

ANDRZEJ WOJCIECHOWSKI

SYNDROM C_4 NA TLE ROZWOJU ONTOGENETYCZNEGO**Wprowadzenie**

Odkrycie w połowie lat sześćdziesiątych przez Kortschaka i wsp. [36] oraz Hatcha i Slacka [21] fotosyntetycznego szlaku wiązania CO_2 z udziałem fosfoenolopirogronianu (PEP) jako akceptora, zainspirowało badania cech strukturalnych, fizjologicznych i biochemicznych związanych z funkcjonowaniem tego szlaku w roślinach.

W toku badań wykazano, że odkryty typ fotosyntezy stanowi etap jej przemian ewolucyjnych, oraz że fotosynteza typu C_4 jest ewolucyjnie młodsza względem fotosyntezy typu C_3 [81]. Ewolucję fotosyntezy w kierunku szlaku C_4 traktować można jako jedną z form przystosowania roślin do wysokiej zawartości tlenu w atmosferze, zabezpieczającą m. in. karboksylazę rybulozo-1,5-dwufosforanu (RuBP), przed niekorzystnym działaniem tlenu [80].

Odmienny pogląd na genezę szlaku C_4 wyraził Laetsch [40], twierdząc, że czynnikiem stymulującym jego rozwój stały się warunki tropikalne. Uznano, że określona struktura anatomiczna liści roślin C_4 umożliwia zarówno efektywne wiązanie CO_2 poprzez system dwóch współdziałających karboksylaz PEP i RuBP, a także ekonomiczne zużycie wody.

Od połowy lat 70-tych datuje się rozwój badań roślin określanych mianem pośrednich C_3 — C_4 . Omówienie cech anatomiczno-cytologicznych jak również fizjologicznych i biochemicznych, zawierają artykuły przeglądowe Lechowskiego [45, 46].

Badania roślin pośrednich mają na celu uzupełnienie zagadnienia ewolucyjnego rozwoju procesu fotosyntezy. Dokonany przegląd publikacji dotyczących różnych aspektów fotosyntezy w roślinach C_4 , wykazał brak opracowania przedstawiającego wszechstronnie zmiany ontogenetyczne u tych roślin. Badania na tle rozwoju ontogenetycznego przeprowadzono zazwyczaj u kukurydzy, która należy do roślin jednoliściennych. Pośród dwuliściennych roślin C_4 , obiektem badań na tym tle była głównie *Portulaca oleracea*.

Celem niniejszej pracy jest przegląd opublikowanych do chwili obecnej danych i wniosków dotyczących rozwoju syndromu C_4 w ontogenezie i zarysowanie dynamicznego, rozwojowego modelu roślin C_4 .

Kryteria dojrzałości w badaniach ontogenetycznych

Mając na względzie zależną od stadium rozwoju zmienność szeregu cech roślin C_4 , określenie wieku liścia lub rośliny ma istotne znaczenie przy przedstawianiu i interpretacji wyników badań na tle ontogenezy.

Stopień rozwoju całych roślin określano najczęściej liczbą dni od kiełkowania i w uzupełnieniu podawano niekiedy liczbę liści [13, 43, 55, 56, 60, 65, 67, 84, 91, 92]. Stadium rozwoju liści różnicowano na podstawie kolejności pojawiania się ich na roślinie [13, 55, 56, 91, 92]. Poszczególne liście powstające w różnych fazach rozwoju rośliny zachowują heterogeniczność nawet wówczas, gdy wegetacja przebiega w stałych warunkach. Stadia rozwojowe liści określano także na podstawie wymiarów liścia lub poziomu chlorofilu [26, 28, 91, 92]. Z uwagi na niejednorodność blaszki liścia, szczególnie u roślin jednoliściennych, w których występują wzrost wierzchołkowy i interkalarny, badano w wielu przypadkach poszczególne strefy liści [13, 43, 48, 60, 66, 67, 91, 92].

Podawane w literaturze wyniki uzyskane w trzech fazach rozwojowych liścia (młody, dojrzały, starzejący) nie wystarczają, jak się wydaje, dla pełnej charakterystyki wielu badanych cech. Podobne zastrzeżenie odnosi się także do wyników uzyskanych w kolejnych liściach tylko w jednej fazie ontogenezy rośliny. Cechy fizjologiczne i biochemiczne badane w całych liściach w trakcie ich ontogenezy nie uwzględniają różnic w poszczególnych strefach.

