Лекция 4. Фотосинтез растений: хемиосмотическая теория, фотофосфорилирование и цикл Кальвина–Бенсона

Кафедра биотехнологии, КазНУ имени аль-Фараби
проф. д.б.н. Кенжебаева С.С.

Цель лекции. Ожидаемые результаты обучения

- **Цель лекции**
- Цель: сформировать у студентов представление об энергетических и биохимических механизмах фотосинтеза, процессах фиксации и ассимиляции CO_2, особенностях фотосинтетического метаболизма C_3-, C_4- и CAM-растений, а также физиологических механизмах регуляции фотосинтеза под влиянием факторов окружающей среды.
- **Ожидаемые результаты обучения**
- 1. Объяснять механизмы циклического и нециклического фотофосфорилирования, образования АТФ и NADPH.
- 2. Характеризовать основные этапы цикла Кальвина–Бенсона и роль фермента RuBisCO в фиксации CO_2.
- 3. Сравнивать особенности C_3-, C_4- и CAM-фотосинтеза и их адаптивное значение.
- 4. Объяснять механизмы фотодыхания и его взаимосвязь с фотосинтетическим метаболизмом.
- 5. Анализировать влияние света, температуры, концентрации CO_2 и водообеспеченности на интенсивность фотосинтеза.
- 6. Характеризовать физиологические показатели и современные методы оценки фотосинтетической активности растений.

План лекции

1. Хемиосмотическая теория фотосинтеза. Основные положения теории П. Митчелла.
2. Формирование электрохимического градиента протонов. Роль тилакоидной мембраны и электрон-транспортной цепи.
3. Механизм синтеза АТФ в хлоропластах. Строение и функционирование АТФ-синтазы.
4. Фотофосфорилирование. Циклический и нециклический пути транспорта электронов, их особенности и энергетическое значение.
5. Цикл Кальвина–Бенсона. Карбоксилирование, восстановление и регенерация рибулозо-1,5-бисфосфата (RuBP).
6. Энергетическое обеспечение фиксации CO_2. Использование АТФ и NADPH в цикле Кальвина–Бенсона.
7. Взаимосвязь световых реакций и ассимиляции CO_2. Значение фотосинтеза для образования органических веществ.

Хемиосмотическая теория фотосинтеза

Хемиосмотическая теория, предложенная Питером Митчеллом, объясняет **образование АТР за счёт энергии электрохимического градиента протонов (H^+) через мембрану.**

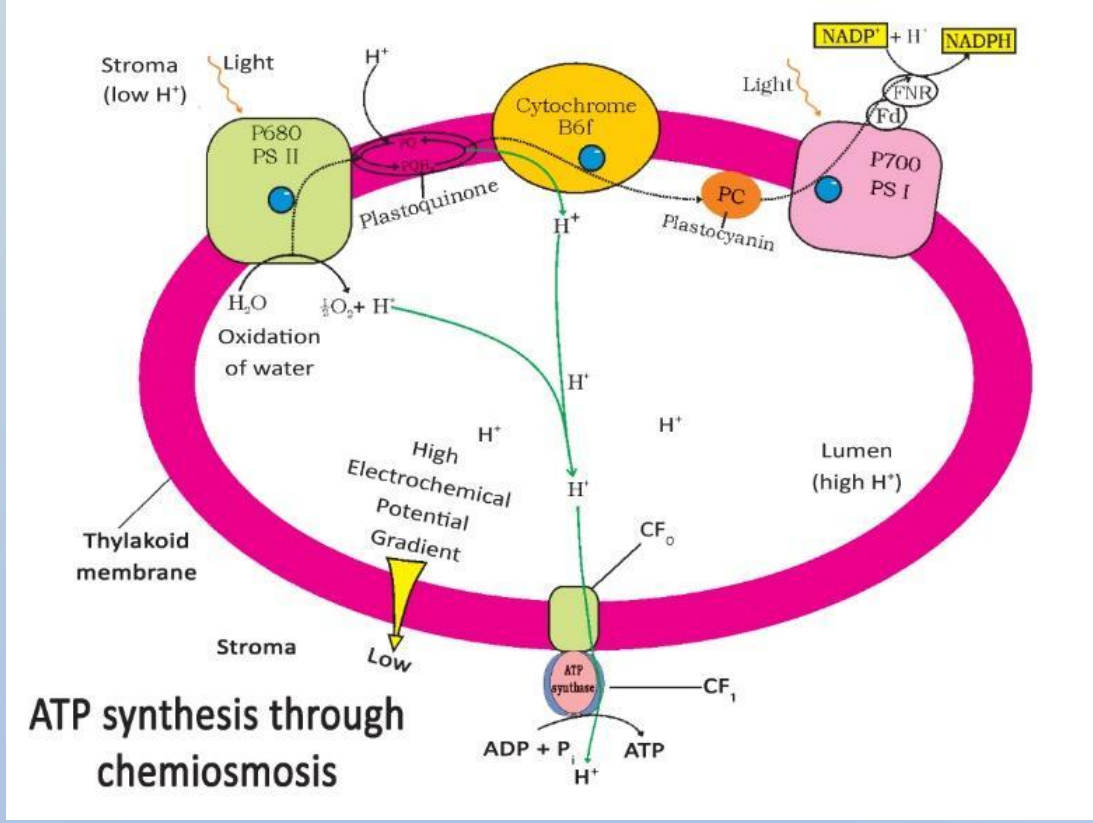
В хлоропластах этот процесс происходит на тилакоидной мембране.

Основной принцип:

Свет → перенос электронов → накопление H^+ в люмене → протонный градиент → АТР-синтаза → АТР

Таким образом, энергия света сначала преобразуется:

1. *в энергию разделения зарядов и электронного транспорта,*
2. *затем — в энергию протонного градиента,*
3. *после этого — в химическую энергию АТР.*



4. АТР-синтаза — молекулярная машина

В тилакоидной мембране расположен ферментный комплекс CF_0–CF_1 АТР-синтаза.

Он состоит из двух основных частей:

1. CF_0 — мембранная часть, образующая путь для движения H^+;
2. CF_1 — каталитическая часть, обращённая в сторону стромы, где происходит образование АТР.

H^+ движутся:

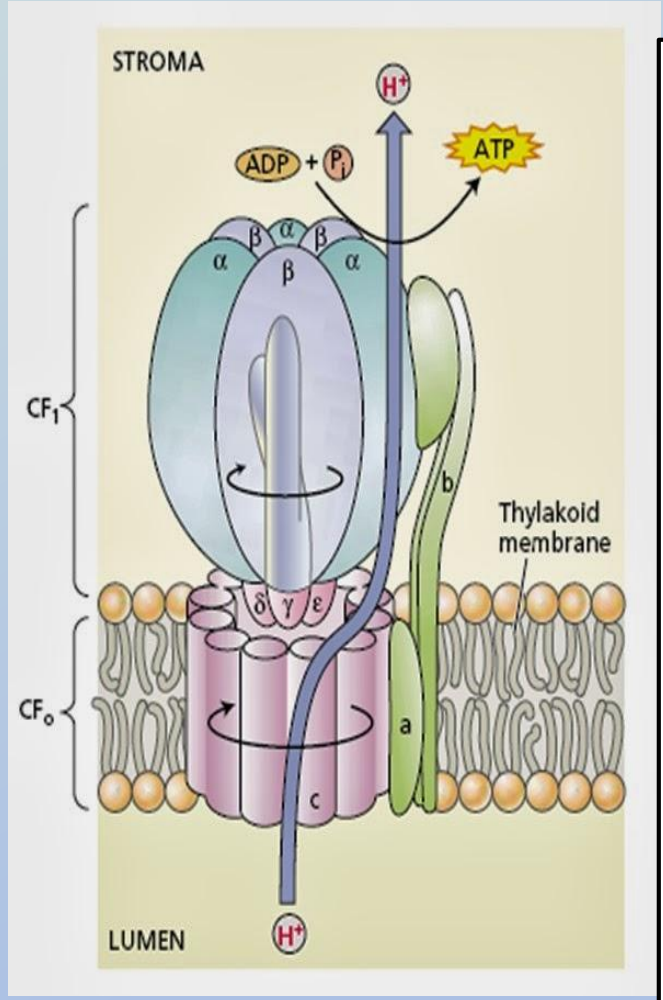
люмен → CF_0 → строма

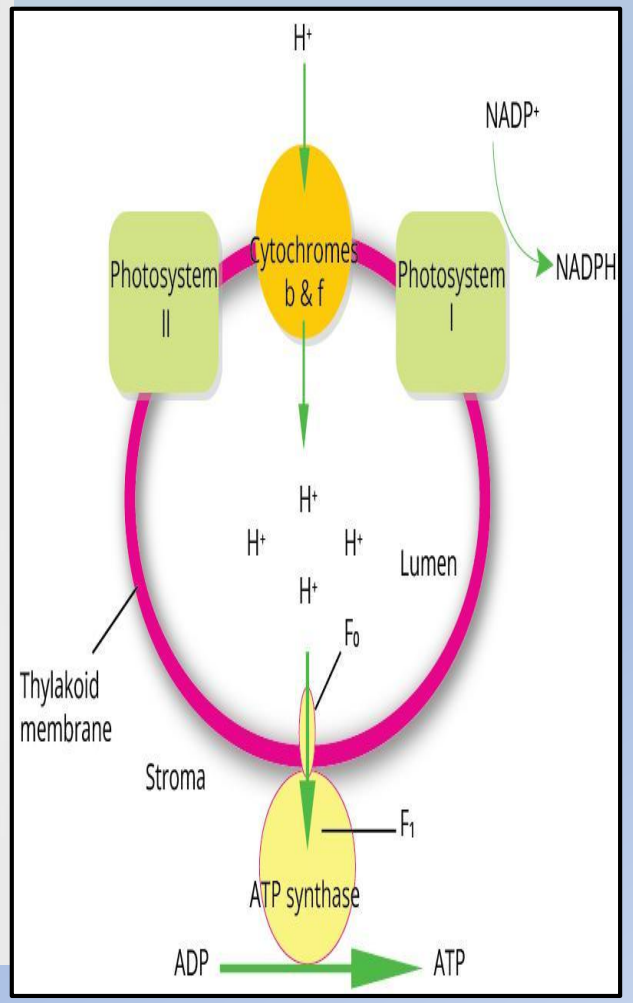
Это движение вызывает вращательные конформационные изменения АТР-синтазы, энергия которых используется для реакции:

ADP + Pi → ATP

Важно направление:

H^+ накапливаются в люмене → возвращаются в строму через АТР-синтазу → АТР образуется на стороне стромы.





