

Érika Victoria Almeraya del Valle y Estela Sánchez Quintanar




Adaptaciones fotosintéticas en las plantas para mejorar la captación del carbono



La fotosíntesis es un proceso fascinante: gracias a él, las plantas absorben el dióxido de carbono de una atmósfera enriquecida en oxígeno. En este artículo se explica cómo las plantas aseguran la intrincada captura del CO_2 y se hace énfasis en algunos aspectos fotosintéticos que el humano ha tratado de imitar o modificar para mejorar el rendimiento de los cultivos de interés alimentario o comercial.





La fotosíntesis oxigénica es un mecanismo bioquímico que usa agua, dióxido de carbono del aire (CO_2) y luz para formar carbohidratos y liberar oxígeno (O_2) a la atmósfera. Este mecanismo es vital para el planeta porque completa el ciclo global de intercambio gaseoso que ocurre entre los seres vivos. Es decir, mientras ciertos organismos (como nosotros los humanos) consumen O_2 y liberan CO_2 a la atmósfera, los organismos fotosintéticos (como plantas, algas y cianobacterias) realizan básicamente el proceso complementario en el que consumen CO_2 y liberan O_2 a la atmósfera.

Entre los organismos fotosintéticos, algunos son más eficientes que otros; esto depende de la velocidad a la que las moléculas de CO_2 son capturadas y transformadas en los carbohidratos necesarios para desarrollar su biomasa. En este contexto, las plantas han logrado adaptaciones evolutivas sorprendentes para asegurar y optimizar el flujo del CO_2 hacia la síntesis de sus propios carbohidratos. A lo largo de este artículo, se explicarán algunas de estas adaptaciones y se describirán varios intentos fascinantes que ha hecho el hombre para mejorar el proceso fotosintético de plantas de interés alimentario, con miras a incrementar sus rendimientos agrícolas.

Conversión de energía luminosa a energía química

La fotosíntesis en las plantas ocurre dentro de los organelos llamados cloroplastos, que se encuentran en las células de los tejidos verdes. El proceso inicia cuando la clorofila contenida en dichos cloroplastos absorbe la energía luminosa.

Tal como sucede en una fuente de jardín, en la que el agua se impulsa hacia arriba para facilitar la caída libre de las gotas de agua con mucho más fuerza de la que tendrían si el agua se impulsara a menor altura, así los electrones de la clorofila, cuando son excitados por la luz, alcanzan niveles superiores de energía y facilitan la liberación del exceso de energía para dar inicio a una serie de reacciones químicas que culminan con la síntesis de moléculas de adenosin tri fosfato (ATP) y nicotinamida dinucleótido fosfato (NADPH). Es decir, la energía luminosa se transforma en energía química. Esta fase de la fotosíntesis se conoce como fase luminosa o dependiente de la luz.

Concretamente, las moléculas de ATP y NADPH transfieren energía hacia otras moléculas para asegurar la continuación de diferentes eventos bioquímicos. En otras palabras, las moléculas de ATP y NADPH funcionan como medida de cambio al interior de las células, pues por cada evento de transferencia se lleva a cabo una reacción química, como en un intercambio de monedas para hacer una transacción comercial.

La mayoría de las moléculas de ATP y NADPH formadas durante la fase luminosa suministran la energía necesaria para incorporar al CO_2 en la segunda fase de la fotosíntesis, la cual se conoce como fase oscura, porque ocurre independientemente del estímulo luminoso; es decir, cuando ya se han formado ATP y NADPH.

El ciclo de Calvin

La fase oscura de la fotosíntesis es la etapa de síntesis de carbohidratos y se conoce con distintos nombres: el más famoso es ciclo de Calvin, o de forma más

completa, ciclo de Calvin-Benson-Bassham en honor a los investigadores Melvin Calvin, Andrew Benson y James Bassham, quienes lo elucidaron a mediados de la década de 1900; también se le conoce como ruta de reducción de las pentosas fosfato.

Como se describe en la Figura 1, el ciclo de Calvin comienza con la fase de carboxilación, en la cual la enzima ribulosa 1, 5-bifosfato carboxilasa/oxigenasa, abreviada como RubisCO, reacciona con el CO_2 para combinarlo con una molécula de ribulosa 1, 5-bifosfato (RuBP). En la siguiente fase, llamada reductiva, las dos moléculas de fosfoglicerato que se producen en la carboxilación utilizan ATP y NADPH para formar triosa fosfato. Por último, en la fase regenerativa, mediante una serie de nueve reacciones en las que intervienen diferentes enzimas se regenera una molécula de RuBP; con esto se completa el ciclo.

