

**Universidade de São Paulo  
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Transformação genética cloroplastidial visando aumento da eficiência  
fotossintética em tabaco (*Nicotiana tabacum*)**

**André Luiz Barboza**

Tese apresentada para obtenção de título de  
Doutor em Ciências. Área de concentração:  
Fisiologia e Bioquímica de Plantas

**Piracicaba  
2016**

**André Luiz Barboza**  
**Biólogo**

**Transformação genética cloroplastidial visando aumento da eficiência fotossintética em  
tabaco (*Nicotiana tabacum*)**

Orientadora  
Profa. Dra. **HELAINÉ CARRER**

Tese apresentada para obtenção de título de  
Doutor em Ciências. Área de concentração:  
Fisiologia e Bioquímica de Plantas

**Piracicaba**  
**2016**

A **Deus**, por sempre iluminar meu caminho...

Dedico aos meus pais,

**Izaías Barboza do Carmo e Dinalva Moreira Barboza,**

aos meus irmãos,

**Maurício Moreira Barboza, Alberto Moreira Barboza e Izaías Moreira Barboza,**

às minhas lindas **Érika Bonora Moreira Barboza e Cleonice Aparecida Ferreira Moreira Barboza,**

pelo amor, carinho, força e especialmente por sempre acreditarem em mim

Muito obrigado!



## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Profa. Dra. **Helaine Carrer**, pelas oportunidades, pela confiança depositada desde meu mestrado e também pelo apoio nos momentos difíceis.

À Msc **Valentina de Fátima De Martin**, dedicada gerente do laboratório, pelo incentivo e ensinamentos e dedicação dispensado a mim, por todos esses anos.

Ao Dr. **Enio Tiago** pelo apoio, incentivo dispensado a mim nesses anos.

Ao Msc. **Antônio Amaral** pelo apoio e incentivo dispensado a mim nesses anos.

Ao Prof. Dr. **Luiz Antônio Gallo** e ao Prof. Dr. **Daniel S. Moura** pelo apoio, incentivo e ensinamentos.

À **Solizete M. G. Silva** pelo apoio, incentivo e ensinamentos.

Ao Dr. **Esteban Galeano**, à Dra. **Aline Borges** pelo apoio e incentivo, aos alunos de doutorado **Tânia Batista, Ana Paula Preczenhak, Keini Dressano, Paulo Ceciliato, Tábata Bergonci, Akemi, Cida** e aos alunos de iniciação científica **Nuno e Aline**, todos os professores e alunos contemporâneos, do **Programa de Fisiologia e Bioquímica de Plantas**, que em momento oportuno, dispensaram a devida atenção, pelos ensinamentos e pelo incentivo.

À **ESALQ**, pela minha formação na pós-graduação.

À **CAPES**, pela bolsa de doutorado concedida.

**A TODOS o meu muito obrigado!**



Pensar é fácil.

Agir é difícil.

Agir conforme o que pensamos,  
isso ainda o é mais.

(Johann Wolfgang von Goethe)



## SUMÁRIO

RESUMO .....	11
ABSTRACT .....	13
1 INTRODUÇÃO .....	115
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	19
2.1 Fotossíntese .....	19
2.2 RuBisCO .....	25
2.3 Alterações na eficiência da RuBisCO .....	26
2.4 Fotorrespiração .....	27
2.5 Transformação genética de cloroplastos .....	29
3 MATERIAL E MÉTODOS .....	37
3.1 Plantas de tabaco <i>in vitro</i> .....	37
3.2 Vetores de transformação de cloroplastos .....	37
3.3 Transformação genética de cloroplastos de tabaco .....	40
3.4. Obtenção de Plantas transplastômicas Homoplásmicas .....	41
3.5 Identificação das linhagens transgênicas por PCR .....	42
3.6 Identificação do gene <i>rbcL</i> nas linhagens transgênicas .....	43
3.7 Sequenciamento do gene <i>rbcL</i> em plantas Transplastômicas .....	46
3.8 Cultivo das linhagens transplastômicas em casa de vegetação .....	47
3.9 Análise de homoplasma pelo teste de germinação de sementes .....	47
3.10 Análises fisiológicas da taxa fotossintética, condutância estomática e transpiração das plantas transplastômicas .....	48
3.11 Análise estatística .....	50
4 RESULTADOS .....	51
4.1 Transformação Genética de Cloroplastos de Tabaco .....	51
4.2 Identificação do gene marcador seletivo <i>aadA</i> .....	52
4.3 Análise de homoplasma das plantas Transgênicas por PCR .....	53
4.4 Substituição do gene <i>rbcL</i> no genoma do cloroplasto .....	55
4.5 Análise da presença do sítio de restrição <i>AccI</i> nas linhagens transplastômicas .....	56
4.6 Análise da presença do sítio de restrição <i>NdeI</i> nas linhagens transplastômicas .....	59
4.7 Clivagem de sítios de restrição inseridos na sequência <i>atpB::rbcL::aadA::accD</i> .....	60
4.8 Alinhamento das linhagens transplastômicas .....	64
4.9 Germinação de sementes .....	65

4.10 Análise fisiológica das taxas fotossintética, de condutância estomática e transpiração ...	66
5. DISCUSSÃO .....	71
5.1 Inserção do transgene <i>rbcL</i> -sintético por recombinação homóloga .....	71
5.2 Análise fisiológica da taxa fotossintética.....	73
CONCLUSÕES .....	77
REFERÊNCIAS.....	79

## RESUMO

### Transformação genética cloroplastidial visando aumento da eficiência fotossintética em tabaco (*Nicotiana tabacum*)

Ribulose-1,5-Bifosfato (RuBP) carboxilase/oxigenase (RuBisCO) é a enzima chave para a fixação do carbono atmosférico e para a produtividade das plantas. Não há, até o momento, uma metodologia estabelecida para otimizar o processo de fixação do CO<sub>2</sub> nas diferentes espécies de plantas. Entretanto, a disponibilidade de um protocolo de transformação genética de cloroplasto de tabaco permite tentativas de manipulação da enzima RuBisCO visando aumento da eficiência fotossintética. Nas plantas, esta proteína é formada por 8 subunidades menores codificadas pelo gene *rbcS* localizado no genoma nuclear e por 8 subunidades maiores codificadas pelo gene *rbcL* localizado no genoma de cloroplastos. Neste trabalho, dois genes *rbcL*-sintéticos, um com a substituição da alanina (A) 378 por uma valina (V) (A378V) e outro sem a substituição foram utilizados para a construção dos vetores pTT629, pTT630, pTT632 e pTT633. Estes vetores foram usados para transformar o cloroplasto de folhas de tabaco, pelo método de biolística. Um total de 35 plantas transplastômicas se desenvolveram sob seleção dos antibióticos espectinomicina (500 mg/L) e estreptomicina (500 mg/L) e a análise molecular dos sítios de restrição *AccI*, *EcoRI*, *NdeI* e *NsiI*, de fragmentos amplificados da sequência codante *atpB::rbcL::aadA::accD* demonstrou a integração dos genes *rbcL*-sintéticos em 11 linhagens transplastômicas. Sementes F1 destas plantas demonstraram ser homoplásmicas pela germinação na presença do antibiótico espectinomicina (500 mg/L). Análises fisiológicas das taxas de fotossíntese (*A*), condutância estomática (*gs*) e de transpiração (*E*) das plantas transplastômicas (A378V) mantidas em casa-de-vegetação produziram valores maiores e significativos, quando comparados com as plantas sem a mutação e controle não transgênicos. O aumento da taxa de fotossíntese das linhagens transplastômicas indicam a possibilidade de aumento da atividade catalítica da RuBisCO. A compreensão da interação fotossintética com a atividade fotorrespiratória poderá permitir explorar e estender possíveis benefícios, como o aumento da produtividade em cultivares de interesse agrônomo.