10. Фотофосфорилирование

Фотофосфорилирование — образование ATP из ADP и неорганического фосфата за счёт энергии света, преобразованной через электронный транспорт и протонный градиент.

Различают два типа.

1. Нециклическое, или линейное, фотофосфорилирование

Работают обе фотосистемы — PSII и PSI.

Общая последовательность:

H_2O → PSII → PQ → cyt b_6f → PC → PSI → Fd → $NADP^+$

При этом образуются сразу три важных продукта:

O_2 + ATP + NADPH

Электроны начинают путь от воды и в конечном итоге используются для восстановления $NADP^+$ до NADPH.

Циклическое фотофосфорилирование

В нём участвует преимущественно PSI. Электроны, возбуждённые в PSI, вместо восстановления $NADP^+$ возвращаются в электрон-транспортную цепь, способствуя дополнительному формированию протонного градиента.

Результат: образуется дополнительный ATP, но NADPH не образуется, O_2 не выделяется.

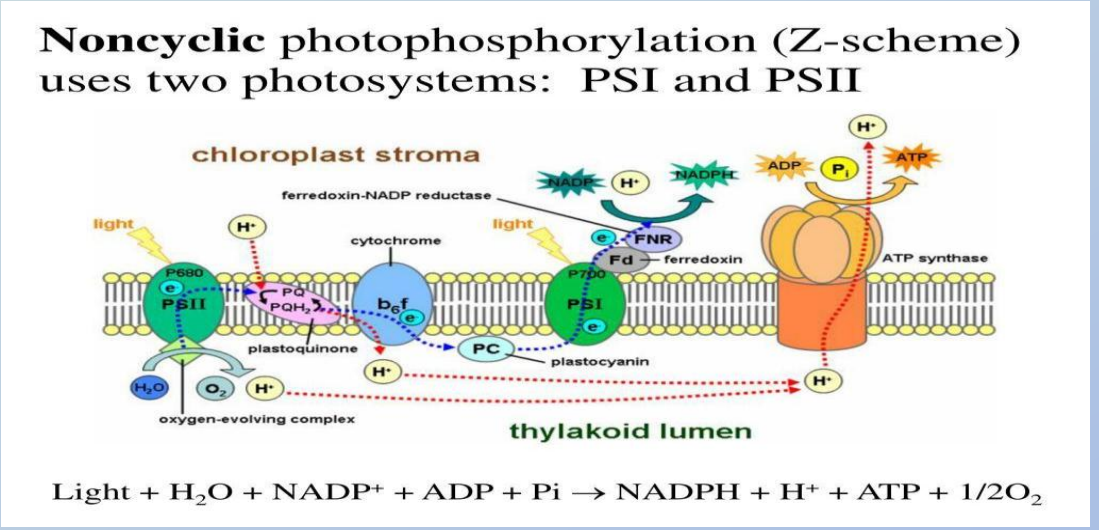
Это позволяет растению регулировать соотношение ATP/NADPH в соответствии с метаболическими потребностями.

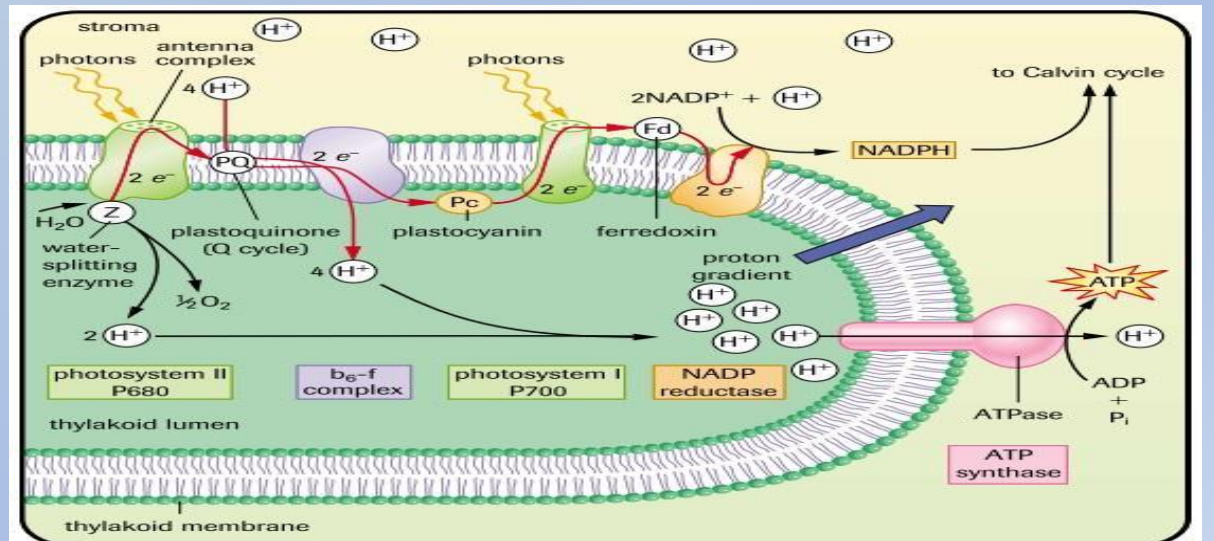
Нециклическое фотофосфорилирование

- образование АТР при линейном переносе электронов от воды к **$NADP^+$** с последовательным участием фотосистемы **II (PSII) и фотосистемы I (PSI)**.

Главная особенность: электрон не возвращается к исходной молекуле хлорофилла, а проходит однонаправленный путь:

- **H_2O → PSII (P680) → PQ → cyt b_6f → PC → PSI (P700) → Fd → $NADP^+$**
- В результате образуются:
- **ATP + NADPH + O_2**





Основные этапы нециклического фотофосфорилирования

1. Возбуждение PSII (P680).
Антенные пигменты поглощают свет и передают энергию реакционному центру P680. Возбуждённый **P680*** отдаёт электрон первичному акцептору.

2. Фотолиз воды.
Потерянные PSII электроны восполняются за счёт окисления воды:

- $2H_2O \rightarrow O_2 + 4H^+ + 4e^-$
- Поэтому именно вода является первичным донором электронов, а молекулярный кислород выделяется как продукт её окисления.

3. Перенос электронов от PSII к PSI.
Электроны проходят:

- **PSII → пластохинон (PQ) → комплекс cyt b_6f → пластоцианин (PC) → PSI**

Работа этой цепи способствует накоплению **H^+ в люмене тилакоида** и созданию протонного градиента.

4. Образование ATP.
Накопленные H^+ возвращаются из люмена в строму через **ATP-синтазу**:

ADP + Pi → ATP

Этот процесс и называется фотофосфорилированием.

5. Возбуждение PSI (P700). В PSI электрон получает вторую порцию световой энергии:

P700 → P700*

После этого высокоэнергетический электрон передаётся на ферредоксин **(Fd)**.

6. Образование NADPH. Ферредоксин-$NADP^+$-редуктаза (**FNR**) передаёт электроны на $NADP^+$:

$NADP^+ + 2e^- + H^+ \rightarrow NADPH$

Почему этот процесс называется «нециклическим»?

Электрон проходит линейный путь:

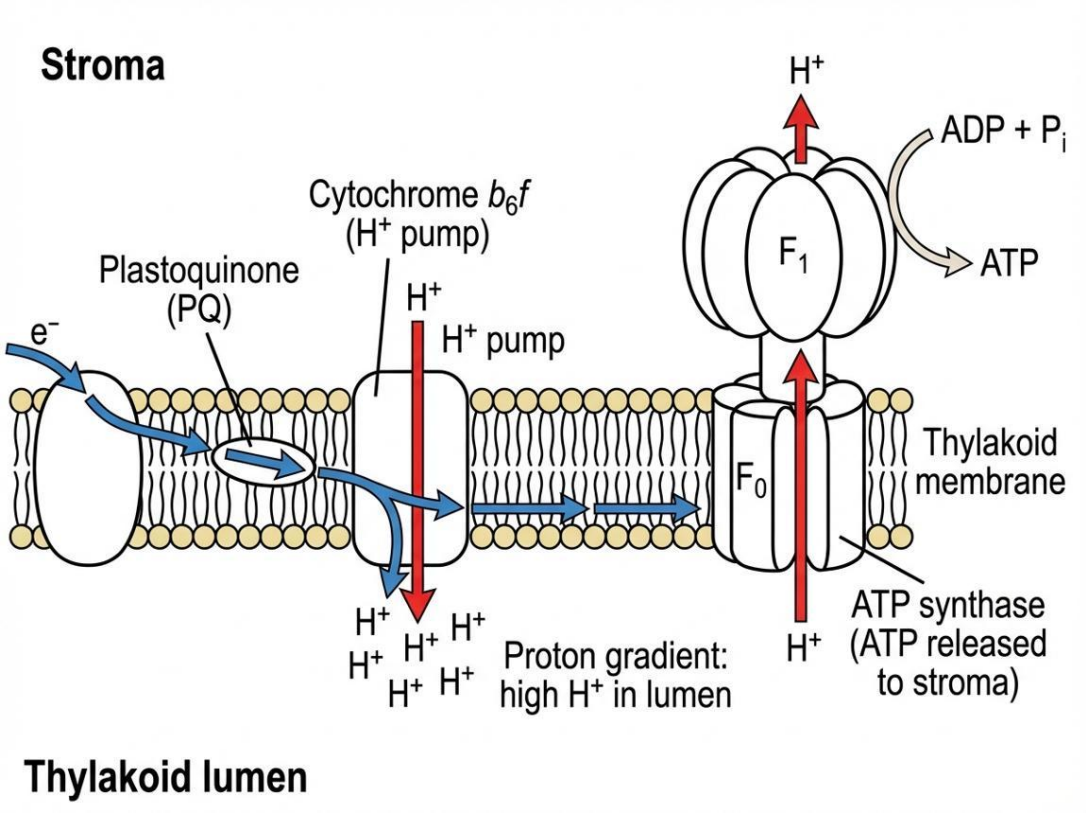
вода → PSII → PSI → $NADP^+$

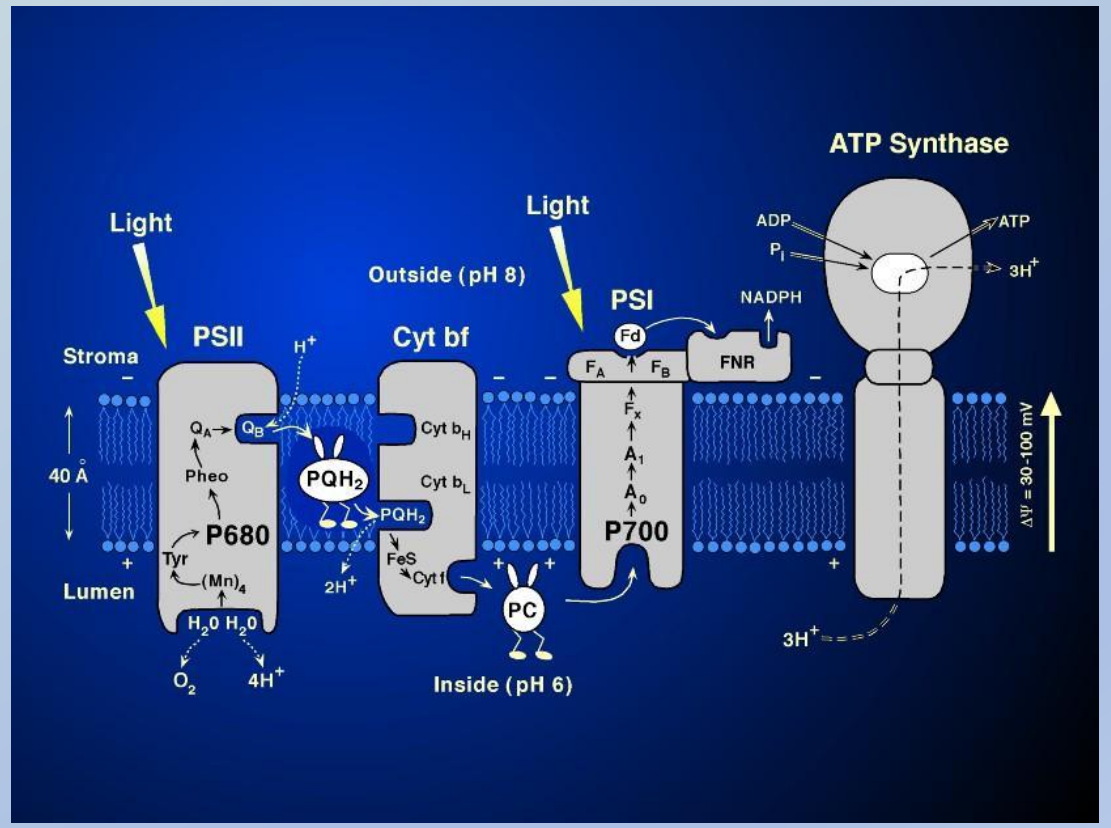
и не возвращается обратно в реакционный центр.

Это принципиальное отличие от циклического фотофосфорилирования, где электроны PSI возвращаются в электрон-транспортную цепь.

Что образуется?

Процесс	Результат
Фотолиз H_2O	**$O_2 + H^+ + e^-$**
Электронный транспорт	Формирование протонного градиента
АТР-синтаза	**АТР**


Stroma
H+
ADP + Pi
ATP
F1
Cytochrome b6f
(H+ pump)
Plastoquinone
(PQ)
e−
H+
H+ pump
F0
Thylakoid
membrane
H+ H+ H+
H+ H+
H+ H+
Proton gradient:
high H+ in lumen
H+
ATP synthase
(ATP released
to stroma)
Thylakoid lumen


ATP Synthase
Light
Light
Outside (pH 8)
PSII
Cyt bf
PSI
ADP
Pi
ATP
3H+
NADPH
Fd
FNR
Stroma
40 Å
QA
QB
Pheo
P680
Tyr
(Mn)4
H2O H2O
O2
4H+
PQH2
2H+
Cyt bH
Cyt bL
PQH2
FeS
Cyt f
PC
FA
FB
Fx
A1
A0
P700
Lumen
Inside (pH 6)
3H+
ΔΨ = 30-100 mV

8. Как формируется протонный градиент?

Тилакоидная мембрана разделяет два пространства:

строма хлоропласта | тилакоидная мембрана | люмен тилакоида

Во время световых реакций концентрация H^+ увеличивается в люмене, тогда как в строме она остаётся значительно ниже.

Этому способствуют несколько процессов.

1. **Фотолиз воды в PSII. Кислород-выделяющий комплекс расщепляет воду на люменальной стороне:**

$2H_2O \rightarrow O_2 + 4H^+ + 4e^-$

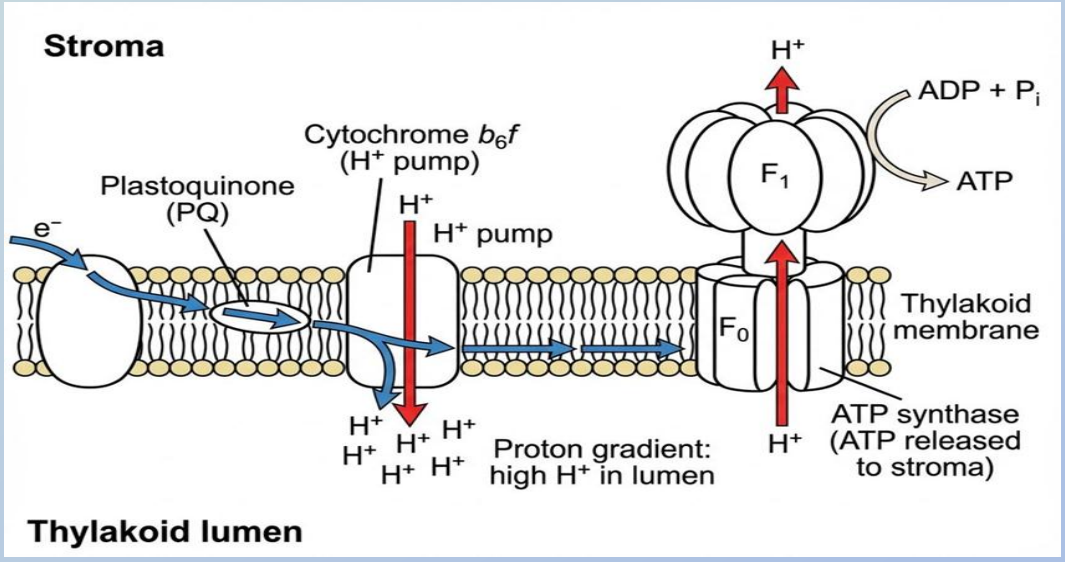
Образующиеся H^+ непосредственно поступают в люмен.

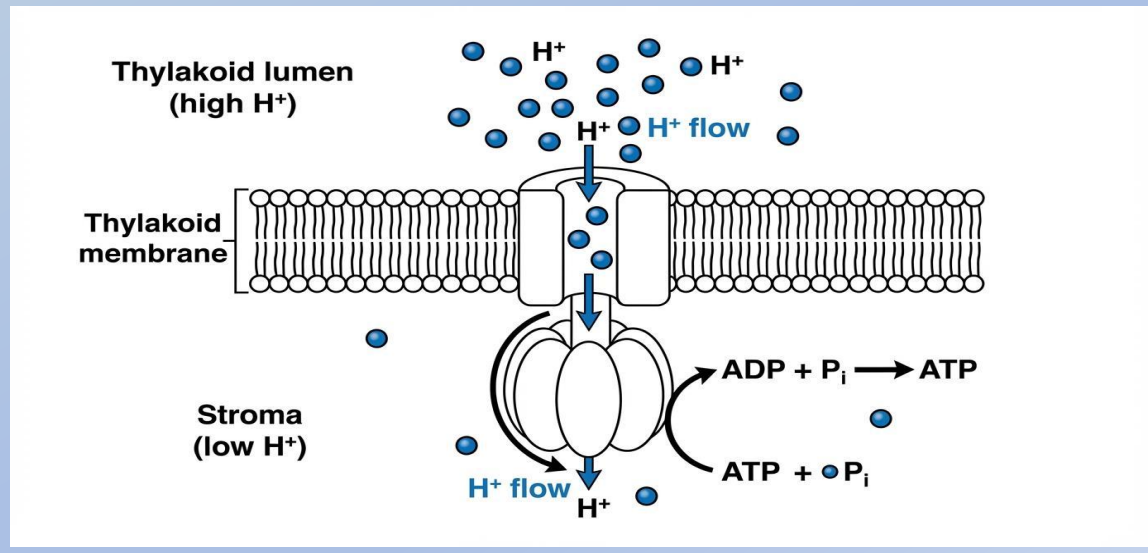
2. Работа пластохинона и комплекса цитохром b_6f. Пластохинон принимает протоны со стороны стромы и при переносе электронов через комплекс cyt b_6f способствует их переносу в люмен.

3. Образование NADPH. На стромальной стороне $NADP^+$ восстанавливается до NADPH с потреблением протона, что также способствует поддержанию разницы концентраций H^+.

Итог:

Люмен: ↑ H^+ → более кислая среда
Строма: ↓ H^+ → более щелочная среда





9. Протон-движущая сила

Различие концентрации H^+ по обе стороны тилакоидной мембраны создаёт протон-движущую силу (proton motive force, pmf).

Она имеет два компонента:

1. **ΔpH — разность концентраций H^+;**
2. **Δψ — электрическая составляющая мембранного потенциала.**

В хлоропластах значительная часть протон-движущей силы реализуется через ΔpH.

H^+ накапливаются внутри тилакоида подобно воде за плотиной.

Их обратное движение через АТР-синтазу высвобождает накопленную энергию.