Cuando la enzima RubisCO reacciona con O_2 (reacción de oxigenación) en lugar de CO_2 , comienza el proceso bioquímico conocido como fotorrespiración, en el cual se genera 2-fosfoglicolato. Este compuesto no ingresa al ciclo de Calvin y resulta necesario reciclarlo

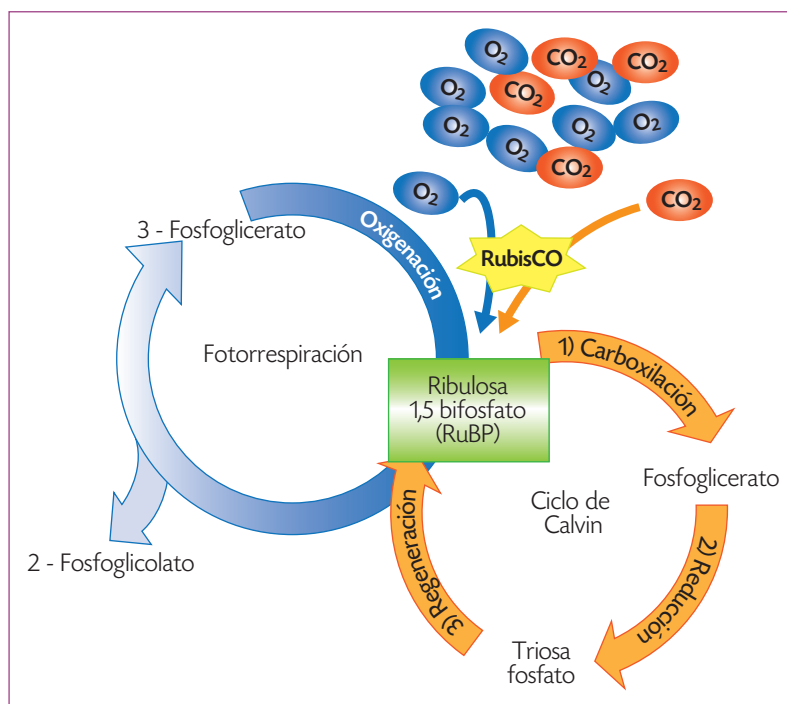


Figura 1. Ciclo de Calvin y fotorrespiración. Mecanismos alternos que suceden dependiendo de la molécula gaseosa que reacciona con la enzima RubisCO y el sustrato RuBP. La fotorrespiración es un proceso parasitario porque usa el sustrato generado en el ciclo de Calvin.

a través de más de diez reacciones enzimáticas distribuidas a lo largo de diferentes partículas subcelulares, lo cual representa un gasto excesivo de energía. Por ello, contrario al proceso de fotosíntesis, la prevalencia de la fotorrespiración no favorece la formación de biomasa y derrocha la energía química acumulada durante la fotosíntesis. Como se describirá más adelante, las plantas han desarrollado mecanismos para evitar la oxigenación.

RubisCO controla la entrada al ciclo de Calvin

El proceso fotosintético completo está altamente regulado; sin embargo, la entrada al ciclo de Calvin es el punto limitante de la fijación fotosintética.

De hecho, la captura de CO_2 por las plantas podría considerarse como un evento fortuito debido a que, como se mencionó anteriormente, la enzima responsable de catalizar esta reacción tiene la capacidad tanto de carboxilar como de oxigenar al sustrato RuBP. Esta bifuncionalidad hace que la enzima RubisCO (véase la Figura 2) opere de forma ineficiente, ya que aunque la enzima reacciona más fácilmente con el CO_2 que con el O_2 , la velocidad de oxigenación es mayor debido a que en el aire la concentración del O_2 es superior (21%) a la del CO_2 (0.035%). Es así que la carboxilación mediada por RubisCO es tan lenta que, aun en condiciones saturantes de sustrato, reaccionan sólo de dos a tres moléculas de CO_2 y RuBP por segundo, por sitio catalítico de RubisCO. En comparación, otras en-