Palavras-chave: Fotossíntese; RubisCO; *rbcL*; Transformação de cloroplastos; Fotorrespiração.



## ABSTRACT

### **The genetic transformation of chloroplast seeking to increase the photosynthesis efficiency in tobacco (*Nicotiana tabacum*)**

Ribulose-1,5-Bisphosphate (RuBP) carboxylase/ oxygenase (RuBisCO) is the key enzyme for the fixation of atmospheric carbon and productivity of plants. At moment, no single solution to optimize the CO<sub>2</sub> fixing process by the different species of plants. The availability of a few efficient chloroplast transformation protocols for all cultivars also directs attempts to manipulate the larger and small subunit of RuBisCO. In plants, this protein consists of coding form eight smaller subunits encoding the *rbcS* gene and 8 larger subunits of the *rbcL* gene respectively located in the nucleus and chloroplasts. Using two *rbcL*-synthetic genes, with an alanine (Ala) 378 substituting a valine (Val) (A378V) and another one without the replacement were used in the construction of pTT629, pTT630, pTT632 and pTT633 vectors, which were used in the method of biolistic to driving these transgenes into the chloroplast genome of tobacco. A total of 35 transplastomic plants were grown under selection of antibiotics spectinomycin (500mg/ L) and streptomycin (500mg/ L) and the molecular analysis using restriction sites *AccI*, *EcoRI*, *NdeI* and *NsiI* from the amplified fragments of *atpB::rbcL::aadA::accD* sequence displayed the *rbcL*-synthetic genes integrated into the plastome of the 11 transplastomic lines. The F1 seeds of these plants were shown to be homoplasmic from germinating in the presence of the antibiotic spectinomycin (500mg / L). The physiology analyzes of photosynthesis (*A*), stomatal conductance (*gs*) and transpiration (*E*) rates of these transplastomic lines (A378V) plants kept in green-house produced the highest and significant values when compared to the control plants without the mutation and non-transgenic control. The increase of the photosynthesis rate from transplastomic lines indicates the possibility of increasing the catalytic activity of RuBisCO. The understanding of the photosynthetic interaction with photorespiration activity may allow explore more the potential benefits, such as increased productivity in crops of agronomic interest.

Keywords: Photosynthesis; RuBisCO; *rbcL*; Genetic transformation of chloroplasts; Photorespiration



## 1 INTRODUÇÃO

Avanços importantes têm sido obtidos nos últimos anos, em vários aspectos sobre a biologia que envolve a enzima Ribulose-1,5-bisfosfato-carboxilase/oxigenase (RuBisCO) (PORTIS; PARRY, 2007; WHITNEY; ANDREWS, 2001a). Apreciações sobre a complexa atividade catalítica dessa enzima e a identificação de características e possíveis variações cinéticas que possam ser encontradas, em diferentes homólogos da RuBisCO, é um dos impulsos para produzir variantes melhoradas de cultivares agronômicas (PARRY et al., 2007; RAINES, 2011; 2006; TCHERKEZ et al., 2006; ANDREWS; WHITNEY, 2003).

A enzima RuBisCO é a proteína mais abundante na biosfera terrestre (RAVEN, 2013; ELLIS, 1979). A atenção dada à RuBisCO deve-se ao papel que esta enzima desempenha na manutenção e perpetuação de praticamente todas as espécies. A capacidade de fixar o gás atmosférico CO<sub>2</sub> na reação da fotossíntese habilita essa enzima como uma estrutura molecular chave para as diversas reações fisiológicas e a adaptação das diversas espécies em diferentes biomas (SPREITZER; SALVUCCI 2002).

A RuBisCO tem uma massa molecular de aproximadamente 560 000 Daltons, com oito cópias de dois tipos de subunidades, maior (“L”) e menor (“S”) que fazem parte da estrutura desta holoenzima (TABITA et al., 2007; KNIGHT et al., 1990). Esta enzima é codificada pelo gene *rbcLS*, sendo que o gene *rbcL* codifica os 56 000 Daltons das subunidades “L”, cada qual com a forma  $\alpha\beta$ -cilindros. Em conjunto, está a subunidade “S” com 15 000 Daltons codificados pela família do gene nuclear *rbcS*. A subunidade “S” é processada por precursores durante a entrada no interior do cloroplasto, para então ser acoplado à estrutura da subunidade “L”, através de rotas que envolvem a ação molecular de chaperonas (DEAN et al., 1989).

No interior do cloroplasto, a enzima RuBisCO catalisa a reação carboxilase, entre o CO<sub>2</sub> e a molécula ribulose-1,5-bisphosphate (RuBP) para formar duas moléculas de 3 carbonos, o fosfoglicerato (3PG). Entretanto, o O<sub>2</sub> compete com o CO<sub>2</sub> pelo mesmo sítio ativo desta enzima (LAING et al., 1974). A atividade oxigenase que promove a reação do O<sub>2</sub> com a RuBP resulta na produção de apenas uma molécula de 3PG (CEGELSKI; SCHAEFER, 2006). Neste processo os dois carbonos da RuBP restantes formam o fosfoglicolato que é o reagente inicial da fotorrespiração, um processo que leva à perda de 30% de CO<sub>2</sub> que poderia

ser usado em um potencial processo de fixação na fotossíntese (PETERHÄNSEL et al., 2011; SOMERVILLE). Esta perda gerou diversos questionamentos e relatos, se a produtividade das plantas poderia ser melhorada pela redução da atividade oxigenase ou pelo aumento da atividade carboxilase.

Muitos progressos têm sido obtidos pela elucidação dos mecanismos catalíticos e da estrutura cristal em raios-x da RuBisCO (ANDERSSON, 1996). Alternativas natural e sintética de alterar o processo de fixação do carbono tem sido limitada (BAR-EVEN et al. 2010), o que faz da RuBisCO a única enzima capaz de suportar a rede de assimilação do carbono que leva ao ganho de biomassa. A tentativa de melhorar ou aperfeiçoar a RuBisCO pode implicar em melhorar a produtividade de cultivares de interesse agrônômico e o uso eficiente dos recursos envolvidos (PARRY et al. 2007; WHITNEY et al. 2011a). A alteração no clima em escala global e a elevação da temperatura muda a disponibilidade de água que impacta na produtividade das cultivares agrônômicas e na assimilação do carbono pelas plantas, juntamente com o aumento populacional tem gerado esforços para o aumento da produção de biomassa, pelo uso de tecnologias que possam dirigir a expressão da RuBisCO para gerar uma planta melhorada, pela alteração da atividade catalítica da RuBisCO que que otimize o processo da fotossíntese e que produza o aumento de biomassa da planta. (WHITNEY et al., 2011b; RAINES 2003).