Wobec braku optymalnego kryterium określającego zarazem stadium rozwoju liścia i rośliny, w ostatnich latach wyniki badań w aspekcie ontogenetycznym interpretuje się w oparciu o kompleksową analizę uwzględniającą kilka wymienionych kryteriów jednocześnie [13, 60, 91, 92].

Równowaga szlaków fotosyntetycznych C_3 i C_4

Według klasycznego schematu wiązanie atmosferycznego CO_2 w fotosyntetycznym szlaku C_4 odbywa się za pośrednictwem karboksylazy PEP i prowadzi do syntezy dwukarboksylovych kwasów C_4 , natomiast CO_2 wiązany przez karboksylazę RuBP pochodzi z dekarboksylacji tych kwasów. U roślin C_4 stwierdzono jednak niekiedy możliwość bezpośredniej karboksylacji RuBP w komórkach pochwy okołowiązkowej. Przyjmuje się, że czynnikami sprzyjającymi bezpośrednio wiązaniu CO_2 mogą być wiek lub kolejność liści na roślinie.

O'Neal i wsp. [59] wykazali, że w chloroplastach izolowanych z młodych 4-dniowych roślin kukurydzy przebiega wyłącznie szlak C_3 (szlak Calvina-Benсона).

W roślinie *C₄ Mollugo nudicaulis*, należącej do dwuliściennych, stwierdzono pojawianie się cech typowych dla roślin *C₄* dopiero w starszych liściach, natomiast w młodych obserwowano przewagę cech roślin *C₃* [65]. Oznaczenia metabolitów fotosyntezy w kolejnych liściach 16-dniowych roślin kukurydzy, wskazywały na przewagę szlaku *C₃* w pierwszym liściu, natomiast w liściach następnych świadczyły o przewadze szlaku *C₄* [44, 89]. Kompleksowa analiza cech anatomicznych, fizjologicznych i biochemicznych wykazała, że pierwsze liście kukurydzy posiadają szereg cech roślin *C₃*, jednak począwszy od trzeciego liścia zaznacza się wyraźna przewaga cech roślin *C₄*. Wobec powyższego sugerowano, że na dominację cech *C₃* lub *C₄* większy wpływ ma umieszczenie liścia na roślinie niż stopień dojrzałości [13]. Po zupełnym rozwinięciu liści trziny cukrowej obserwowano jednak stopniowe obniżanie aktywności szlaku *C₄* [58]. W starzejących się liściach kukurydzy stwierdzono nieznaczny wzrost intensywności syntezy kolejnych metabolitów szlaku *C₃* [91], choć aktywność karboksylazy RuBP mierzona w tych liściach obniżyła się bardziej niż aktywność karboksylazy PEP [92]. W dwuliściennej roślinie *C₄ Portulaca oleracea* wzrost aktywności szlaku *C₃* w fazie starzenia się liści był bardziej wyraźny niż w przypadku kukurydzy. Wyniki uzyskane w trzech stadiach rozwojowych liści tej rośliny, skłaniały Kennedy'ego i Laetscha [28] do wniosku, że czynnikiem regulującym równowagę przemian metabolicznych *C₃* i *C₄* jest stadium rozwoju liścia.

Funkcjonowanie szlaku *C₄* jest możliwe także w młodych tkankach liści roślin powszechnie uznanych za gatunki *C₃*. Świadczyły o tym m. in. wysoka aktywność karboksylazy PEP i występowanie dwukarboksylowych kwasów *C₄* we wczesnych produktach fotosyntezy, stwierdzone w wierzchołkowych liściach tytoniu [32]. Także w miodocianych liściach ziemniaka Mokronosov i wsp. [53] wykazali wysoką aktywność karboksylazy PEP i ok. 70–80% całkowitej ilości związanego ¹⁴C w kwasach *C₄*. Zauważono jednak, że kwasy te nie ulegają dalszym typowym przemianom fotosyntetycznym, lecz biorą udział w syntezie aminokwasów. W liściu 25-dniowym i starszych 80–90% związanego ¹⁴CO₂ uczestniczyło w fotosyntetycznej reakcji katalizowanej przez karboksylazę RuBP.