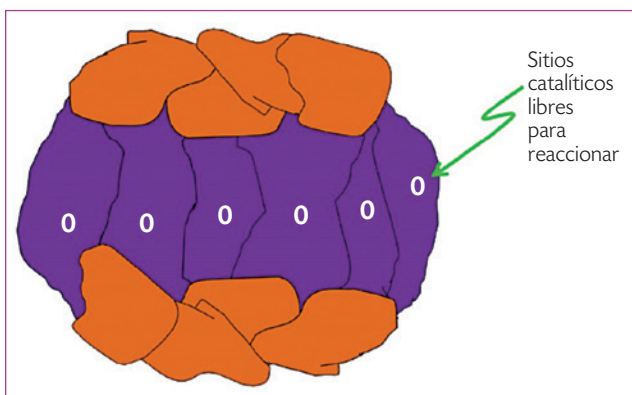


Figura 2. Enzima RubisCO. En las plantas está compuesta por ocho subunidades grandes (mostradas en color morado) y ocho subunidades pequeñas (mostradas en color naranja). Los sitios catalíticos se encuentran en las subunidades grandes.

zimas poseen velocidades de reacción que oscilan entre 10000 y 1000000 de moléculas de sustrato por segundo (Peterhansel y Offermann, 2012). Estas características de la enzima RubisCO hacen que en las condiciones atmosféricas actuales, la función carboxilasa opere a un nivel muy por debajo de su máximo potencial.

Para compensar estas deficiencias, las plantas han desarrollado varias estrategias. Una de ellas, y que es común para todas las plantas, consiste en usar alrededor de 50% del nitrógeno de sus hojas tan sólo para llevar a cabo la síntesis de RubisCO, con el resultado de que esta proteína sea la más abundante de los tejidos vegetales e inclusive se le considere la proteína más abundante en la Tierra.

Además de la superproducción de RubisCO, algunas plantas mejoraron su capacidad para discriminar entre CO_2 y O_2 modificando la estructura del sitio catalítico de su enzima RubisCO, con la finalidad de favorecer la velocidad de carboxilación. La capacidad intrínseca de RubisCO para distinguir entre los dos sustratos se mide con el factor de especificidad Ω , el cual se define como el cociente entre las velocidades de carboxilación y de oxigenación cuando las concentraciones de CO_2 y O_2 son iguales. En consecuencia, los organismos fotosintéticos pueden incrementar la fijación de carbono al aumentar la concentración de CO_2 en el entorno de RubisCO, o bien, al modificar sus sitios catalíticos para aumentar el factor de especificidad (Parry y cols., 2003).

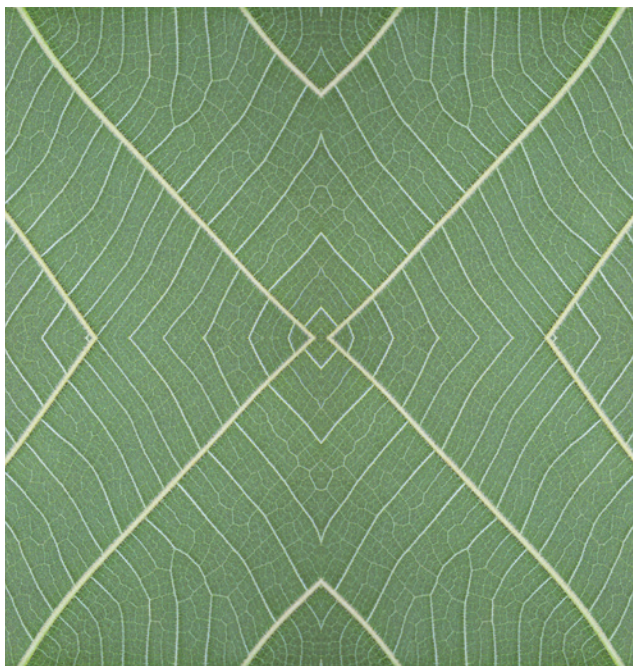
Siguiendo esta lógica, varios grupos de investigación han intentado modificar el factor de especificidad de cultivos de interés agronómico en el estudio de RubisCO de especies con valores Ω más elevados. Los estudios se basan en cambiar aminoácidos del centro catalítico de RubisCO mediante experimentos de mutagénesis dirigida, con la finalidad de favorecer el reconocimiento del CO_2 . Las investigaciones continúan debido a la complejidad de la enzima y al gran número de aminoácidos implicados en el sitio catalítico.