Por estas razões, o foco, na engenharia da RuBisCO nos cloroplastos de plantas superiores, tem sido dirigido para identificar o nível de controle da expressão desta enzima, pela predição e o exame da influência de sequências regulatórias e do códon degenerado. Outras questões, como as diferentes classes de RuBisCO exógenas podem ser usadas para construir uma nova estrutura dessa enzima que possa ser inserida no plastoma e se manter estável. Além de como usar uma sequência da subunidade “L” de outras espécies de plantas que funcione adequadamente na estruturação com a subunidade “S” nativa da enzima, sem detrimento da atividade catalítica (SHARWOOD et al., 2008). As tecnologias do DNA recombinante aliado à tecnologia de transformação genética por biolística, dentre a mais usada, na transformação do cloroplasto são importantes para a produção de novas cultivares que possam apresentar maior assimilação do carbono atmosférico, melhora na taxa fotossintética e conseqüentemente na produtividade das plantas. Assim, a inserção do gene *rbcL*-sintético que contem a alteração em um único códon, no genoma do cloroplasto, poderia

substituir, por recombinação homóloga, a sequência nativa do plastoma, visando alterar a eficiência da capacidade fotossintética das linhagens transplastômicas de tabaco.



## 6 CONCLUSÕES

A transformação genética do cloroplasto realizada neste trabalho confirmou que o método por biolística é eficiente para a transformação genética do cloroplasto, pois permitiu inserir um gene *rbcL*-sintético no plastoma dos clones de tabaco não transgênico.

As técnicas moleculares, como a PCR, o sequenciamento a partir do DNA total de folhas de tabaco transformados com os vetores pTT629, pTT630, pTT632 e pTT633 que contem o gene *rbcL*-sintético e a clivagem de sítios de restrição específicos, de fragmentos amplificados desse DNA total permitiram identificar e confirmar a inserção do transgene, no genoma do cloroplasto, em 11 linhagens transplastômicas de tabaco.

A identificação da inserção do transgene *rbcL*-sintético, pela clivagem nos sítios de restrição *EcoRI*, *AccI*, *NdeI*, *NsiI* permitiu perceber que o processo de recombinação homóloga é uma vantagem, por ocorrer no genoma do cloroplasto, tornando-se uma ferramenta natural e estratégica para auxiliar na inserção de genes exógenos de interesse após o processo de transformação genética. A identificação, pela clivagem dos sítios de restrição, de linhagens transplastômicas com, apenas, a inserção da região codante do gene marcador seletivo no transplastoma, mostrou que a recombinação homóloga, pode inserir parte e não a sequência exógena inteira.

A pressão de seleção é essencial para se obter as linhagens transplastômicas. As sementes produzidas por estas plantas germinaram em meio seletivo com fenótipo verde, confirmando, a prévia identificação pela técnica da PCR, o estado de homoplasma dos cloroplastos nessas linhagens.

Os valores maiores das taxas de *A*, *gs* e *E*, das linhagens transplastômicas quando comparados com a planta controle de tabaco sugere ser devido à inserção da enzima da RuBisCO com a mutação A378V, no transplastomas dessas linhagens.

As taxas de *gs* e de *E* maiores nas linhagens transplastômicas em relação ao controle pode ser devido à maior taxa de assimilação de CO<sub>2</sub>, mostrando uma relação positiva e diretamente proporcional entre os processos de fotossíntese, condutância estomática e de transpiração.

Não foi observado aumento no tamanho e espessura do internó e da área foliar que pudesse estar relacionado com o aumento da taxa de fotossíntese, no período em que o experimento foi realizado, havendo necessidade de complementação com estudos em diferentes níveis de  $\text{CO}_2$  e  $\text{O}_2$ , em que se possa ser considerado maiores detalhes como as taxas da atividade catalítica da enzima RuBisCO, com as taxas de  $A$ ,  $g_s$ ,  $E$ , fotorrespiração e a alocação de carbono, dentro da planta.

## REFERÊNCIAS

- ACHARYA, K.; NEUPANE, B.; ZAZUBOVICH, V.; SAYRE, R.T.; PICOREL, R.; SEIBERT, M.; JANKOWIAK, R. Site energies of active and inactive pheophytins in the reaction center of photosystem ii from *Chlamydomonas reinhardtii*. **The Journal of Physical Chemistry**, New York, v. 116, n. 12, p. 3890-3899, 2012.
- ALLAKHVERDIEVA, S.I.; TOMOC, T.; SHIMADAB, Y.; KINDOC, H.; NAGAOD, R.; KLIMOVA, V.V.; MIMUROB, M. Redox potential of pheophytin A in photosystem ii of two cyanobacteria having the different special pair chlorophylls, **Proceedings National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 110, p. 1-6, 2010.
- ALONSO, H.; BLAYNEY, M.J.; BECK, J.L.; WHITNEY S.M. Substrate-induced assembly of *Methanococcoides burtonii* D-ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/ oxygenase dimers into decamers. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 284, p. 33876-33882, 2009.
- ANDERSON B., STYRING S. Photosystem II: molecular organization, function and acclimation. **Currents Topics in Bioenergetics**, Amsterdam, v. 16, p. 2-81, 1991.
- ANDERSSON, I. Large structures at high resolution: the 1.6 Å crystal structure of spinach ribulose-1,5-bis-phosphate carboxylase/ oxygenase complexed with 2-carboxyarabinitol bisphosphate. **Journal of Molecular Biology**, London, v. 259, p. 160-74, 1996.
- AMERONGEN, H.; CROCE, R. Light harvesting in photosystem II. **Photosynthesis Research**, Washington, v. 113, n. 2/3, p. 251-263, 2013.
- ANDREWS, J.T.; LORIMER, G.H. Rubisco: structure, mechanisms and prospects improvement. In: HALEH, M.D.; BOARDMAN, N.K. (Ed.). **Biochemistry of plants**. New York: Academic Press, 1987. v. 10, p. 132-207.
- ANDREWS, T.J.; WHITNEY, S.M. Manipulating ribulose bisphosphate carboxylase/oxygenase in the chloroplasts of higher plants. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 414, p. 159-169, 2003.
- BAR-EVEN, A.; NOOR, E.; LEWIS, N.E.; MILO, R. Design and analysis of synthetic carbon fixation pathways. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, Washington, v. 107, p. 8889–8894, 2010.
- BARKAN, A.; WALKER, M.; NOLASCO, M.; JOHNSON, D. A nuclear mutation in maize blocks the processing and translation of several chloroplast mRNAs and provides evidence for the differential translation of alternative mRNA forms. **EMBO Journal** v. 13, p. 3170–3181, 1994.
- BASSI, R.; SANDONA, D.; CROCE, R. Novel aspects of chlorophyll a/b-binding proteins. **Physiologia Plantarum**, Praha, v. 100, p. 769–779, 1997.
- BAUWE, H.; HAGEMANN, M.; KERN, R.; TIMM, S. Photorespiration has a dual origin and manifold links to central metabolism. **Current Opinion in Plant Biology**, Berlin, v. 15, p. 269–275, 2012.