Z doniesień o roli jaką odgrywiają bioregulatory wiadomo, że auksyny, gibereliny i kininy wzmagają fotosyntezę, podczas gdy kwas abscysynowy wpływa hamująco na ten proces. Stwierdzono jednak, że w 4-dniowych siewkach rośliny *C₄ Pennisetum typhoides* egzogenna giberelina GA₃ wywoływała odmienne reakcje fizjologiczne. Stosowana w stężeniu ok. 10⁻⁴M hamowała wiązanie CO₂, obniżała także aktywność enzymów fotosyntetycznych i zmieniała sposób dystrybucji węgla w produktach fotosyntezy. Efekty wywoływane przez kwas abscysynowy w 4-dniowych siewkach *Pennisetum* były także odmienne od powszechnie znanych. Obserwowano co prawda hamowanie tempa wiązania CO₂, lecz zaznaczał się wzrost aktywności karboksylazy PEP i jabłczanowego enzymu dekarboksylacyjnego, a obniżeniu ulegała aktywność karboksylazy RuBP. Powodowało to bardziej intensywne wbudowywanie węgla do kwasów organicznych (m. in. do kwasu jabłkowego), a mniejsze do 3-PGA i aminokwasów [71]. Otrzymane rezultaty sugerowały zróżnicowane działanie na syntezę enzymów w komórkach [41]. Treharne i wsp. [85] wykazali, że wysoki

poziom kwasu giberelinowego w fazie aktywnego wzrostu liści, wpływa na obniżenie syntezy enzymów w plastydach. Zarówno w przypadku działania kwasu giberelinowego jak i kwasu abscysynowego, obserwowane zmiany mogły stanowić efekt wtórny, poprzez wpływ tych substancji na morfogenezę plastydów lub na osłabienie wiązań enzymów z membranami [90].

Opierając się na wynikach uzyskanych w roślinie *C₄ Pennisetum*, oraz w młodych siewkach pszenicy, Sankhla i Huber [72] wnioskuje, że współdziałanie szlaków *C₃* i *C₄* może być, przynajmniej częściowo, regulowane przez endogenne bioregulatory.

Cechy anatomiczne roślin *C₄* a typ wiązania *CO₂*

W strukturze anatomicznej liści kukurydzy, sorgo i trzciny cukrowej upatrywano początkowo morfologicznie istotne podłoże dla funkcjonowania odkrytego w tych roślinach szlaku *C₄* [24,40]. Obserwowanym różnicom ultrastruktury chloroplastów w komórkach mezofilu i pochwy okołowiązkowej nie przypisywano konkretnego znaczenia. Jednak już w roku 1970 Crookston i Moss [14] stwierdzili, że struktura anatomiczna nie stanowi najważniejszego kryterium funkcjonowania szlaku *C₄*.

Obecnie dominuje opinia, że system wiązania *CO₂* w roślinach *C₄* zależy głównie od ultrastruktury chloroplastów, natomiast struktura anatomiczna liścia stanowi raczej czynnik drugorzędny. Zauważono, że układ komórek występujący często w dwuliściennych roślinach *C₄* porównać można do układu grzbieto-brzusznego spotykanego u roślin *C₃*, co nasuwało wniosek, że szlak *C₄* może funkcjonować w różnych strukturach anatomicznych liści [9].

Badania przeprowadzone na mieszańcach gatunków roślin *C₃* i *C₄* dowiodły także, że struktura anatomiczna nie określa jednoznacznie fotosyntetycznej charakterystyki rośliny [8]. Występowanie szlaku metabolicznego *C₄* stwierdzano w kulturach tkankowych roślin *C₄*, takich jak: *Froelichia gracilis* [42], *Amarantus retroflexus* [86] oraz *Portulaca oleracea* [27], mimo że tkanki te nie były zróżnicowane na komórki mezofilu i pochwy okołowiązkowej.