RubisCO puede ser activada para fomentar la carboxilación

Aumentar la cantidad de RubisCO y modificar el factor de especificidad para favorecer la carboxilación

sobre la oxigenación no son las únicas estrategias que las plantas han desarrollado a través de la evolución para optimizar la fotosíntesis. Se calcula que la concentración de los sitios catalíticos de RubisCO en cloroplastos es de 0.004 mol/l, mientras que la concentración de CO₂ intracelular es de 0.000011 mol/l; es decir, que la enzima está presente en concentraciones de hasta mil veces más que su sustrato. Ésta es una condición anormal para una enzima, pues el éxito como catalizadores biológicos reside en que muy pocas moléculas de la enzima pueden acelerar miles de reacciones químicas por segundo.

Estos datos señalan que aunque la concentración de RubisCO en los tejidos verdes es muy abundante, no todas las moléculas de RubisCO que hay en una planta están funcionando. La activación o el funcionamiento de RubisCO requieren específicamente una reacción previa entre una molécula de CO₂ y un aminoácido específico, ubicado en cada una de las ocho subunidades (véase la Figura 2). Dicha reacción se clasifica en el lenguaje químico como reacción de carbamilación, pero sólo ocurre cuando los sitios catalíticos de RubisCO están libres; aunque en general, esto no sucede debido a que muchas moléculas del otro sustrato, la molécula de RuBP u otros azúcares, se encuentran unidos fuertemente a los sitios catalíticos e impiden la



carbamilación, prerequisite indispensable para incorporar la molécula de CO₂ al ciclo de Calvin.

Las plantas desarrollaron un mecanismo que evita estas uniones a través de la intervención de una proteína llamada RubisCO-activasa, la cual mitiga en gran medida las deficiencias de RubisCO, pues opera como una chaperona molecular que induce un cambio tridimensional en RubisCO para separar los azúcares que inhiben el funcionamiento de sus sitios catalíticos. Como su nombre lo indica, una chaperona molecular funciona como una molécula que acompaña a otras moléculas para que éstas se asocien apropiadamente. En este caso, las moléculas son el CO₂, la enzima RubisCO y el RuBP. Como consecuencia, la chaperona molecular RubisCO-activasa asegura el flujo de CO₂ hacia el ciclo de Calvin.

Todas las plantas estudiadas hasta ahora contienen RubisCO-activasa, y su funcionamiento requiere la unión de dos subunidades independientes que necesitan usar moléculas de ATP para autoasociarse. Se sabe que varias subunidades de RubisCO-activasa se agrupan y forman una estructura de anillo que rodea a la enzima RubisCO con la finalidad de inducir el cambio de conformación tridimensional que requiere para activar sus sitios catalíticos. En la Figura 3 se ilustra el mecanismo de acción de RubisCO-activasa.

Por la importancia de la conversión de una enzima RubisCO inactiva a una RubisCO activa, se ha señalado a la proteína RubisCO-activasa como el blanco potencial de modificaciones genéticas que buscan asegurar la activación de RubisCO con la finalidad de mejorar la eficiencia del proceso fotosintético.

En nuestro grupo de laboratorio se demostró que el rendimiento en grano de cultivos de maíz va mejorando proporcionalmente al incremento de la cantidad de RubisCO-activasa debido, principalmente, a que se fomenta la actividad fotosintética de las plantas (Morales y cols., 1999). A raíz de ello, nos propusimos sobreexpresar RubisCO-activasa en plantas de maíz usando el sistema de biobalística en callos embriogénicos de maíz, los cuales son cúmulos de células totipotenciales que permiten la regeneración *in vitro* de plantas completas de maíz. Los resultados son favorables y demuestran que un incremento en la cantidad neta de RubisCO-activasa favorece el crecimiento de la planta (datos por publicar).