- BERNARDO, M.K.O.; ORGANO, V.G. Chlorophyll as a simple, inexpensive and environment-friendly colorimetric indicator for NO<sub>2</sub> gas. **Oriental Journal of Chemistry**, BHOPAL, v. 30, n. 2, p. 445-449, 2014.
- BOCK, R. Transgenic plastids in basic research and plant biotechnology. **Journal of Molecular Mycology**, London, v. 312, n. 3, p. 425-38, Sept.. 2001.
- BOCK, R.; KHAN, M.S. Taming plastids for a green future. **Trends in Biotechnology**, Barking, v. 22, p. 311-318, 2004.
- CARMO-SILVA, A.; SALVUCCI, M.E. The temperature response of CO<sub>2</sub> assimilation, photochemical activities and Rubisco activation in *Camelina sativa*, a potential bioenergy crop with limited capacity for acclimation to heat stress. **Planta**, Berlin, v. 9, p. 1817-1832, 2012.
- CARRER, H. Transformação de cloroplastos. **Revista Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Uberlândia, v. 1, n. 5, p. 52-54, 1998.
- CARRER, H.; MALIGA, P. Targeted insertion of foreign genes into the tobacco plastid genome without physical linkage to the selectable marker gene. **BioTechnology**, New York, v. 13, n. 8, p. 791-794, 1995.
- CARRER, H.; BARBOSA, A.L.; RAMIRO, D.A. Biotecnologia na Agricultura, **Estudos Avançados**, São Paulo, v. 24, p. 156-157, 2010.
- CARRER, H.; HOCKENBERRY, T.N.; SVAB, Z.; MALIGA, P. Kanamycin resistance as a selectable marker for plastid transformation in tobacco. **Molecular & General Genetics**, Berlin, v. 241, p. 49-56, 1993.
- CEGELSKI, L.; SCHAEFER, J. NMR determination of photorespiration in intact leaves using in vivo <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> labeling. **Journal of Magnetic Resonance**, San Diego, v. 178, n. 1, p. 1-10, 3006
- CHITNIS, P.R.; THORNER, J.P. The major light-harvesting complex of photosystem II: aspects of its molecular and cell biology. **Photosynthesis Research**, Washington, v. 16, p. 41-63, 1988.
- CLELAND, W.W.; ANDREWS, T.J.; GUTTERIDGE, S.; HARTMAN, F.C.; LORIMER, G.H. Mechanism of Rubisco: the carbamate as general base. **Chemical Reviews**, Washington, v. 98, p. 549-561, 1998.
- DAY, A.; GOLDSCHMIDT-CLERMONT, M. The chloroplast transformation toolbox: selectable markers and marker removal. **Plant Biotechnology Journal**, Oxford, v. 9, p. 540-553, 2011.
- DEAN, C.; PICHERSKY, E.; DUNSMUIR, P. Structure, evolution, and regulation of RbcS genes in higher plants, **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 40, p. 415-439, 1989.
- DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, Hauppauge, v. 19, p. 11-15, 1987.

EIBL, C.; ZOU, Z.; BECK, A.; KIM, M.; MULLET, J.; KOOP, H.U. In vivo analysis of plastid *psbA*, *rbcL* and *rpl32* UTR elements by chloroplast transformation: tobacco plastid gene expression is controlled by modulation of transcript levels and translation efficiency. **The Plant Journal**, Oxford, v. 19, p. 333-345, 1999.

ELLIS, R.J. Most abundant protein in the world. **Trends Biochemical Science**, Amsterdam, v. 4, p. 241-244, 1979.

EVANS, J.R. The relationship between CO<sub>2</sub>-limited photosynthetic rate and ribulose-1,5-bisphosphate-carboxylase content in two nuclear-cytoplasm substitution lines of wheat, and the coordination of Ribulose-bisphosphate-carboxylation and electron-transport capacities, **Planta**, Berlin, v. 167, n. 3, p. 351-358, 1986.

FALCONE, D.L.; TABITA, F.R. Expression of endogenous and foreign Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase (RuBisCO) genes in a RuBisCO deletion mutant of *Rhodobacter sphaeroides*. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 173, n. 6, p. 2099-108, 1991.

FARQUHAR, G.D.; SHARKEY, T.D. Stomatal conductance and photosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology**, Boca Raton, v. 33, p. 317-345, 1982.

FERNIE, A.R.; BAUWE, H.; EISENHUT, M.; FLORIAN, A.; HANSON, D.T.; HAGEMANN, M.; KEECH, O.; MIELEWCZIK, M.; NIKOLOSKI, Z.; PETERHÄNSEL, C.; ROJE, S.; SAGE, R.; TIMM, S.; VON CAMMERER, S.; WEBER, A.P.M.; WESTHOFF, P. Perspectives on plant photo respiratory metabolism. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 15, n. 4, p. 748-53, 2012.

FURBANK, R.T.; HATCH, M.D. Mechanism of C<sub>4</sub> photosynthesis: the size and composition of the inorganic carbon pool in bundle-sheath cells. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 85, p. 958-964, 1987.

GALMÉS, J.; KAPRALOV, M.V.; ANDRALOJC, P.J.; CONESA, M.À.; KEYS, A.J.; PARRY, M.A.; FLEXAS J. Expanding knowledge of the Rubisco kinetics variability in plant species: environmental and evolutionary trends. **Plant, Cell & Environment**, New York, v. 37, n. 9, p. 1989-2001, 2014.

GIBSON, J.L.; TABITA, F.R. The molecular regulation of the reductive pentose phosphate pathway in Proteobacteria and Cyanobacteria. **Archives of Microbiology**, Berlin v. 166, p. 141-150, 1996.

GOLDS, T.; MALIGA, P.; KOOP, H.-U. Stable plastid transformation in PEG-treated protoplasts of *Nicotiana tabacum*. **Biotechnology**, Berlin, v. 11, p. 95-97, 1993.

GOWER, S.T.; McMURTRIE, R.E.; MURTY, D. Aboveground net primary production decline with stand age: potential causes. **Trends in Ecological and Evolutionary Research**, Amsterdam, v. 11, p. 378-382, 1996.

GOWIK, U.; WESTHOFF, P. The path from C<sub>3</sub> to C<sub>4</sub>. **Photosynthesis Plant Physiology**, Lancaster, v. 155, n. 1, p. 56-63, 2011.

GRAY, B.N.; AHNER, B.A.; HANSON, M.R. High-level bacterial cellulase accumulation in chloroplast-transformed tobacco mediated by downstream box fusions. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 102, p. 1045-1054, 2009.

GRAY, B.N.; YANG, H.; AHNER, B.A.; HANSON, M.R. An efficient downstream box fusion allows high-level accumulation of active bacterial beta-glucosidase in tobacco chloroplasts. **Plant Molecular Biology**, Boston, v. 76, p. 345–355, 2011.

HANKAMER, B.; BARBER, J. Structure and membrane organization of photosystem II in green plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 48, p. 641-671, 1997.

HANSON, M.R.; GRAY, B.N.; AHNER, B.A. Chloroplast transformation for engineering of photosynthesis, **Journal of Experimental Botany**, Oxford 64(3):731-42 2012.

HASSE, C.; SCHÖTTLER, M.A.; BOCK, R. The plastid genome-encoded Ycf4 protein functions as a nonessential assembly factor for photosystem in higher plants, **Plant Physiology**, Lancaster, v. 159, n. 2, p. 579-591, p. 2012.

HUDSON, G.S.; EVANS, J.R.; VON CAMMERER, S.; ARVIDSSON, Y.B.C.; ANDREWS, T.J. Reduction of ribulose-1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase content by antisense RNA reduces photosynthesis in transgenic tobacco plants. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 98, p. 294-302, 1992.

JANSSON, S.; PICHERSKY, E.; BASSI, R.; GREEN, B.R.; IKEUCHI, M.; MELLIS A.; SIMPSON, D.J.; SPANGFORT, M.; STAEHELIN, L.A.; THORNER, J.P. A nomenclature for the genes encoding the chlorophyll a/b binding proteins of higher plants. **Plant Molecular Biology Reporter**, Dordrecht, v. 10, p. 242-253, 1992.