4. АТР-синтаза — молекулярная машина

В тилакоидной мембране расположен ферментный комплекс CF_0–CF_1 АТР-синтаза.

Он состоит из двух основных частей:

1. CF_0 — мембранная часть, образующая путь для движения H^+;
2. CF_1 — каталитическая часть, обращённая в сторону стромы, где происходит образование АТР.

H^+ движутся:

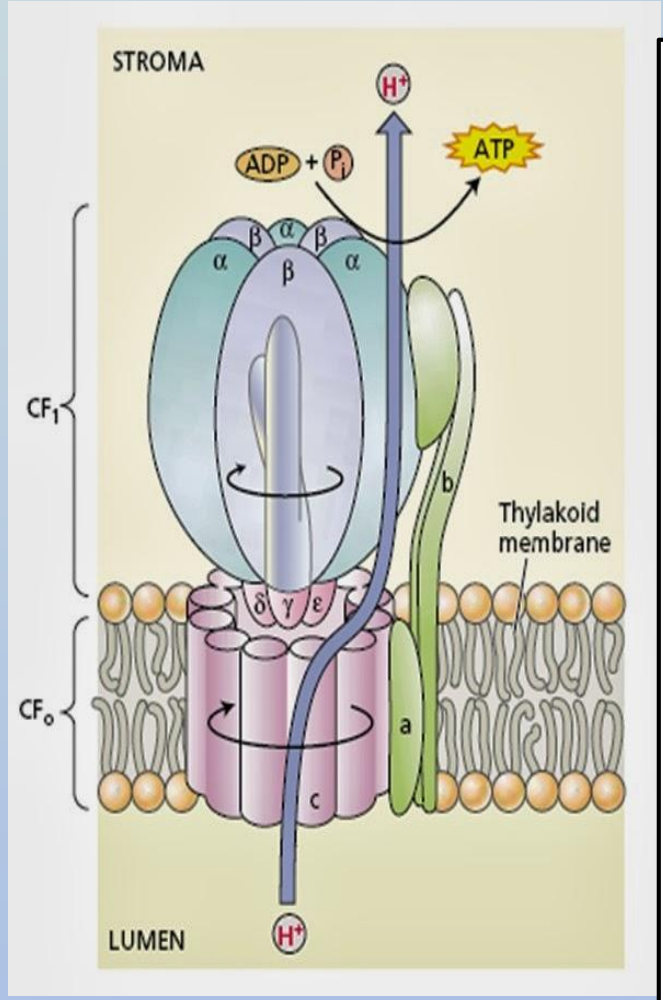
люмен → CF_0 → строма

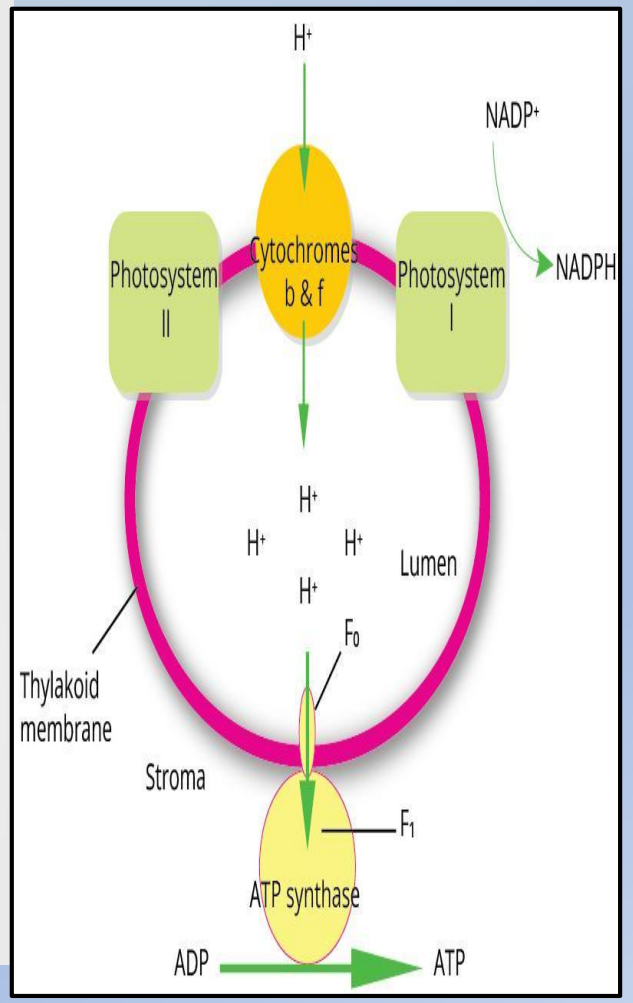
Это движение вызывает вращательные конформационные изменения АТР-синтазы, энергия которых используется для реакции:

ADP + Pi → ATP

Важно направление:

H^+ накапливаются в люмене → возвращаются в строму через АТР-синтазу → АТР образуется на стороне стромы.





10. Фотофосфорилирование

Фотофосфорилирование — образование ATP из ADP и неорганического фосфата за счёт энергии света, преобразованной через электронный транспорт и протонный градиент.

Различают два типа.

1. Нециклическое, или линейное, фотофосфорилирование

Работают обе фотосистемы — PSII и PSI.

Общая последовательность:

H_2O → PSII → PQ → cyt b_6f → PC → PSI → Fd → $NADP^+$

При этом образуются сразу три важных продукта:

O_2 + ATP + NADPH

Электроны начинают путь от воды и в конечном итоге используются для восстановления $NADP^+$ до NADPH.

Циклическое фотофосфорилирование

В нём участвует преимущественно PSI. Электроны, возбуждённые в PSI, вместо восстановления $NADP^+$ возвращаются в электрон-транспортную цепь, способствуя дополнительному формированию протонного градиента.

Результат: образуется дополнительный ATP, но NADPH не образуется, O_2 не выделяется.

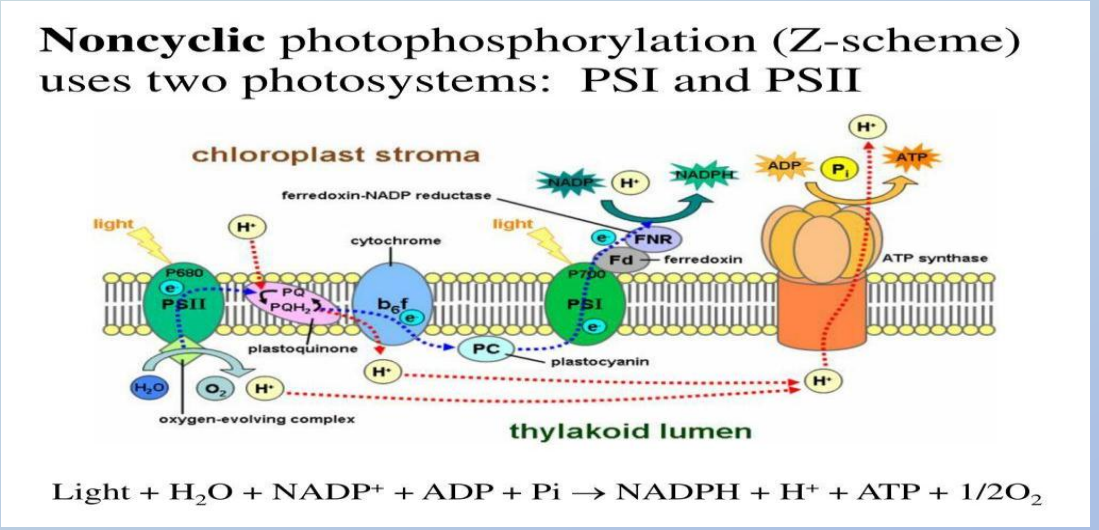
Это позволяет растению регулировать соотношение ATP/NADPH в соответствии с метаболическими потребностями.

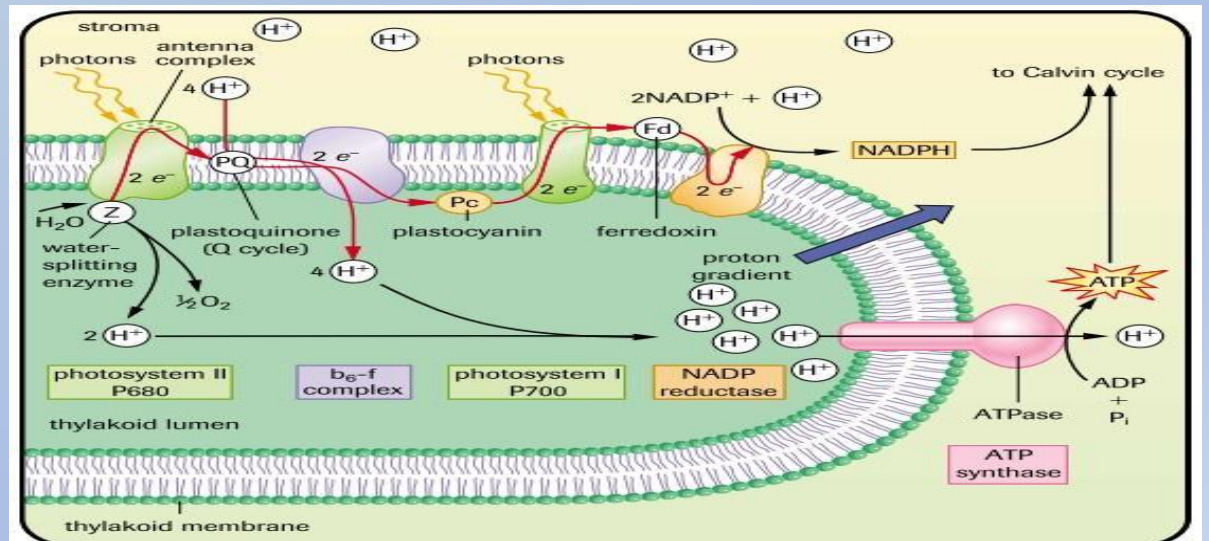
Нециклическое фотофосфорилирование

- образование АТР при линейном переносе электронов от воды к **$NADP^+$** с последовательным участием фотосистемы **II (PSII) и фотосистемы I (PSI)**.