Młode liście *Aeluropus litoralis*, posiadające typową pochwę okołowiązkową, wiązały *CO₂* wg szlaku *C₃* po ograniczeniu ilości soli w środowisku. Po przeniesieniu roślin do pożywki zawierającej wyższe stężenie NaCl, wzrastała aktywność karboksylazy PEP i wydajność szlaku *C₄* [77]. W tej samej pracy stwierdzono podobne uaktywnienie szlaku *C₄* pod wpływem NaCl u kukurydzy. W liściach *Mollugo verticillata*, zaliczanego obecnie do roślin pośrednich *C₃-C₄*, Kennedy i Laetsch [29] obserwowali typowy dla roślin *C₃* grzbieto-brzuszy układ komórek mezofilu palisadowego i gąbczastego, natomiast w pochwie okołowiązkowej, podobnie jak u roślin *C₄* zidentyfikowali liczne i dobrze rozwinięte chloroplasty. W innym gatunku pośrednim *Panicum milioides*, mimo strukturalnego zróżnicowania na komórki mezofilu i pochwy okołowiązkowej, aktywność karboksylazy PEP była niska, a wczesny produkt fotosyntezy stanowił 3-PGA [25]. W liściu sukulentu *Suaeda*

monoica, w którym funkcjonował szlak C_4 , stwierdzono jedynie w wewnętrznej warstwie chlorenchymy duże chloroplasty, zorientowane dośrodkowo w kierunku tkanki wodnej [78].

Istnienie różnych wariantów struktury anatomicznej, odbiegających od konwencjonalnego modelu, wykazali w jednoliściennych roślinach C_4 Johnson i Brown [24]. Rathnam i wsp. [68] twierdzą także, że konwencjonalna struktura roślin C_4 nie decyduje o przebiegu szlaku C_4 w gatunkach dwuliściennych. Różnorodność struktur anatomicznych obserwowana w roślinach C_4 wymaga, zdaniem Edwardsa [18], weryfikacji koncepcji wiążącej cechy anatomiczne liści z procesami metabolicznymi.

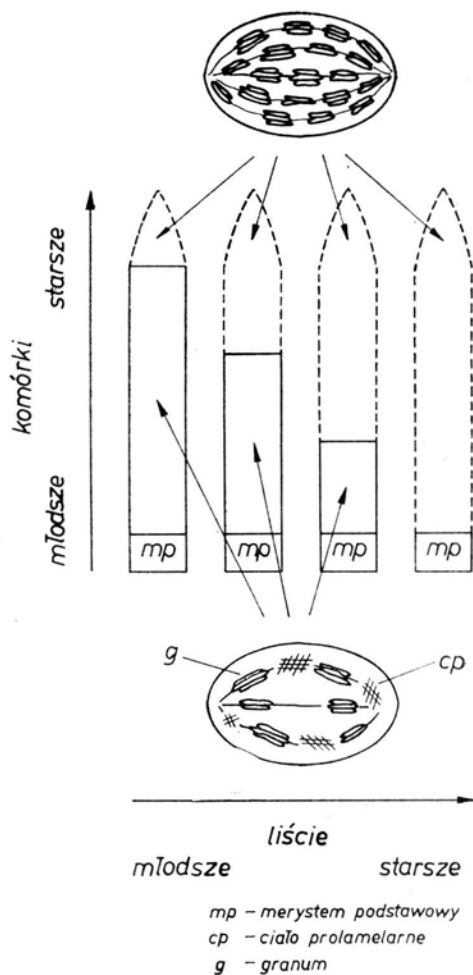
Ultrastruktura chloroplastów na tle ontogenezy

Omawiając cechy anatomiczne roślin C_4 w wielu przypadkach podkreśla się w ostatnich latach znaczenie cech ultrastrukturalnych dla przemian metabolicznych w tych roślinach.