INOUE, M.T.; GALVÃO, F. Desempenho assimilatório de *Mimosa scabrella*, *Peltophorum dubium*, *Schinus therebinthifolius* e *Matayba Elaeagnoides* em dependência da intensidade luminosa. **Acta Forestalia Brasiliensis**, Curitiba, v. 1, n. 1, p. 89-98, 1986.

JARVIS, P.; DORMANN, P.; PETO, C.A.; LUTES, J.; BENNING, C.; CHORY, J. Galactolipid deficiency and abnormal chloroplast development in the *Arabidopsis MGD syntetase* 1 mutant. **Proceedings of the National Academy of Science of USA**, Washington. v. 97, n. 14, p. 8175-8179, 2000.

KAJALA, K.; COVSHOFF, S.; KARKI, S.; WOODFIELD, H.; TOLLEY, B.J.; DIONORA, M.J.; MOGUL, R.T.; MABILANGAN, A.E.; DANILA, F.R.; HIBBERD, J.M.; QUICK, W.P. Strategies for engineering a two-celled C(4) photosynthetic pathway into rice. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 62, p. 3001-3010, 2011.

KANEVSKI, I.; MALIGA, P. Relocation of the plastid rbcL gene to the nucleus yields functional ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase in tobacco chloroplasts. **Proceedings of the National Academy of Sciences of USA**, Washington, v. 91, p. 1969-1973, 1994.

KANEVSKI, I.; MALIGA, P.; RHOADES, D.F.; GUTTERIDGE, S. Plastome engineering of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase in tobacco to form a sunflower large subunit and tobacco small subunit hybrid. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 119, p. 133-142, 1999.

KAPRALOV, M.; FILATOV, D. Widespread positive selection in the photosynthetic Rubisco enzyme. **BMC Evolutionary Biology**, London, v. 7, p. 1–10, 2007.

KNIGHT, S.; ANDERSSON, I.; BRANDEN, C.-I. Crystallographic analysis of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase from spinach at 2.4Å resolution. **Journal of Molecular Biology**, London, v. 215, p. 113-160, 1990.

KLEIN, T.M.; HARPER, E.C.; SVAB, Z.; SANFORD, J.C.; FROMM, M.E.; MALIGA, P. Stable genetic transformation of intact *Nicotiana* cells by the particle bombardment. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 85, p. 8502-8505, 1987.

KO, K.; KO, Z.W.; TURPIN, D.H.; LABATE, C.A.; MOHANTY, N.; GRANELL, A. Overproduction of chlorophyll a/b binding protein enhances photosynthetic activity in transgenic tobacco. In: MURATA, N. (Ed.). **Research in photosynthesis**. Amsterdam: Kluwer Academic, 1992. chap. 3, p. 445-448.

KROLL, D.; MEIERHOFF, K.; BECHTOLD, N.; KINOSHITA, M.; WESTPHAL, S.; VOTHKNECHT, J.S.; WESTHOFF, P. *VIPP1*, a nuclear gene of *Arabidopsis thaliana* essential for thylakoid membrane formation. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, Washington, v. 98, n. 7, p. 4238-4242, 2001.

KÜHLBRANDT, W.; WANG, D.N.; FUJIYOSHI, Y. Atomic model of plant light-harvesting complex. **Nature**, London, v. 367, p. 614-621, 1994.

KURODA, H.; MALIGA, P. Complementarity of the 16S rRNA penultimate stem with sequences downstream of the AUG destabilizes the plastid mRNAs. **Nucleic Acids Research**, London, v. 29, p. 970–975, 2001a.

\_\_\_\_\_. Sequences downstream of the translation initiation codon are important determinants of translation efficiency in chloroplasts. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 125, p. 430-436, 2001b.

LACIS, A.A.; SCHMIDT, G.A.; RIND, D.; RUEDY, R.A. Atmospheric CO<sub>2</sub>: principal control knob governing Earth's temperature. **Science**, Washington, v. 330, p. 356-359, 2010.

LAING, W.A.; OGREN, W.L.; HAGEMAN, R.H. Regulation of soybean net photosynthetic CO<sub>2</sub> fixation by interaction of CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> and ribulose 1,5- diphosphate carboxylase. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 54, p. 678–685, 1974.

LEE, B.G.; READ, B.A.; TABITA, F.R. Catalytic properties of recombinant octameric, hexadecameric, and heterologous cyanobacterial/bacterial ribulose- 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 291, n. 2, p. 263-269, 1991.

LEUNING, R.; KRIEDMANN, P.E.; McMURTRIE, R.E. Simulations of evapotranspiration by trees. **Agricultural Water Management**, Amsterdam, v. 19, p. 205-221, 1991.

LIN, M.T.; OCCHIALINI, A.; ANDRALOJC, P.J.; PARRY, M.A.J.; HANSON, M.R. A faster Rubisco with potential to increase photosynthesis in crops. **Nature**, London, v. 513, p. 547-557, 2014.

LINDAL, M.; SPETEA, C.; HUNDAL, T.; OPPENHEIM, A.B.; ADAM, Z.; ANDERSSON, B. The thylakoid FtsH protease plays a role in the light-induced turnover of the photosystem II D1. **Protein**, Rockville, v. 12, p. 419-431, 2000.

LIU, C.W.; LIN, C.C.; YIU, J.C.; CHEN, J.J.; TSENG, M.J. Expression of a *Bacillus thuringiensis* toxin (*cry1Ab*) gene in cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.) chloroplasts confers high insecticidal efficacy against *Plutella xylostella*. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 117, p. 75-88, 2008.

LONG, S.P.; ZHUX, G.; NAIDUS, L. Ort DR. Can improvement in photosynthesis increase crop yields? **Plant, Cell & Environment**, New York, v. 29, p. 315-330, 2006.

LÖSSL, A.; EIBL, C.; HARLOFF, H.J.; JUNG, C.; KOOP, H.U. Polyester synthesis in transplastomic tobacco (*Nicotiana tabacum* L.): significant contents of polyhydroxybutyrate are associated with growth reduction. **Plant Cell Reports**, Berlin, v. 21, p. 891-899, 2003.

LÖSSL, A.; BOHMERT, K.; HARLOFF, H.; EIBL, C.; MUHLBAUER, S.; KOOP, H.U. Inducible trans-activation of plastid transgenes: expression of the *R. eutropha* *phb* operon in transplastomic tobacco. **Plant Cell Physiology**, Tokyo, v. 46, p. 1462-1471, 2005.

MAGEE, A.M.; MACLEAN, D.; GRAY J.C.; KAVANAGH T.A. Disruption of essential plastid gene expression caused by T7 RNA polymerase-mediated transcription of plastid transgenes during early seedling development. **Transgenic Research**, London, v. 16, p. 415-428, 2007.

MAKINO, A.; MAE, T.; PHIRA, K., Differences between wheat and rice in the enzyme properties of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and their relationship to photosynthetic gas exchange, **Plant**, Berlin, v. 174, p. 30-38, 1998.

MALIGA, P. Plastid Transformation in higher plants. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 55, p. 289-313, 2004.

MALIGA, P.; BOCK, R. Plastid biotechnology: food, fuel, and medicine for the 21st century. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 155, n. 4, p. 1501-1150, 2011.