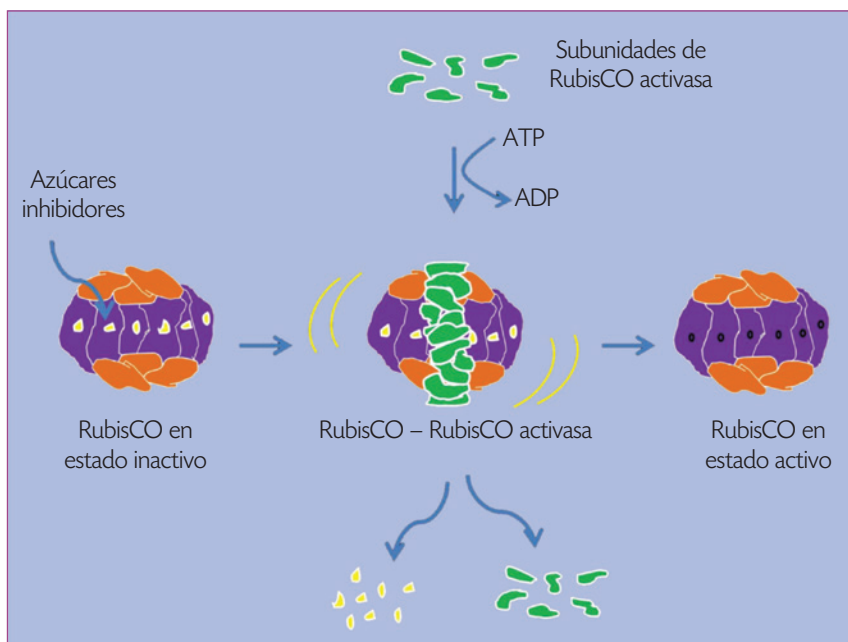


Figura 3. Modelo propuesto para la activación *in vivo* de RubisCO. Las isoformas de RubisCO-activasa se asocian para formar una estructura que rodea a RubisCO ocasionando un cambio conformacional que permite la liberación y funcionalidad de sus sitios catalíticos.


Recientemente (Wataru y cols., 2012) se demostró con plantas transgénicas de arroz sobreexpresantes de RubisCO-activasa, que el aumento de la cantidad de esta proteína también brinda a la planta una capacidad de adaptación más rápida en condiciones cambiantes de luz y temperatura, tal como las que ocurren normalmente en los cultivos sembrados fuera de un invernadero. Estos experimentos contribuyen a describir el papel potenciador de RubisCO-activasa durante la fotosíntesis en condiciones meteorológicas naturalmente cambiantes, y abren una ventana de posibilidades para mejorar la adaptación de cultivos de interés comercial y alimentario a condiciones ambientales desfavorables.

● Mecanismos concentradores de CO₂

A lo largo de la evolución, algunas plantas han desarrollado mecanismos concentradores de CO₂ en la periferia de RubisCO, lo cual favorece en forma significativa la carboxilación. Éste es el caso de las llamadas plantas tipo C₄ que, en comparación con las plantas C₃, muestran mejores rendimientos debido a que es mayor su eficiencia fotosintética.

Entre los cultivos de importancia económica encontramos plantas tipo C₄ como maíz, sorgo y caña de azúcar, y entre los de tipo C₃ encontramos arroz, trigo, soya, papa y cebada. El número de la clasificación C₃ y C₄ se refiere al número de carbonos que tiene la primera molécula estable que se forma al incorporarse el CO₂ en la planta. En el caso de la vía fotosintética C₃, dicha molécula es el ácido 3 fosfoglicérico, tal como se describió en la Figura 1, y podría considerarse como la vía canónica donde el CO₂ es capturado por RubisCO para conducirlo directamente al ciclo de Calvin. En cambio, para las plantas C₄, el primer producto de la carboxilación es el ácido oxaloacético (de cuatro carbonos), que rápidamente es convertido a otro compuesto llamado malato. En este caso, la enzima PEP carboxilasa captura inicialmente el CO₂, el cual se difunde rápidamente hacia la periferia de RubisCO, evitando con ello la competencia del O₂ y, por lo tanto, la oxigenación.

Algunas plantas tipo C₄ han modificado la anatomía de sus tejidos fotosintéticos para optimizar las reacciones de captura y fijación del CO₂. Primero, ocurre la captura del CO₂ dentro de células especializadas llamadas mesoflicas, para que éste se difunda a los espacios



intercelulares de la hoja y desde ahí se concentre de 7 a 15 veces (100-200 μm) en otra capa de células conocidas como células del haz vascular, donde se lleva a cabo el ciclo de Calvin. Esta especialización de capas celulares se conoce como anatomía de Kranz, pero su desarrollo no es requisito indispensable para que exista la variante C_4 ; existen plantas que efectúan la vía fotosintética C_4 usando diferentes compartimentos celulares de una sola célula (Edwards y cols., 2004).