Ultrastruktura chloroplastów izolowanych z 4-dniowych siewek kukurydzy okazała się identyczna w komórkach mezofilu i pochwy okołowiązkowej [59]. Leech i wsp. [48] wykazali, że dojrzewanie i różnicowanie plastydów liścia kukurydzy przebiega stopniowo od podstawy do wierzchołka. Szczegółowe badania rozwoju ultrastruktury chloroplastów przeprowadzili Rascio i wsp. [66, 67]. W drugim liście 9-dniowej kukurydzy w strefie 1 cm powyżej merystemu podstawowego, niedojrzałe jeszcze chloroplasty charakteryzowały się budową granalną zarówno w mezofilu jak i komórkach okołowiązkowych. Wyraźny dimorfizm budowy występował dopiero w odległości 4 cm powyżej merystemu. W drugim liście 12-dniowych roślin wykazano brak różnic ultrastrukturalnych między plastydami tylko w strefie merystemu podstawowego. W liście tym ciała prolameralne pojawiły się w plastydach w strefie 0,5 cm powyżej merystemu i zanikały dopiero po osiągnięciu przez chloroplasty pełnej dojrzałości tj. w strefie 2 cm powyżej merystemu. Zauważono, że obecność ciał prolamelarnych zasadniczo nie zależy od oświetlenia, lecz od stadium dojrzałości komórki. Potwierdziły to także obserwacje ultrastruktury etioplastów w kolejnych strefach etiolowanych liści kukurydzy, gdzie wykazano zarówno wzrost wielkości ciał prolamelarnych jak i całych etioplastów, w kierunku wierzchołka liścia. W tym samym kierunku postępował wzrost długości lamelli i zawartość protochlorofilidu [50]. Szybkość dojrzewania chloroplastów zależy zatem w większej mierze od wieku liścia lub jego strefy niż od intensywności światła. Im młodszy liść, tym większa jest strefa, w której występują niedojrzałe chloroplasty, (patrz ryc. 1). Przyjmując, że w czasie dojrzewania komórek zmieniają się wewnętrzne stosunki jonowe, możliwa wydaje się regulacja dojrzewania chloroplastów przez status metaboliczny cytoplazmy [66].

W komórkach okołowiązkowych czwartego i piątego liścia kukurydzy agranalne chloroplasty ułożone były odśrodkowo, jak w modelowej roślinie C_4 , natomiast w liściach od pierwszego do trzeciego agranalne także chloroplasty układały się

jednak wzdłuż wszystkich ścian komórek okołowiązkowych. Ponadto w pierwszym liściu chloroplasty w komórkach pochwy okołowiązkowej były znacznie mniejsze niż w mezofilu. Cechy ultrastrukturalne obserwowane w dolnych liściach kuku-



Ryc. 1 Rozmieszczenie stref zawierających rozwijające się i dojrzałe chloroplasty w liściu kukurydzy [67]. Linia przerywaną zaznaczono strefę, w której występują dojrzałe chloroplasty.

rydzy wykazują zatem podobieństwo do roślin C_3 , które ujawnia się także w przemianach metabolicznych [13]. W poszczególnych strefach trzeciego liścia tej rośliny różny był stopień dimorfizmu chloroplastów, mimo że każda z nich charakteryzowała się obecnością komórek mezofilu i pochwy okołowiązkowej. Jedyne w strefie środkowej i wierzchołkowej agranalne chloroplasty występowały w komórkach okołowiązkowych, a chloroplasty granalne w komórkach mezofilu. W strefie podstawy liścia zróżnicowanie nie było wyraźne, a ponadto obydwa rodzaje chloroplastów nie zawierały skrobi, która pojawiała się w chloroplastach komórek okołowiązkowych wyżej położonych, starszych stref liścia. Na gruncie tych obserwacji

i oznaczeń aktywności enzymów wnioskowano o ścisłej współzależności różnicowania chloroplastów z procesem wiązania CO_2 w kolejnych strefach [60].

Obecność skrobi tylko w chloroplastach komórek okołowiązkowych nie jest obecnie uznawana za wskaźnik przy kwalifikacji rośliny do grupy C_4 . Stwierdzono bowiem, że znajdowała się ona także w komórkach mezofilu kilku dwuliściennych roślin C_4 [68].

Czynnikiem powodującym pojawianie się skrobi w obydwu rodzajach chloroplastów kukurydzy okazała się ekspozycja roślin w warunkach ciągłego oświetlenia. Warunki te nie powodowały zmian w procesie dojrzewania chloroplastów, a gromadzenie skrobi było wywołane prawdopodobnie uszkodzeniem systemu transportu przez floem [12, 67]. Nie wyklucza się, że akumulacja skrobi jest wyrazem sprzężenia zwrotnego, regulującego równowagę szlaków C_3 i C_4 zaburzoną działaniem ciągłego oświetlenia. Proces akumulacji skrobi wykazuje w tych warunkach cechy rytmu endogenego [12].