MALLMANN, J.; HECKMANN, D.; BRAUTIGAM, A.; LERCHER, M.J.; WEBER, A.P.M.; WESTHOFF, P.; GOWIK, U. The role of photorespiration during the evolution of C<sub>4</sub> photosynthesis in the genus *Flaveria*. **eLife Science**, Cambridge, v. 16, n. 3, e02478, 2014.

MARENCO, R.A.; GONÇALVES, J.F.C.; VIEIRA, G. Leaf gas exchange and carbohydrates in tropical trees differing in successional status in two light environments in central Amazonia. **Tree Physiology**, Oxford, v. 21, p. 1311-1318, 2001.

- MAURINO, V.G.; PETERHÄNSEL, C. Photorespiration: current status and approaches for metabolic engineering. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 13, n. 3, p. 249-256, June 2010.
- MAURINO, V.G.; WEBER, A. Engineering photosynthesis in plants and synthetic microorganisms. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 64, n. 3, p. 743-751, 2013.
- MEDINA, M. Structural and mechanistic aspects of flavoproteins: photosynthetic electron transfer from photosystem I to NADP<sup>+</sup>. **The FEBS journal**, Oxford, v. 276, n. 15, p. 3942-58, ago. 2009.
- MEDIAVILLA, S.; ESCUDERO, A. Stomatal responses to drought of mature trees and seedlings of two co-occurring Mediterranean oaks. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 187, p. 281-294, 2004.
- MCBRIDE, K.E.; SVAB, Z.; SCHAAF, D.J.; HOGAN, P.S.; STALKER, D.M.; MALIGA, P. Amplification of a chimeric Bacillus gene in chloroplasts leads to an extraordinary level of an insecticidal protein in tobacco. **Bio/Technology**, New York, v. 13, p. 362-365, 1995.
- MELKOZERNOV, A.N.; BARBER, J.; BLANKENSHIP, R.E. Light harvesting in photosystem I supercomplexes. **Biochemistry**, Washington, v. 45, n. 2, p. 331-345, Jan. 2006.
- MIELKE, M.S.; OLIVA, M.A.; BARROS, N.F. de; PENCHEL, R.M.; MARTINEZ, C.A.; ALMEIDA, A.C. Stomatal control of transpiration in the canopy of a clonal *Eucalyptus grandis* plantation. **Trees**, Berlin, v. 13, p. 152-160, 1999.
- MONDE, R.A.; GREENE J.C.; STERN D.B. The sequence and secondary structure of the 3'-UTR affect 3'-end maturation, RNA accumulation, and translation in tobacco chloroplasts. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 44, p. 529-542, 2000a.
- MONDE, R.A.; SCHUSTER, G.; STERN, D.B. Processing and degradation of chloroplast mRNA. **Biochimie**, Paris, v. 82, p. 573-582 2000b.
- MONTEITH J.L. Climate and the efficiency of crop production in Britain. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, London, v. 281, p. 277-294, 1977.
- MÜLLER, M.G.; NIKLAS, J.; LUBITZ, W.; HOLZWART, A.R. Ultrafast transient absorption studies on photosystem I reaction centers from *Chlamydomonas reinhardtii*. 1. A new interpretation of the energy trapping and early electron transfer steps in Photosystem I. **Biophysical Journal**, Cambridge, v. 85, n. 6, p. 3899-3922, 2003.
- MUELLER-CAJAR, O.; STOTZ, M.; WENDLER, P.; HARTL, U.; BRACHER, A.; HAYER-HARTL, M. Structure and function of the AAA+ protein CbbX, a red-type Rubisco activase. **Nature**, London, v. 0, p. 1476-4687, 2011.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum Kobenhavn**, Copenhagen, v. 15, p. 473-497, 1962.

NELSON, D.L.; COX, M.M. **Lehninger principles of biochemistry**. 5<sup>th</sup> ed. New York: W. H. Freeman, 2005. p. 776.

NGUGI, M.R.; HUNT, D.D.; DOLEY, D.; RYAN, P.; DART, P. Selection of species and provenances for low-rainfall areas: physiological responses of *Eucalyptus cloeziana* and *Eucalyptus argophloia* to seasonal conditions in subtropical Queensland. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 193, p. 141-156, 2004.

NOBEL, P.S. High productivity of certain agronomic CAM species. In: WINTER, K.; SMITH, J.A.C. (Ed.). **Crassulacean acid metabolism: biochemistry, ecophysiology and evolution**. Berlin: Springer-Verlag, 1996. p. 255–265.

OLSON, T.L.; WILLIAMS, J.C.; ALLEN, J.P. The three-dimensional structures of bacterial reaction centers. **Photosynthesis Research**, Boston, v. 120, p. 87-98, 2014.

OEY, M.; LOHSE, M.; KREIKEMEYER, B.; BOCK R. Exhaustion of the chloroplast protein synthesis capacity by massive expression of a highly stable protein antibiotic. **The Plant Journal**, Oxford, v. 57, p. 436-445, 2009b.

OEY, M.; LOHSE, M.; SCHARFF, L.B.; KREIKEMEYER, B.; BOCK, R. Plastid production of protein antibiotics against pneumonia via a new strategy for high-level expression of antimicrobial proteins. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, Washington, v. 106, p. 6579–6584, 2009b.

OLSON, T.L.; WILLIAMS, J.C.; ALLEN, J.P. The three-dimensional structures of bacterial reaction centers. **Photosynthesis Research**, Boston, v. 120, p. 87-98, 2014.

OREN, R.; SPERRY, J.S.; KATUL, G.G.; PATAKI, D.E.; EWERS, B.E.; PHILLIPS, N.; SCHAFER, K.V.R. Survey and synthesis of intra- and interspecific variation in stomatal sensitivity to vapour pressure deficit. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 22, p. 1515-1526, 1999.

PARRY, M.A.J.; MADGWICK, P.J.; CARVALHO, J.F.C.; ANDRALOJC, P.J. Prospects for increasing photosynthesis by overcoming the limitations of Rubisco-citation. **Journal of Agricultural Sciences**, Urbana, v. 145, p. 31–43, 2007.

PETERSON, R.B. Estimation of photorespiration based on the initial rate of post illumination CO<sub>2</sub> release: II. Effects of O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, and temperature. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 73, p. 983-988, 1983.

\_\_\_\_\_. Quantitation of the O<sub>2</sub>-dependent, CO<sub>2</sub>-reversible component of the post illumination CO<sub>2</sub> exchange transient in tobacco and maize leaves. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 84, n. 3, p. 862-867, 1987.

PERANI, L.; ROMMENS, C.M.; HUMARA J.M.; YE, J.; YAN, H.; RICHAEAL, C.; ZHANG, L.; PERRY, R.; SWORDS, K. Gene transfer methods of crop improvement: introduction of foreign DNA into plants, **Physiologia Plantarum**, Lancaster, v. 68, p. 566-570, 1986.