Главная особенность: электрон не возвращается к исходной молекуле хлорофилла, а проходит однонаправленный путь:

- **H_2O → PSII (P680) → PQ → cyt b_6f → PC → PSI (P700) → Fd → $NADP^+$**
- В результате образуются:
- **ATP + NADPH + O_2**





Основные этапы нециклического фотофосфорилирования

1. Возбуждение PSII (P680).
Антенные пигменты поглощают свет и передают энергию реакционному центру P680. Возбуждённый **P680*** отдаёт электрон первичному акцептору.

2. Фотолиз воды.
Потерянные PSII электроны восполняются за счёт окисления воды:

- $2H_2O \rightarrow O_2 + 4H^+ + 4e^-$
- Поэтому именно вода является первичным донором электронов, а молекулярный кислород выделяется как продукт её окисления.

3. Перенос электронов от PSII к PSI.
Электроны проходят:

- **PSII → пластохинон (PQ) → комплекс cyt b_6f → пластоцианин (PC) → PSI**

Работа этой цепи способствует накоплению **H^+ в люмене тилакоида** и созданию протонного градиента.

4. Образование ATP.
Накопленные H^+ возвращаются из люмена в строму через **ATP-синтазу**:

ADP + Pi → ATP

Этот процесс и называется фотофосфорилированием.

5. Возбуждение PSI (P700). В PSI электрон получает вторую порцию световой энергии:

P700 → P700*

После этого высокоэнергетический электрон передаётся на ферредоксин **(Fd)**.

6. Образование NADPH. Ферредоксин-$NADP^+$-редуктаза (**FNR**) передаёт электроны на $NADP^+$:

$NADP^+ + 2e^- + H^+ \rightarrow NADPH$

Почему этот процесс называется «нециклическим»?

Электрон проходит линейный путь:

вода → PSII → PSI → $NADP^+$

и не возвращается обратно в реакционный центр.

Это принципиальное отличие от циклического фотофосфорилирования, где электроны PSI возвращаются в электрон-транспортную цепь.

Что образуется?

Процесс	Результат
Фотолиз H_2O	**$O_2 + H^+ + e^-$**
Электронный транспорт	Формирование протонного градиента
АТР-синтаза	**АТР**

Таким образом, **ATP обеспечивает химическую энергию**, а **NADPH — восстановительную силу** для последующей фиксации CO_2 в цикле Кальвина–Бенсона.

Свет 1
↓
H_2O → PSII (P680) → PQ → cyt b_6f → PC → PSI (P700) → Fd → $NADP^+$ → NADPH
↓
O_2

Параллельно:

накопление H^+ в люмене → ATP-синтаза → ATP

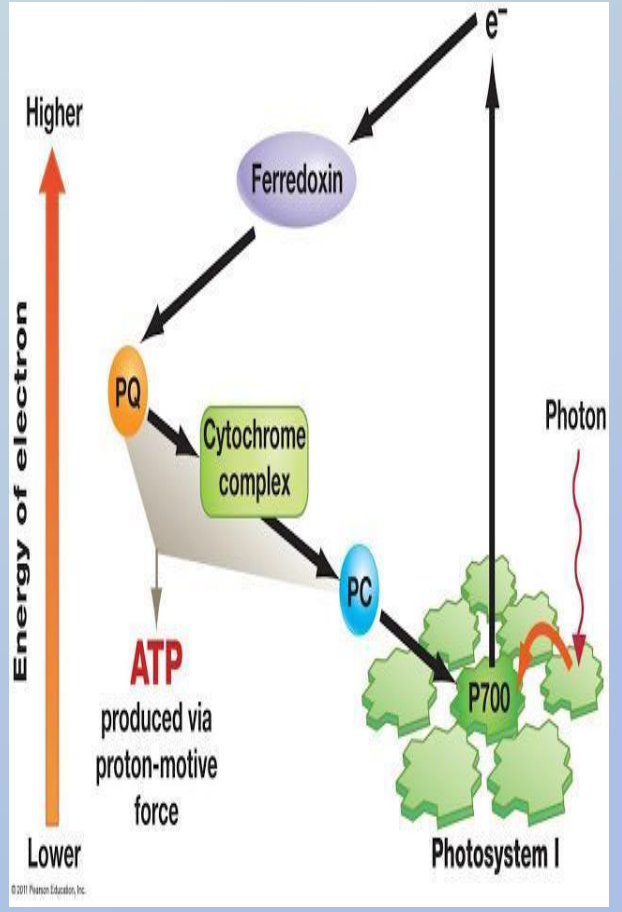
Итог: свет + H_2O + ADP + Pi + $NADP^+$ → O_2 + ATP + NADPH

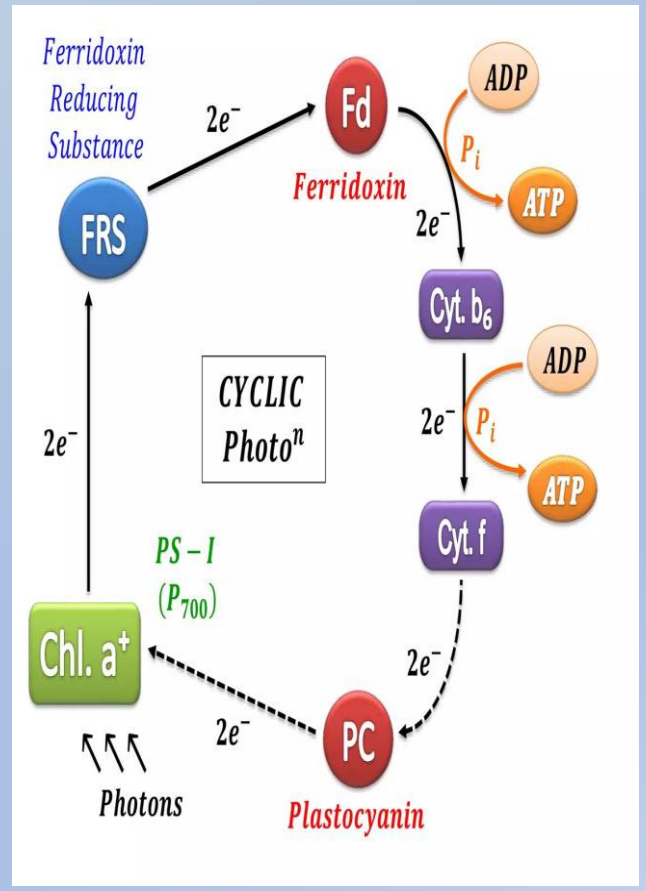
Циклическое фотофосфорилирование

В нём участвует преимущественно PSI.
Электроны, возбуждённые в PSI, вместо восстановления $NADP^+$ возвращаются в электрон-транспортную цепь, способствуя дополнительному формированию протонного градиента.

Результат: образуется дополнительный ATP,
NADPH не образуется,
O_2 не выделяется.

Это позволяет растению регулировать соотношение ATP/NADPH в соответствии с метаболическими потребностями.





Что происходит при циклическом потоке электронов?

Прохождение электронов через **cyt b_6f** способствует увеличению протон-движущей силы через тилакоидную мембрану.

Возникает последовательность:

циклический поток e^- → увеличение ΔpH → АТР-синтаза → АТР

При этом:

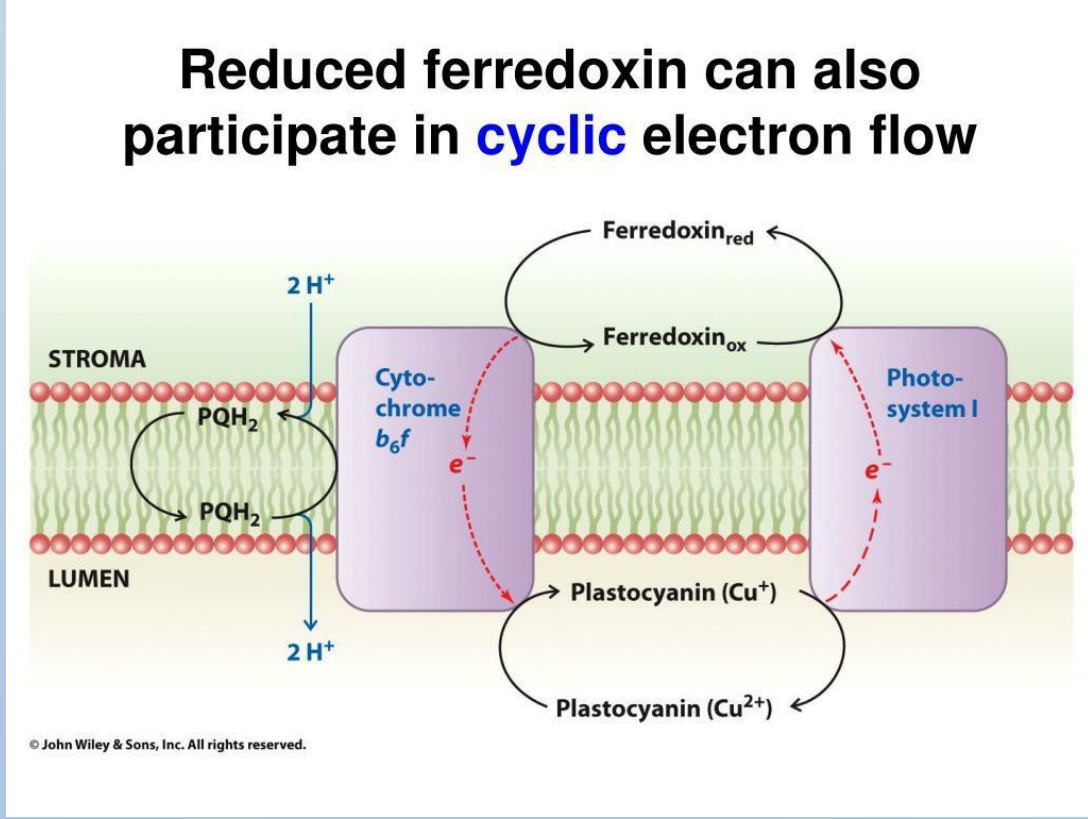
АТР — образуется
NADPH — не образуется
O_2 — не выделяется

Почему нет кислорода? Потому что **PSII и фотолиз воды не участвуют.**

Нет NADPH? Потому что электроны не передаются на **$NADP^+$**, а возвращаются к PSI.