W świetle uzyskanych do chwili obecnej danych o ultrastrukturze i jej powiązaniu z funkcjonowaniem szlaków wiązania CO_2 w jednoliściennych roślinach C_4 , nader skromnie przedstawiają się informacje dotyczące tego zagadnienia w gatunkach dwuliściennych. Interpretując zmiany jakościowe i ilościowe wczesnych produktów fotosyntezy w kolejnych fazach ontogenezy liści *Portulaca oleracea* sugerowano, że mogą one być skorelowane z ultrastrukturalnymi przekształceniami chloroplastów [28]. Powszechnie znana jest bowiem destrukcja chloroplastów w starzejących się tkankach liści, a w fazie tej stwierdzano istotne zmiany przebiegu procesów biochemicznych. Za jedną z przyczyn wzrostu aktywności szlaku C_3 w starzejących się liściach *Portulaca* uznano zanikanie retikulum peryferyjnego chloroplastów postępujące w miarę starzenia się liścia, stwierdzone w tej roślinie przez Laetscha [39].

Reakcje fotochemiczne i poziom chlorofilu na tle ontogenezy

Aktywność reakcji fotochemicznych, a także akumulacja chlorofilu zależą niewątpliwie od stopnia rozwoju ultrastruktury chloroplastów [75], a zatem powinny ulegać zmianom w trakcie ontogenezy.

Stosując specyficzne metody ekstrakcji można uzyskać frakcję tzw. chlorofilu „labilnego”, oraz chlorofilu „związanego”. Niektórzy przyjmują, że chlorofil „labilny” reprezentuje fotosystem II (PS-II), natomiast chlorofil „związany” stanowi podobną reprezentację fotosystemu I (PS-I) [62, 63].

Uważa się obecnie, że aktywność reakcji Hilla mierzona spektrofotometrycznie wobec żelazicjanku jako akceptora elektronów, charakteryzuje sumaryczną aktywność obydwu fotosystemów [76]. Downton i Pyliotis [16] sugerują, że zmiany aktywności reakcji Hilla skorelowane są z budową tylakoidów.

Jak dotąd badania zmian aktywności fotosystemów w ontogenezie roślin C_4 dotyczyły niemal wyłącznie ich jednoliściennych gatunków. W chloroplastach izolowanych z kukurydzy stwierdzano niekiedy minimalną aktywność PS-II [6, 93],

a w innych publikacjach podawano znaczną jego aktywność w tej roślinie [2, 7]. Występujące rozbieżności wyników przypisuje się uszkodzeniom chloroplastów. powodowanym przez zbyt drastyczne metody izolacji Walker i Izawa [88] nie stwierdzili wyraźnych różnic sumarycznej aktywności fotosystemów w odniesieniu do ilości chlorofilu, badając ją w całej populacji chloroplastów izolowanych z liścia kukurydzy w okresie dojrzewania rośliny od pierwszego do szóstego tygodnia. Ontogenetyczne zmiany aktywności fotosystemów w chloroplastach kukurydzy wykazali natomiast Andersen i wsp. [2]. W chloroplastach mezofilu drugiego liścia aktywność PS-II wzrastała do siódmego dnia. Chloroplasty komórek okołowiązkowych wykazały dwa maksima aktywności PS-II w siódmym i dwunastym dniu. Sumaryczna aktywność obydwu fotosystemów, określona na podstawie fotoredukcji NADP, wzrastała w chloroplastach mezofilu do dwunastego dnia, natomiast obniżała się w tym okresie w chloroplastach komórek okołowiązkowych. Stosunek Chl_a/Chl_b określony w trakcie badania aktywności fotosystemów, w szóstym i dwunastym dniu, wykazywał tendencję spadkową w komórkach mezofilu, a dwukrotnie wzrastał w komórkach okołowiązkowych [2, 10].

Położenie głównego maksimum absorpcji Chl_a *in vivo* w zakresie czerwieni ulegało niewielkiemu przesunięciu w kierunku fal dłuższych, w miarę dojrzewania liścia kukurydzy. Efekt ten kojarzono z obniżaniem aktywności PS-II w chloroplastach komórek okołowiązkowych, przy przekształcaniu struktury granalnej w agranalną [74].