De acuerdo con varios estudios de filogenética en los que mediante diagramas de árboles se representan relaciones evolutivas basadas en el parecido de secuencias genéticas, hasta el año 2011 se han encontrado al menos 66 surgimientos de la vía fotosintética C_4 (Sage y cols., 2011). Estos eventos de evolución independientes, y que convergen en un mismo mecanismo, no son exactamente iguales, pero todos consisten fundamentalmente en reorganizar eficientemente la anatomía o el metabolismo de las hojas para crear un mecanismo concentrador de CO_2 atmosférico que contrarreste los efectos negativos provocados por la oxigenación.

Diferentes estudios antropológicos con fósiles señalan que las primeras plantas C_4 surgieron probablemente durante la época geológica conocida como Mioceno (de 10 millones a 33 millones de años), en la que se propone que hubo cambios más frecuentes de las estaciones del año, aumentó la aridez, incrementó la ocurrencia de incendios y disminuyó la concentración del CO_2 ambiental, desde más de 400 mmol/mol de aire, hasta alcanzar los valores actuales de 390 mmol/mol de aire. Estos cambios ambientales detonaron cambios fisiológicos en las plantas que derivaron en la aparición de sistemas concentradores de CO_2 que contendieron con las nuevas condiciones meteorológicas. Esta teoría señala que las plantas tipo C_3 se originaron en un ambiente donde no era necesario competir por el CO_2 , mientras que las plantas tipo C_4 evolucionaron durante un periodo geológico en el que fue necesario concentrar el CO_2 al interior de sus hojas para disminuir la competencia entre el CO_2 y el O_2 por alcanzar el sitio catalítico de la enzima RubisCO (Sage y cols., 2012).

La estrategia de fotosíntesis de los cultivos C_4 podría considerarse como un éxito evolutivo si se comparan los altos rendimientos de los cultivos C_4 con los

cultivos de los C_3 . Por ello, desde que se describió el mecanismo C_4 , se han hecho intentos por transferir sus ventajas a los cultivos C_3 , primero a través de hibridaciones convencionales entre plantas y más recientemente por técnicas transgénicas que han permitido identificar genes específicos regulatorios de la vía fotosintética C_4 (Langdale, 2011). Hoy existe un proyecto internacional que tiene como objetivo principal instalar la vía fotosintética C_4 en arroz para aumentar su rendimiento en grano. Se espera que el prototipo de arroz C_4 se obtenga para el año 2015, y para 2031 se pronostica la completa optimización y prueba de este fenotipo en el campo (Von Caemmerer y cols., 2012).

Conclusiones

En resumen, la fotosíntesis puede describirse como un mecanismo impulsado por la luz, que culmina con la incorporación de CO_2 atmosférico dentro de una ruta bioquímica de síntesis de carbohidratos. Este proceso tan importante presenta varias limitaciones en cuanto a la eficiencia de fijación de CO_2 , debido principalmente a las limitaciones catalíticas de la enzima RubisCO.

En retrospectiva, parecería que la evolución de RubisCO ha sucedido en un sentido erróneo, puesto que las plantas han tenido que desarrollar mecanismos que consumen energía pero que son necesarios para disminuir las deficiencias de una enzima que en principio es sumamente compleja. Sin embargo, existen estudios teóricos que sugieren que la evolución temprana de RubisCO ocurrió en un tiempo cuando no había oxígeno en la atmósfera. Los resultados de diversas investigaciones filogenéticas en las que se comparan enzimas RubisCO de diferentes organismos fotosintéticos, demuestran que RubisCO estuvo presente hace aproximadamente 3 500 millones de años. Más tarde, después de más de 1 500 millones de años, aparece el O_2 como consecuencia de la fotosíntesis, y probablemente debido a la complejidad de la enzima RubisCO resultó difícil cambiar el centro catalítico para eliminar la actividad la oxigenasa (Hans-Walter, 2005). Aún así, las plantas han desarrollado adaptaciones en su metabolismo y anatomía para hacer una mejor fotosíntesis.

Los estudios rigurosos de estos mecanismos, a lo largo de muchos años de investigación, han revelado que los fundamentos en que se basan pueden aplicarse con éxito a las nuevas tecnologías para mejorar la fotosíntesis y, como consecuencia, mejorar el rendimiento de cultivos de interés comercial.