- PETERHÄNSEL, C.; HORST, I.; NIESSEN, M.; BLUME, C.; KEBEISH, R.; KURKCUOGLUS, S.; KREUZALER, F. Photorespiration. **Arabidopsis Book**, Rockville, v. 8, e0130, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1655/> - <http://www.aspb.org/publications/arabidopsis/>>. Acesso em: 2015
- PETERHÄNSEL, C.; MAURINO, V.G. Photorespiration redesigned. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 155, p. 49-55, 2011.
- PIMENTEL, C. **Metabolismo de carbono na agricultura tropical**. Seropédica: Edur, 1998. 159 p.
- PORTIS, A.R.; PARRY, M.A.J. Discoveries in Rubisco (ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/ oxygenase): a historical perspective. **Photosynthesis Research**. London, v. 94, p, 121-143, 2007.
- RAINES C.A. Transgenic approaches to manipulate the environmental responses of the C<sub>3</sub> carbon fixation cycle. **Plant, Cell & Environment**, Oxford, v. 29, p. 331-339, 2006.
- RAVEN, J.A. Rubisco: still the most abundant protein of earth? **New Phytologist**, London, v.198, p. 1-3, 2013.
- RACHMILEVITCH, S.; COUSINS, A.B.; BLOOM, A.J. Nitrate assimilation in plant shoots depends on photorespiration. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, Washington, v. 101, p. 11506-11510, 2004.
- RAINES, C.A. The Calvin cycle revisited. **Photosynthesis Research**, Hague, v. 75, p. 1–10, 2003.
- \_\_\_\_\_. Increasing photosynthetic carbon assimilation in C<sub>3</sub> plants to improve crop yield: current and future strategies. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 155, p. 36-42, 2011.
- RAWSON, H.M.; BEGG, J.E.; WOODWARD, R.G. The effect of atmospheric humidity on photosynthesis, transpiration, and water use efficiency of leaves of several plant species. **Planta**, Berlin, v. 134, n. 1, p. 5-10, 1977.
- RODERMEL, S.R.; ABBOTT, M.S.; BOGORAD, L. Nuclear-organelle interactions: nuclear antisense gene inhibits Ribulose bisphosphate carboxylase enzyme levels in transformed tobacco plants, **Cell**, Cambridge, v. 55, p. 673-681, 1988.
- ROGALSKI, M.; CARRER, H. Engineering plastid fatty acid biosynthesis to improve food quality and biofuel production in higher plants. **Plant Biotechnology Journal**, Oxford, v. 9, p. 554–564, 2011.
- ROGALSKI, M.; SCHÖTTLER, M.A.; THIELE, W.; SCHULZE, W.X.; BOCK, R. Rpl33, a nonessential plastid-encoded ribosomal protein in tobacco, is required under cold stress conditions. **Plant Cell**, Bethesda, v. 20, p. 2221– 2237, 2008.

ROTT, M.; MARTINS, N.F.; THIELE, W.; LEINA, W.; BOCK, R.; KRAMERB, D.M.; SCHÖTTLER, M.A. ATP synthase repression in tobacco restricts photosynthetic electron transport, CO<sub>2</sub> assimilation, and plant growth by over acidification of the thylakoid lumen. **The Plant Cell**, Oxford, v. 23 n. 1, p. 304-321, 2011.

RUF, S.; HERMANN, M.; BERGER, I.J.; CARRER, H.; BOCK, R. Stable genetic transformation of tomato plastids and expression of a foreign protein in fruit. **Nature Biotechnology**, New York, v. 19, n. 9, p. 870-5, 2001.

RUMEAU, D.; BECUWE-LINKA, N.; BEYLY, A.; CARRIER P.; CUINE, S.; GENTY, B.; MEDGYESY, P.; HORVATH, E.; PELTIER, G. Increased zinc content in transplastomic tobacco plants expressing a polyhistidine-tagged Rubisco large subunit. **Plant Biotechnology Journal**, London, v. 2, p. 389-399 2004.

SAGE, R.F. The evolution of C<sub>4</sub> photosynthesis. **New Phytologist**, London, v.161, p. 341-370, 2004.

SASCHENBRECKER, S.; BRACHER, A.; RAO, K.V.; RAO, B.V.; HARTL, F.U.; HAYER-HARTL, M. Structure and function of RbcX, an assembly chaperone for hexadecameric Rubisco. **Cell**, Cambridge, v. 129, n. 6, p. 1189-1200, 2007.

SATAGOPAN, S.; STEPHANISCOTT S.S.; SMITH, T.G.; TABITA, F.R. A Rubisco mutant that confers growth under a normally "inhibitory" oxygen concentration. **Biochemistry**, Washington, v. 48, p. 9076-9083, 2009.

SCHMIDT, G.A.; R. RUEDY, R.L.; MILLER; LACIS, A.A. The attribution of the present-day total greenhouse effect. **Journal Geophysical Research**, Hoboken, v. 115, p. 1-6, 2010.

SHINOZAKI, K.; OHME, M.; TANAKA, M.; WAKASUGI, T.; HAYASHIDA, N.; MATSUBAYASHI, T.; ZAITA, N.; CHUNWONGSE, J.; OBOKATA, J.; YAM-AGUCHI-SHINOZAKI, K.; OHTO, C.; TORAZAWA, K.; MENG, B.Y.; SUGITA, M.; DENO, H.; KAMOGASHIRA, T.; YAMADA, K.; KUSUDA, J.; TAKAIWA, F.; KATO, A.; TOHDOH, N.; SHIMADA, H.; SUGIURA, M. The complete nucleotide sequence of the tobacco chloroplast genome: its organization and expression. **The EMBO Journal**, London, v. 5, p. 2043-2049, 1986.

SILVA, F.A.S.E.; AZEVEDO, C.A.V. de. Principal components analysis in the software Assistat-Statistical Attendance. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7., 2009, Reno. **Proceedings...** Reno: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.p.123-143.

SIMPSON, J.; VAN MONTAGU, M.; HERRERA-ESTRELLA, L. Photosynthesis-associated gene families: differences in response to tissue-specific and environmental factors. **Science**, New York, v. 233, n. 4759, p. 34-38, 1986.

SINAGAWA-GARCÍA, S.R.; TUNGSUCHAT-HUANG, T.; PAREDES-LÓPEZ, O.; MALIGA, P. Next generation synthetic vectors for transformation of the plastid genome of higher plants. **Plant Molecular Biology**, Boston, v. 70, p. 487-498, 2009.

SINGH, A.K.; VERMA, S.S.; BANSAL, K.C. Plastid transformation in eggplant (*Solanum melongena* L.). **Transgenic Research**, London, v. 19, p. 113–119, 2010.

SMITH, S.A.; TABITA, F.R. Positive and negative of mutant forms of prokaryotic (cyanobacterial) ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/ oxygenase. **Journal of Molecular Biology**, Amsterdam, v. 331, p. 557–569, 2003.

SMITH, S.A.; TABITA, F.R. Glycine 176 affects catalytic properties and stability of the *Synechococcus* sp. strain PCC 6301 ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 279, n. 25, p.632–25 637, 2004.

SPREITZER, R.J.; SALVUCCI, M.E. Rubisco: structure, regulatory interactions, and possibilities for a better enzyme. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 53, p. 449-475, Jan. 2002.

STINGACIU, L.-R.; O'NEILL, H.; LIBERTON, M.; URBAN, V.S.; PAKRASI, H.B.; OHL, M. Revealing the dynamics of thylakoid membranes in living cyanobacterial cells. **Nature Science Reports**, London, v. 6, p. 1-6, 2016.

STITT, M. Rising CO<sub>2</sub> levels and their potential significance for carbon flow in photosynthetic cells. **Plant, Cell & Environment**, New York, v. 24, p. 229-238, 1991.

\_\_\_\_\_. Progress in understanding and engineering primary plant metabolism. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 3, p. 1319, 2012.

SUZUKI, Y.; MAKINO, A. Translational down regulation of RBCL is operative in the coordinated expression of Rubisco genes in senescent leaves in rice, **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 4, p. 1145-1152, 2013.