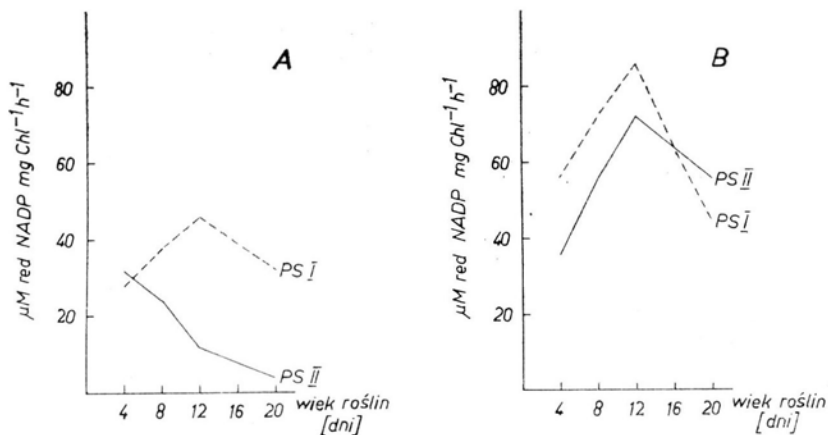
Obserwowano wzrost aktywności PS-II od podstawy w kierunku wierzchołka liścia kukurydzy [33]. Podobny kierunek zmian wykazywała frakcja chlorofilu labialnego, którą uważa się za reprezentatywną dla PS-II [20]. Šestak [73] stwierdził, że w liściach starszych wzrasta zazwyczaj ilość cząstek bogatych w PS-II, natomiast Smirnova [79] wykazała większą ilość labilnej formy chlorofilu w młodych liściach w porównaniu ze starszymi.

W roślinie *C₄ Setaria italica* wykazano, że chloroplasty komórek okołowiązkowych 4-dniowych siewek, a więc we wczesnych stadiach rozwoju dwóch pierwszych liści, posiadają znaczną aktywność PS-II. W czasie dalszego rozwoju siewek następuje jednak spadek aktywności tego fotosystemu, podczas gdy nadal, tzn. do dwunastego dnia wzrasta aktywność PS-I. Spadek aktywności PS-II w chloroplastach komórek okołowiązkowych, wraz z zanikaniem gran, stwierdzono także w roślinach sorgo [16]. W chloroplastach mezofilu *Setaria italica* procesowi rozwoju siewek towarzyszył wzrost aktywności obydwu fotosystemów do dwunastego dnia [64], (patrz ryc. 2).

W chloroplastach młodych liści preferowana jest synteza Chl_a . Zwykle jednak niewiele później rozpoczyna się synteza Chl_b , co powoduje, że stosunek Chl_a/Chl_b początkowo wysoki szybko obniża się i w zupełnie rozwiniętych liściach osiąga wartość 3—4.

Badając przebieg syntezy barwników chlorofilowych w etiolowanych liściach obserwowano, że przemiany protochlorofilidu po oświetleniu liścia przebiegały tym wolniej im starszy był liść kukurydzy. W wyniku tego wydłużał się okres poprzedzający syntezę Chl_a [69, 83]. Tempo syntezy chlorofilu w młodych etiolowanych

liściach kukurydzy wzrastało proporcjonalnie z temperaturą w zakresie 20—35°C [35]. W jednoliściennych roślinach C₄ ilość chlorofilu wzrastała podobnie jak szereg innych parametrów od podstawy w kierunku wierzchołka [1, 5, 15, 47] i od liści



Ryc. 2 Aktywność fotosystemów PS-I i PS-II w chloroplastach komórek okołowiązkowych (A) i w chloroplastach komórek mezofilu (B) w zależności od wieku rośliny C₄ *Setaria italica* [64]. Aktywność PS-I — redukcja NADP w obecności DCPIP-askorbinianu, aktywność PS-II — redukcja NADP

młodszych do starszych, niżej umieszczonych. W części pochwowej liści kukurydzy poziom chlorofilu był minimalny, niezależnie od umieszczenia liści na roślinie [55]. Wielkość tzw. jednostki fotosyntetycznej określono w młodych liściach kukurydzy na ok. 290 cząsteczek chlorofilu, a w liściach starszych na ok. 860 cząsteczek [30].