Физиологическое значение

Циклический поток электронов позволяет растению получать дополнительный **АТР без дополнительного образования NADPH**.



Итоговая схема световой фазы фотосинтеза

СВЕТ
↓
PSII (P680)
↓
Фотолиз $H_2O \rightarrow O_2 + H^+ + e^-$
↓
PQ → cyt b_6f → PC
↓
накопление H^+ в люмене
↓
протонный градиент
↓
ATP-синтаза → ATP

Параллельно:

- PSI (P700) → Fd → $NADP^+$ → NADPH
- **Главное,**

Световая фаза фотосинтеза производит два ресурса для фиксации углерода — ATP и NADPH.

ATP обеспечивает энергию, а NADPH — восстановительную силу для цикла Кальвина–Бенсона.

Свет → PSII → электрон-транспортная цепь → PSI → протонный градиент → ATP + NADPH → цикл Кальвина–Бенсона → фиксация CO_2 → органические вещества.

Свойства линейного и циклического фотофосфорилирования

Признак	Линейное (нециклическое)	Циклическое
Фотосистемы	**PSII + PSI**	преимущественно PSI
Реакционные центры	P680 и P700	P700
Источник электронов	**H_2O**	Электроны PSI
Конечный акцептор	**$NADP^+$**	Электроны возвращаются к PSI
Фотолиз воды	**Да**	**Нет**
Выделение O_2	**Да**	**Нет**
Образование NADPH	**Да**	**Нет**
Образование ATP	**Да**	**Да**
Путь электронов	**Линейный**	**Циклический**
Основная роль	**ATP + NADPH для фиксации CO_2**	**Дополнительный ATP, баланс ATP/NADPH**

Цикл Кальвина–Бенсона: общая характеристика

Цикл Кальвина–Бенсона — циклическая последовательность ферментативных реакций, в ходе которых **CO_2 фиксируется и превращается в органические соединения** с использованием энергии **ATP** и восстановительной силы **NADPH**, образованных в световых реакциях фотосинтеза.

Процесс происходит в строме хлоропластов и является основным путём ассимиляции CO_2 у C_3-растений.

Основные особенности

Источник углерода — CO_2.

Первичный акцептор CO_2 — рибулозо-1,5-бисфосфат (RuBP).

Ключевой фермент — RuBisCO.

*Первый стабильный продукт фиксации CO_2 — 3-фосфоглицерат (**3-PGA**).*

*Для реакций используются **ATP и NADPH**, образованные в световой фазе.*

*Непосредственным углеводным продуктом цикла является триозофосфат (**G3P**).*

RuBP постоянно регенерируется, поэтому процесс имеет циклический характер.

- **Три основные стадии цикла**

1. Карбоксилирование

CO_2 + RuBP → 3-PGA

↓

2. Восстановление

3-PGA + ATP + NADPH → G3P

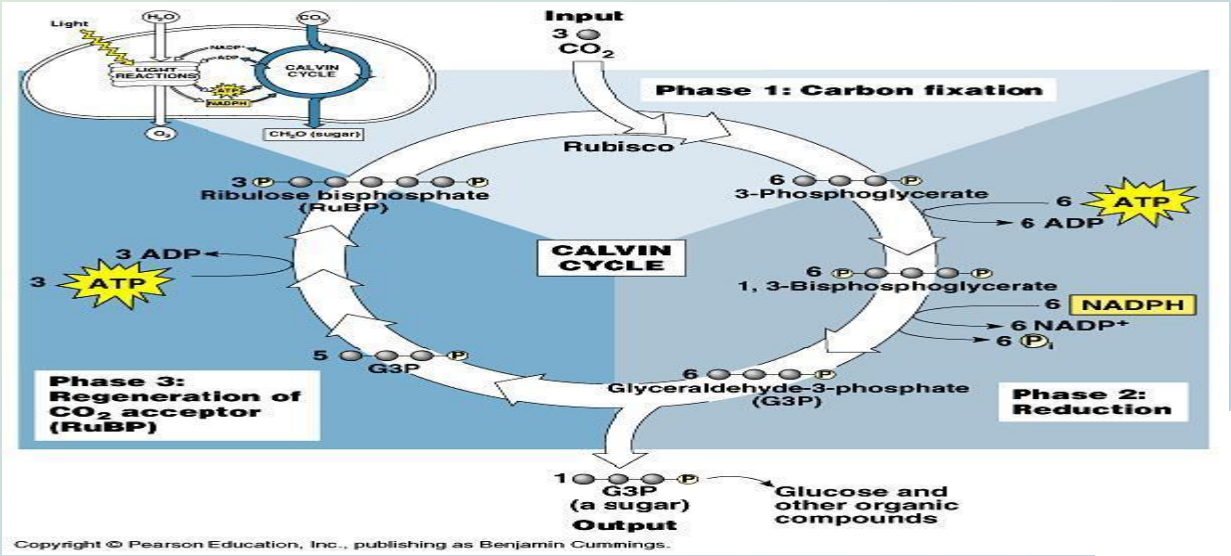
↓

3. Регенерация

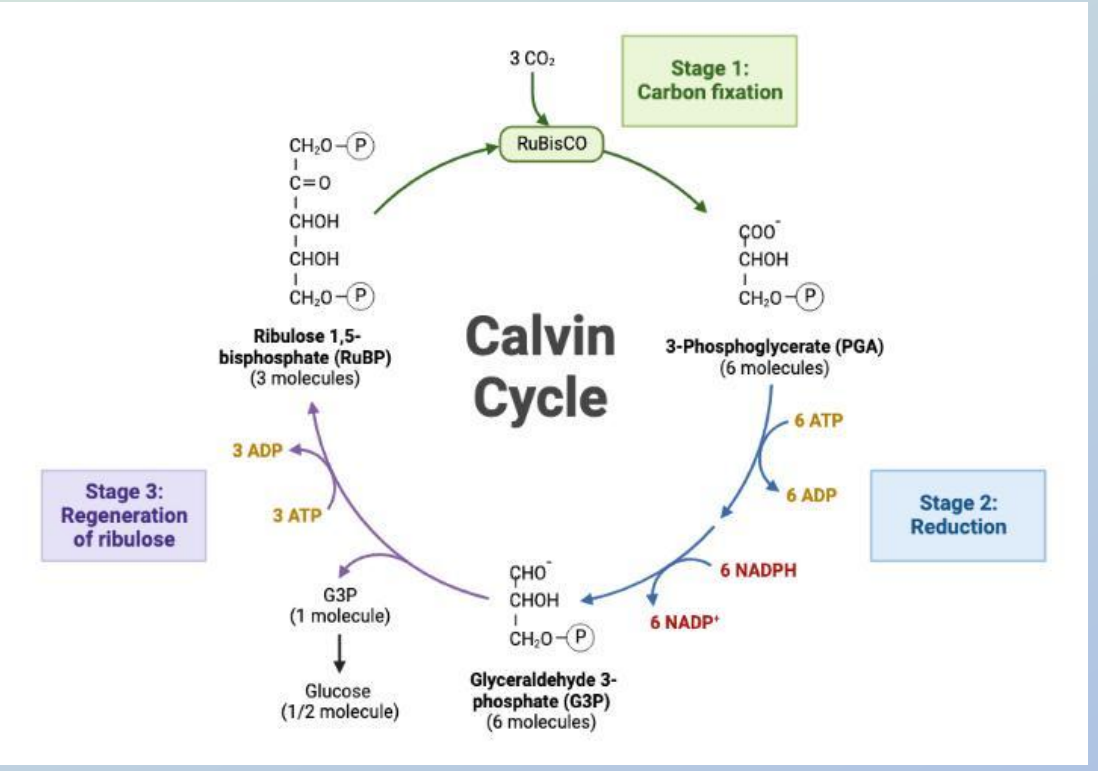
G3P → RuBP с использованием ATP

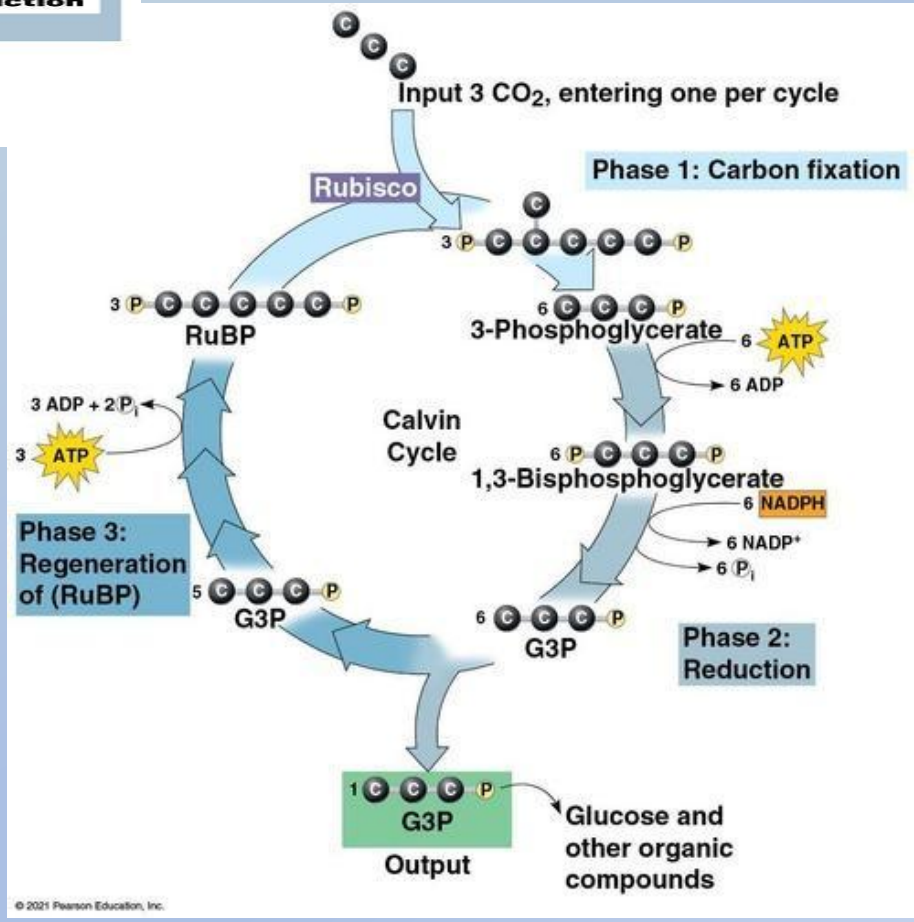
↓

Новый цикл фиксации CO_2



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.