SVAB, Z.; MALIGA, P. Mutation proximal to the tRNA binding region of the Nicotiana plastid 16S rRNA confers resistance to spectinomycin. **Molecular & General Genetics**, Berlin, v. 228, p. 316-319, 1991.

SVAB, Z.; MALIGNA, P. High frequency plastid transformation in tobacco by selection for a chimeric *aadA* gene. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, v. 90, p. 913-917, 1993.

SVAB, Z.; HAJDUKIEWITZ, P.T.J.; MALIGA, P. Stable transformation of plastids in higher plants. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, v. 87, n. 21, p. 8526-8530, 1990.

TABITA, F.R. Microbial Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase: a different perspective. **Photosynthesis Research**, Lausanne, v. 60, p. 1-28, 1999.

TABITA, F.R.; HANSON, T.E.; LI, H.; SATAGOPAN S; SINGH, J.; CHAN, S. Function, structure, and evolution of the RubisCO-like proteins and their RubisCO homologs. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Washington, v. 71, n. 4, p. 576–599, 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 719p.

TAMOI, M.; NAGAOKA, M.; MIYAGAWA, Y.; SHIGEOKA, S. Contribution of fructose-1,6-bisphosphatase and sedoheptulose-1,7-bisphosphatase to the photosynthetic rate and carbon flow in the Calvin cycle in transgenic plants. **Plant Cell Physiology**, Tokyo, v. 47, n. 3, p. 380-390, 2006.

TANAKA, S.M. **Análise de homoplasma de plantas transplastômicas de fumo via PCR em tempo real**. 2011. 68 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

TCHERKEZ, G.; FARQUHAR, G.D.; ANDREWS, T.J. Despite slow catalysis and confused substrate specificity, all ribulose biphosphate carboxylases may be nearly perfectly optimized. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 103, p. 7246–7251, 2006.

TING, I.P. Crassulacean acid metabolism. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 36, p. 595-622, 1985.

TOKUTSU, R.; KATO, N.; BUI, K.H.; ISHIKAWA, T.; MINAGAWA, J. Revisiting the supramolecular organization of photosystem II in *Chlamydomonas reinhardtii*. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 287, n. 37, p. 31574-31581, Sept. 2012.

UBIERNA, N.; SUN, W.; COUSINS, A.B. The efficiency of C<sub>4</sub> photosynthesis under low light conditions: assumptions and calculations with CO<sub>2</sub> isotope discrimination. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 62, n. 9, p. 3119-3134, 2011.

UEDA, T.; NOMOTO, N.; KOGA, M.; OGASA, H.; OGAWA, Y.; MATSUMOTO, M.; STAMPOULIS, P.; SODE, K.; TERASAWA, H.; SHIMADA, I. Structural basis of efficient electron transport between photosynthetic membrane proteins and plastocyanin in spinach revealed using nuclear magnetic resonance. **Plant Cell**, Rockville, v. 24, n. 10, p. 4173-4186, 2012.

VERHOUNIG, A.; KARCHER, D.; BOCK, R. Inducible gene expression from the plastid genome by a synthetic riboswitch. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, Washington, v. 107, p. 6204–6209, 2010.

VOET, D.; VOET, J.G. **Biochemistry**. 3<sup>rd</sup> ed. London: WILEY, 2008. 901p.

WHITNEY, S.M.; ANDREWS, T.J. Plastome-encoded bacterial ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/ oxygenase (Rubisco) supports photosynthesis and growth in tobacco. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 98, p. 14738-14743, 2001a.

\_\_\_\_\_. The gene for the ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/ oxygenase (Rubisco) small subunit relocated to the plastid genome of tobacco directs the synthesis of small subunits that assemble into Rubisco. **Plant Cell**, Rockville, v. 13, p. 193-205, 2001b.

WHITNEY, S.M.; HOUTZ, R.L.; ALONSO, H. Advancing our understanding and capacity to engineer nature's CO<sub>2</sub>-sequestering enzyme, Rubisco. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 155, p. 27-35, 2011.

WHITNEY, S.M.; BALDET, P.; HUDSON, G.S.; ANDREWS, T.J. Form I Rubiscos from non-green algae are expressed abundantly but not assembled in tobacco chloroplasts. **The Plant Journal**, London, v. 26, p. 535–547, 2001.

WHITNEY, S.M.; KANE, H.J.; HOUTZ, R.L.; SHARWOOD R.E. Rubisco oligomers composed of linked small and large subunits assemble in tobacco plastids and have higher affinities for CO<sub>2</sub> and O<sub>2</sub>. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 149, p. 1887-1895, 2009.

WHITNEY, S.M.; von CAEMMERER, S.; HUDSON, G.S.; ANDREWS T.J. Directed mutation of the Rubisco large subunit of tobacco influences photorespiration and growth. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 121, p. 579–588, Oct. 1999.

WHITNEY, S.M.; SHARWOOD, R.E.; ORR, D.; WHITE, S.J.; ALONSO, H.; GALMÉS, J. Isoleucine 309 acts as a C<sub>4</sub> catalytic switch that increases ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) carboxylation rate in *Flaveria*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 108, p. 14688–14693, 2011b.

WILLEY, D.L.; GRAY, J.C. Synthesis and assembly of cytochrome *b6-f* complex in higher plants. In: GOVINDJEE, B.; BOHNERT, H.J.; BOTTOMLEY, W.; BRYANT, D.A.; MULLET, J. E.; OGREN, W. L.; PAKRASI, H.; SOMERVILLE, C.R. (Ed.). **Molecular biology of photosynthesis**. Oxford: Oxford University Press, 1998. chap. 15, p. 497-516.

WOSTRIKOFF, K.; STERN, D.B. Rubisco. In: HARRIS, E.H.; STERN, D.B.; WITMAN, G.B. (Ed.). **The Chlamydomonas sourcebook**. 2<sup>nd</sup> ed. London: Academic Press, 2009. p. 303–332.

YANG, H.; GRAY, B.N.; AHNER B.A.; HANSON M.R.; Bacteriophage 5' untranslated regions for control of plastid transgene expression. **Planta**, Berlin, v. 237, n. 2, p. 517-527, 2012.

YE, G.N.; HAJDUKIEWICZ, P.T.; BROYLES, D.; RODRIGUEZ, D.; XU, C.W.; NEHRA, N.; STAUB, J.M. Plastid-expressed 5-enolpyruvylshikimate- 3-phosphate synthase genes provide high level glyphosate tolerance in tobacco. **Plant Journal**, Oxford, v. 25, p. 261-270, 2001.

YODER, B.J.; RYAN, M.G.; WARING, R.H.; SCHOETTLE, A.W.; KAUFMANN, M.R. Evidence of reduced photosynthetic rates in old trees. **Forest Science**, Maryland, v. 40, p. 513-527, 1994.

ZHANG, N.; PORTIS, A.R. Jr. Mechanism of light regulation of Rubisco: a specific role for the larger Rubisco activase isoform involving reductive activation by thioredoxin-f. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 96, p. 943-43, 1999.

ZHANG, X.H.; WEBB, J.; HUANG, Y.H.; LIN, L.; TANG, R.S.; LIU, A. Hybrid Rubisco of tomato large subunits and tobacco small subunits is functional in tobacco plants. **Plant Science**, Shannon, v. 180, p. 480-488, 2011.

ZHU, X.G.; LONG, S.P.; ORT, D.R. Improving photosynthetic efficiency for greater yield. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 61, p. 235-261, 2010.