Érika Victoria Almeraya del Valle es química de alimentos y maestra en Ciencias Bioquímicas por la Facultad de Química de la UNAM. Ha trabajado en áreas relacionadas con la bioquímica y la biología molecular. Actualmente promueve la solicitud de una patente basada en el desarrollo de su tesis doctoral sobre aspectos relacionados con el mejoramiento genético del maíz.
erikaalmeraya@yahoo.com.mx

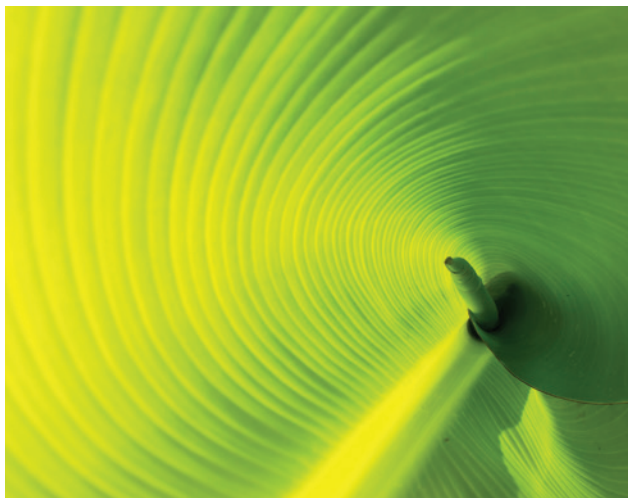
Estela Sánchez Quintanar es doctora en Ciencias Bioquímicas y Profesora Emérita por la UNAM, y pertenece al Sistema Nacional de Investigadores, como Investigadora Emérita. Pionera en el establecimiento de la investigación bioquímica de sistemas vegetales en México, con su labor educativa ha formado a numerosos investigadores que se desarrollan en la misma área. Actualmente trabaja en aspectos relacionados con la investigación del proceso de traducción en plantas y en la búsqueda de metodologías inocuas para mejorar el cultivo del maíz a corto plazo.
estelas@unam.mx

Glosario

Enzima: molécula de proteína que acelera una reacción.

Está compuesta por una combinación única de aminoácidos que producen una estructura tridimensional específica. Las moléculas que reaccionan con las enzimas se llaman sustratos. La porción de la enzima que se une al sustrato es su sitio catalítico.

μmol/mol: es una expresión que se usa para definir cantidad de sustancia. En este caso, significa que hay una millonésima parte de un mol de CO₂ por cada mol de aire. A su vez, un mol es la unidad que se usa para cuantificar las moléculas o átomos. Así como la palabra docena significa 12, mol significa 6.023×10^{23} .



Lecturas recomendadas

- Edwards, G. E., V. R. Franceschi y E. V. Voznesenskaya (2004), "Single-cell C₄ photosynthesis versus the dual-cell (Kranz) paradigm", *Annual Review of Plant Biology*, 55:173-196.
- Hans-Walter, H. (2005), *Plant Biochemistry*, 3ª ed., Burlington/San Diego, Elsevier Academic Press, p. 171.
- Langdale, J. A. (2011), "C₄ Cycles: Past, present and future research on C₄ photosynthesis", *The Plant Cell*, 23:3879-3892.
- Morales, A., M. L. Ortega Delgado, J. Molina Galán y E. Sánchez de Jiménez (1999), "Importance of RubisCO-activase in maize productivity based on mass selection procedures", *Journal of Experimental Botany*, 50:823-829.
- Parry, M. A. J., P. J. Andralojc, R. A. C. Mitchell *et al.* (2003), "Manipulation of RubisCO: the amount, activity, function and regulation", *Journal of Experimental Botany*, 5(386):1321-1333.
- Peterhansel, C. y S. Offermann (2012), "Re-engineering of carbon fixation in plants-challenges for plant biotechnology to improve yields in a high-CO₂ world", *Current Opinion in Biotechnology*, 23:204-208.
- Sage, R., C. Pascal-Antoine y E. J. Edwards (2011), "The C₄ plant lineages of planet Earth", *Journal of Experimental Botany*, 62(9):3155-3169.
- Sage, R. F., T. L. Sage y F. Kocacinar (2012), "Photorespiration and the evolution of C₄ photosynthesis", *Annual Review of Plant Biology*, 63:19-47.
- Von Caemmerer, S., W. P. Quick y R. T. Furbank (2012), "The development of C₄ rice: Current progress and future challenges", *Science*, 336:1671.
- Wataru, Y., M. Chisato, F. Hiroshi y M. Amane (2012), "RubisCO-activase is a key regulator of non-steady-state photosynthesis at any leaf temperature and, to a lesser extent, of steady-state photosynthesis at high temperature", *The Plant Journal*, 71:871-880.