© 2021 Pearson Education, Inc.

1. Карбоксилирование — фиксация CO_2

Первым акцептором CO_2 является пятиуглеродное соединение:

рибулозо-1,5-бисфосфат (RuBP).

Реакцию катализирует фермент:

RuBisCO — рибулозо-1,5-бисфосфат-карбоксилаза/оксигеназа.

CO_2 присоединяется к RuBP:

RuBP (5C) + CO_2 (1C) → нестабильное соединение (6C) → 2 × 3-фосфоглицерат (3-PGA, 3C)

Таким образом, первым стабильным продуктом фиксации CO_2 у C_3-растений является трёхуглеродное соединение 3-PGA. Отсюда происходит название **C_3-фотосинтез.**

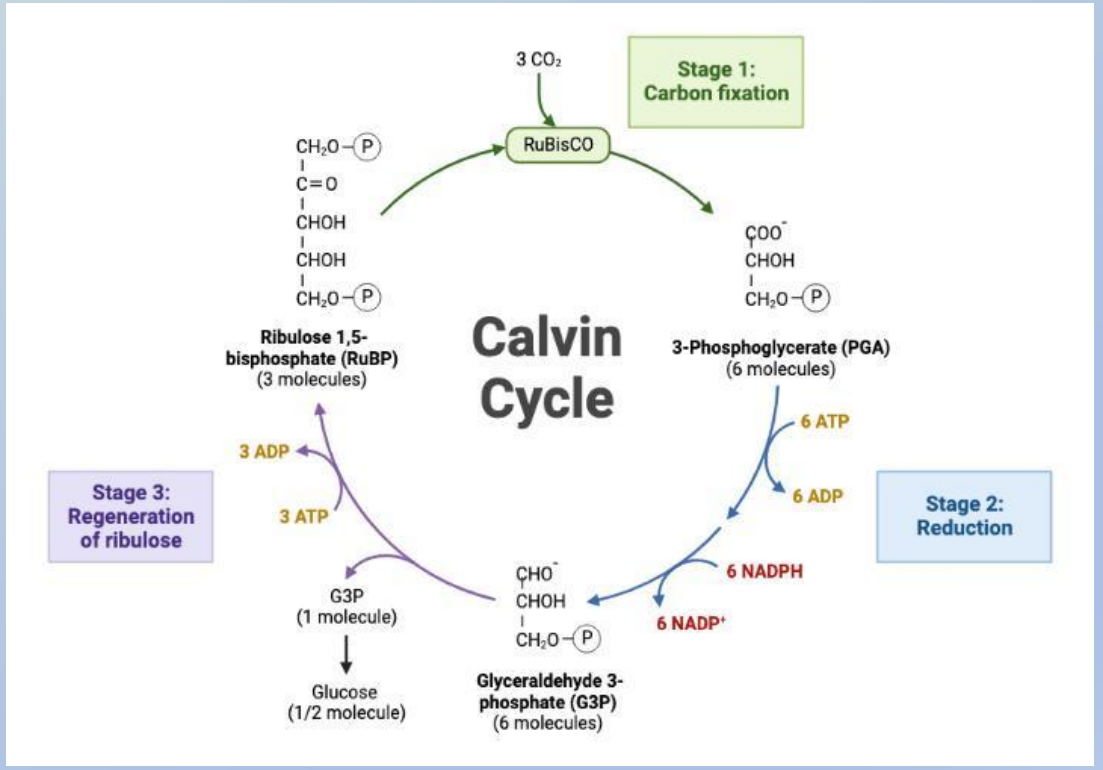
Почему RuBisCO так важна?

RuBisCO обеспечивает поступление неорганического углерода CO_2 в органический метаболизм и считается одним из наиболее распространённых белков биосферы.

Однако фермент обладает двойной активностью:

карбоксилазной: *RuBP + CO_2*
оксигеназной: *RuBP + O_2*

Вторая реакция лежит в основе фотодыхания.



2. Восстановление

На втором этапе 3-PGA преобразуется в триозофосфат, прежде всего глицеральдегид-3-фосфат (G3P).

Для этого используются продукты световой фазы:

ATP → обеспечивает энергию
NADPH → обеспечивает восстановительные эквиваленты

Упрощённо:

3-PGA → ATP → 1,3-бисфосфоглицерат → NADPH → G3P

Часть образовавшегося ***G3P*** выходит из цикла и используется для синтеза:

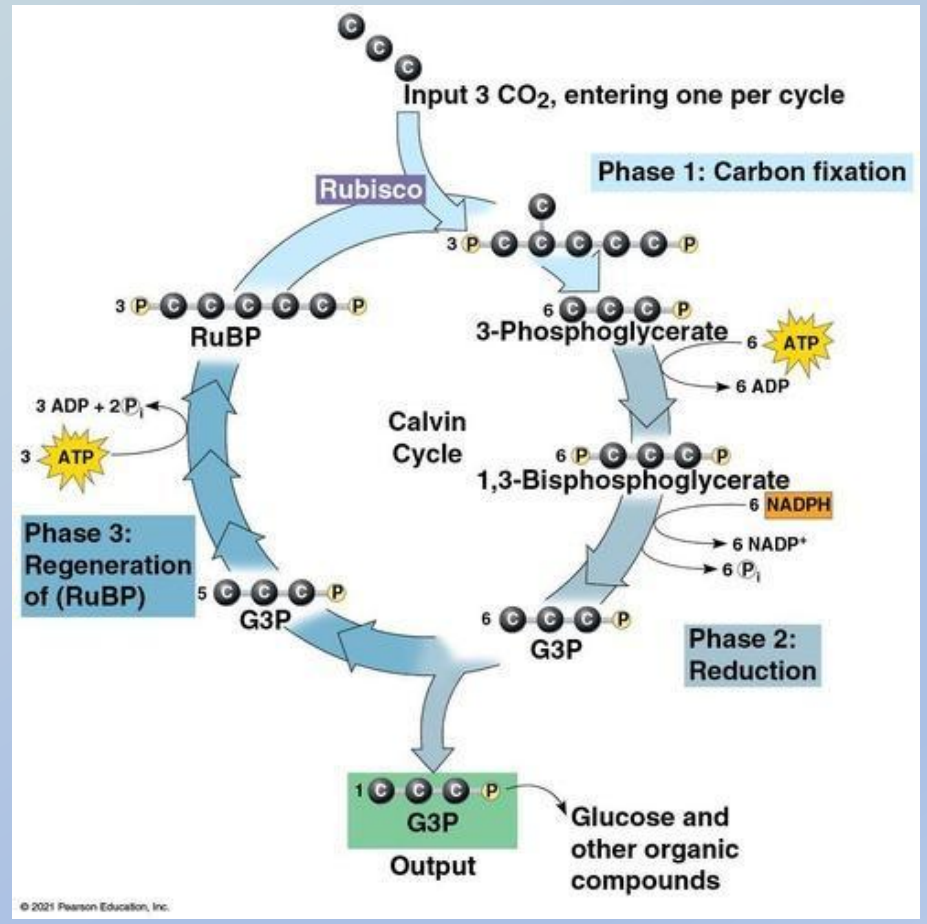
сахарозы;

крахмала;

других углеводов;

а через последующий метаболизм — аминокислот, липидов и других органических соединений.

цикл Кальвина непосредственно не производит свободную глюкозу. **Его непосредственным углеводным продуктом является триозофосфат.**



2. Регенерация RuBP

Большая часть образовавшихся **триозофосфатов** не покидает цикл.

Триозофосфаты проходят серию ферментативных превращений и используются для восстановления исходного акцептора CO_2:

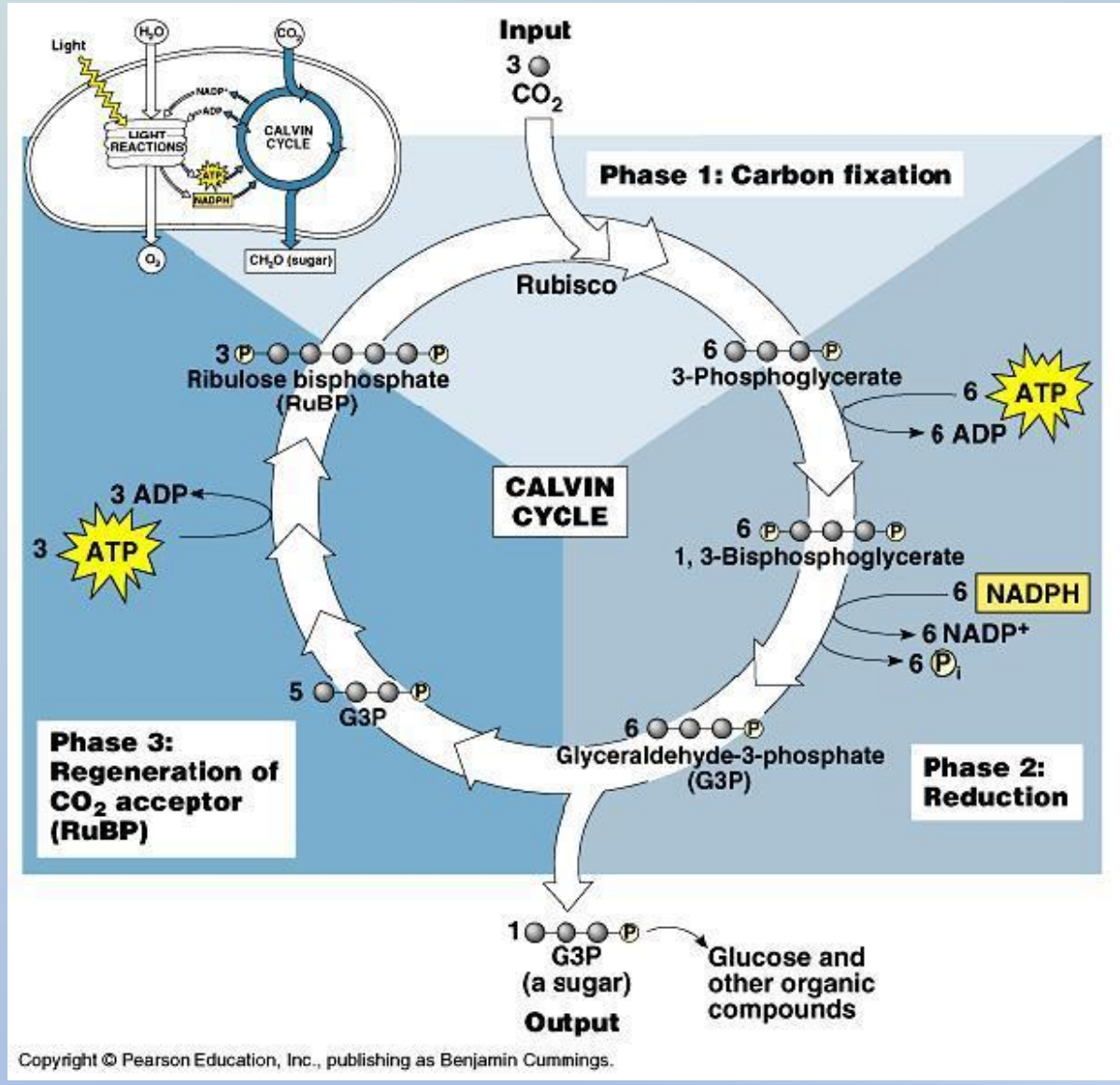
триозофосфаты → рибулозо-5-фосфат → RuBP

Последняя реакция требует АТР и катализируется *фосфорибулокиназой.*

Регенерация RuBP необходима для того, чтобы цикл мог снова принимать новые молекулы CO_2.

Таким образом:

RuBP → фиксация CO_2 → 3-PGA → G3P → регенерация RuBP



Энергетический баланс цикла Кальвина

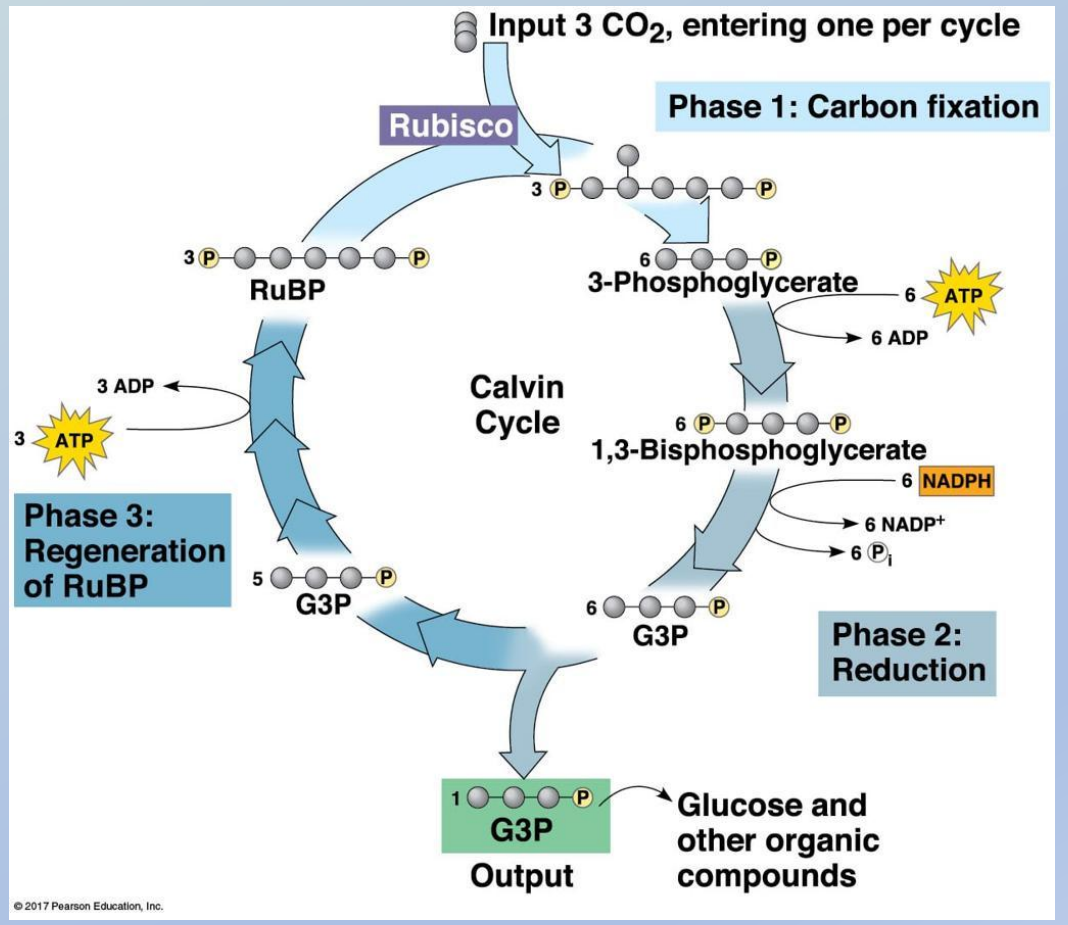
Для фиксации 3 CO_2:

3 CO_2 + 9 ATP + 6 NADPH → 1 чистый G3P (3C)
при одновременной регенерации RuBP.

Для получения углеродного эквивалента одной гексозы требуется фиксация **6 CO_2** и расходуется:

18 ATP + 12 NADPH

То есть цикл Кальвина показывает, зачем **световая фаза производит сразу два энергетических продукта — ATP и NADPH.**



Общая схема фотосинтеза

СВЕТОВАЯ ФАЗА

Свет + H_2O → O_2 + ATP + NADPH

↓

ЦИКЛ КАЛЬВИНА–БЕНСОНА

CO_2 → карбоксилирование → восстановление → регенерация RuBP

↓

G3P → сахароза / крахмал / другие органические вещества

После цикла Кальвина возникает важное физиологическое противоречие: **RuBisCO может связывать не только CO_2, но и O_2.**

При высокой температуре, недостатке воды и закрывании устьиц **отношение CO_2/O_2** в листе снижается, что способствует **оксигеназной реакции RuBisCO.**

Отсюда переходим к фотодыханию, а затем к тому, как C_4- и CAM-растения уменьшают потери углерода, связанные с фотодыханием.

Заключение

Основные выводы лекции

- 1. Фотофосфорилирование обеспечивает синтез АТФ за счёт энергии протонного градиента, формируемого при светозависимом транспорте электронов.
- 2. Циклический транспорт электронов вокруг фотосистемы I способствует дополнительному синтезу АТФ без образования NADPH и выделения O_2.
- 3. Цикл Кальвина–Бенсона обеспечивает ассимиляцию CO_2 с использованием АТФ и NADPH, образующихся в световых реакциях.
- 4. C_3-, C_4- и CAM-фотосинтез представляют различные стратегии ассимиляции углерода, связанные с адаптацией растений к условиям среды.
- 5. Фотодыхание связано с оксигеназной активностью RuBisCO и взаимодействием хлоропластов, пероксисом и митохондрий.
- 6. Интенсивность фотосинтеза определяется взаимодействием внутренних физиологических механизмов и внешних факторов: света, температуры, CO_2 и водообеспеченности.
- 7. Современные методы исследования — газообменный анализ, флуоресценция хлорофилла и определение фотосинтетических пигментов — позволяют оценивать функциональное состояние фотосинтетического аппарата.
- Главный вывод: фотосинтез представляет собой согласованную систему энергетических, биохимических и регуляторных процессов, обеспечивающих ассимиляцию углерода, образование органических веществ и продуктивность растений.

Контрольные вопросы

1. Что такое фотофосфорилирование и каков механизм синтеза АТФ в хлоропластах?
2. Чем отличаются циклический и нециклический транспорт электронов?
3. Каковы основные этапы цикла Кальвина–Бенсона?
4. Какую роль выполняет RuBisCO в фиксации CO_2?
5. Каковы особенности C_3-фотосинтеза?
6. Какие анатомические и биохимические особенности характерны для C_4-растений?
7. В чём заключается механизм CAM-фотосинтеза?
8. Что такое фотодыхание и каково его физиологическое значение?
9. Как интенсивность освещения влияет на фотосинтез?
10. Как температура, концентрация CO_2 и водный дефицит регулируют фотосинтетическую активность?
11. Какие физиологические показатели используют для оценки интенсивности фотосинтеза?
12. Как методы газообменного анализа и флуоресценции хлорофилла позволяют оценивать состояние фотосинтетического аппарата?

Рекомендуемая литература

- Основная литература
- 1. Taiz L., Møller I.M., Murphy A., Zeiger E. Plant Physiology and Development. 7th ed. Oxford University Press, 2022.
- 2. Buchanan B.B., Gruissem W., Jones R.L. (Eds.). Biochemistry and Molecular Biology of Plants. 2nd ed. Wiley Blackwell, 2015.
- 3. Blankenship R.E. Molecular Mechanisms of Photosynthesis. 3rd ed. Wiley Blackwell, 2021.
- Дополнительная научная литература
- 4. Sage R.F., Sage T.L., Kocacinar F. Photorespiration and the evolution of C_4 photosynthesis. Annual Review of Plant Biology. 2012, 63, 19–47. https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105511
- 5. Furbank R.T. Walking the C_4 pathway: past, present, and future. Journal of Experimental Botany. 2016, 67, 4057–4066. https://doi.org/10.1093/jxb/erw161
- 6. Lawson T., Vialet-Chabrand S. Speedy stomata, photosynthesis and plant water use efficiency. New Phytologist. 2019, 221, 93–98. https://doi.org/10.1111/nph.15330