pathway genes[J]. *Plant Biotechnology Reports*, 2016, 10(5): 269-276.

[65] SHEN B, WANG L, LIN X, et al. Engineering a new chloroplastic photorespiratory bypass to increase photosynthetic efficiency and productivity in rice[J]. *Molecular Plant*, 2019, 12(2): 199-214.

[66] SOUTH P F, CAVANAGH A P, LIU H W, et al. Synthetic glycolate metabolism pathways stimulate crop growth and productivity in the field[J]. *Science*, 2019, 363(6422): 45-53/eaat9077.

[67] WANG L, SHEN B, LI B, et al. A synthetic photorespiratory shortcut enhances photosynthesis to boost biomass and grain yield in rice[J]. *Molecular plant*, 2020, 13(12): 1802-1815.

[68] MAIER A, FAHNENSTICH H, VON CAEMMERER S, et al. Transgenic introduction of a glycolate oxidative cycle into *A. thaliana* chloroplasts leads to growth improvement[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2012, 3: 38.

[69] CAVANAGH A P, SOUTH P F, BERNACCHI C J, et al. Alternative pathway to photorespiration protects growth and productivity at elevated temperatures in a model crop[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2022, 20(4): 711-721.

[70] XIN C, THOLEN D, DEVLOO V, et al. The benefits of photorespiratory bypasses: How can they work?[J]. *Plant Physiology*, 2015, 167(2): 574-585.

[71] PETERHANSEL C, KRAUSE K, BRAUN H P, et al. Engineering photorespiration: Current state and future possibilities[J]. *Plant Biology*, 2013, 15(4): 754-758.

[72] LUNDGREN M R. C₂ photosynthesis: A promising route towards crop improvement?[J]. *New Phytologist*, 2020, 228: 1679.

[73] TIMM S, WITTMIB M, GAMLIEN S, et al. Mitochondrial dihydrolipoyl dehydrogenase activity shapes photosynthesis and photorespiration of *Arabidopsis thaliana*[J]. *The Plant Cell*, 2015, 27(7): 1968-1984.

[74] LÓPEZ-CALCAGNO P E, FISK S, BROWN K L, et al. Overexpressing the H-protein of the glycine cleavage system increases biomass yield in glasshouse and field-grown transgenic tobacco plants[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2019, 17(1): 141-151.

[75] SIMKIN A J, MCAUSLAND L, HEADLAND L R, et al. Multigene manipulation of photosynthetic carbon assimilation increases CO₂ fixation and biomass yield in tobacco[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2015, 66(13): 4075-4090.

[76] 肖璞, 刘虎虎, 王翀, 等. 植物高光效研究进展[J]. *生物学杂志*, 2020, 37(2): 88-91.

[77] WEI S, LI X, LU Z, et al. A transcriptional regulator that boosts grain yields and shortens the growth duration of rice[J]. *Science*, 2022, 377(6604): eabi8455/386-395.



彭新湘, 研究员, 长期从事植物高光效及抗逆性机理研究, 主要研究方向包括植物高光效机理及分子改良; 植物活性氧 (ROS) 信号调控分子机理以及植物草酸代谢调控分子机理。主持或参与国家重点研发计划、国家自然科学基金、广东省基础与应用基础研究重大项目等科研项目; 在《Molecular Plant》《Journal of Experimental Botany》等学术刊物上发表论文 100 余篇。

【责任编辑 霍 欢】