Procesy wymiany gazowej na tle ontogenezy roślin C₄

W zespole cech różniących rośliny C₄ od roślin C₃ wymienia się wyższe natężenie fotosyntezy, bardziej efektywne wykorzystanie wiązanego CO₂ i minimalne natężenie fotooddychania, w niektórych przypadkach wręcz niemierzalne. Ważny argument przy kwalifikacji roślin do grupy C₄ stanowi niewielka wartość punktu kompensacyjnego. Jak się okazało, w trakcie rozwoju ontogenetycznego roślin C₄ parametry powyższe ulegają istotnym zmianom.

Natężenie fotosyntezy netto w 3-tygodniowej kukurydzy wzrastało począwszy od liścia najniżej umieszczonego, (patrz tab. I). Jednocześnie w pierwszym liściu punkt kompensacyjny wynosił 43 $\mu\text{l/l}$, natomiast w liściach wyżej umieszczonych przybierał wartość 3—7 $\mu\text{l/l}$ [13]. Występująca w pierwszym liściu wysoka wartość punktu kompensacyjnego jest typowa dla roślin C₃, podczas gdy w liściach następnych wartości te mieszczą się w zakresie charakterystycznym dla roślin C₄.

Wzrost natężenia fotosyntezy w kolejnych liściach kukurydzy stwierdził także Morot-Gaudry i wsp. [56]. W roślinach 16-dniowych trzeci liść wykazał o 70% wyższą wartość tego parametru niż liść pierwszy. Wartość punktu kompensacyjnego w tych roślinach wynosiła ok. 3 $\mu\text{l/l}$ [54]. W tym przypadku wartość punktu

Charakterystyka fotosyntetycznej przemiany gazowej w kolejnych liściach kukurydzy [13]

Numer liścia	Punkt kompensacyjny $\mu\text{l/l}$	Fotosynteza netto $\text{mg CO}_2 \text{ dm}^{-2} \text{ h}^{-1}$
1	43,0	13,18
2	7,0	16,59
3	3,5	22,92
4	4,5	22,37
5	3,0	21,75

kompensacyjnego i osiągające $150 \text{ mg CO}_2/\text{m}^3$ stężenie, wysycające fotosyntezę, kwalifikowały młode rośliny kukurydzy do grupy roślin C_4 . Jednak wartość oporu dyfuzyjnego chloroplastów nie była typowa dla roślin C_4 . Na podstawie tych danych wyrażono opinię, że młode rośliny kukurydzy nie są typowymi roślinami C_4 [54]. Podobne wyniki uzyskano także w młodych roślinach trzciny cukrowej [11].

Badając procesy wymiany gazowej w kukurydzy do 22 dnia wegetacji Poskuta [61] wykazał, że punkt kompensacyjny CO_2 zasadniczo nie jest zależny od stężenia O_2 i w pewnym zakresie słabo zależny od intensywności światła. Okazało się jednak, że wartość jego wynosi ponad $10 \mu\text{l/l}$ aż do czternastego dnia wegetacji i dopiero w starszych roślinach obniża się do zera.

Zróznicowanym natężeniem fotosyntezy charakteryzowały się także strefy trzeciego liścia kukurydzy. Najwyższą wartość tego parametru stwierdzono w strefie środkowej, przy czym była ona 3-krotnie wyższa od oznaczonej w strefie podstawy liścia. Natężenie fotosyntezy w 4-dniowej roślinie zbliżone było do wartości uzyskanej w strefie podstawy trzeciego liścia. Nie wykazano różnic wartości punktu kompensacyjnego w strefach środkowej i wierzchołkowej, a konkretnie wynosiła ona w obydwu strefach $1-2 \mu\text{l/l}$. Stwierdzono, że światło indukuje proces wiązania CO_2 we wszystkich badanych strefach [60]. Baker i Leech [4] twierdzą jednak, że w strefie do 4 cm od podstawy trzeciego liścia nie występuje fotosyntetyczne wiązania CO_2 , a jedynie wydzielanie tlenu.

W starzejącym się liściu kukurydzy natężenie fotosyntezy było znaczne, mimo że zawierał on tylko 20% chlorofilu względem liścia dojrzałego. Świadczyło to o utrzymującej się sprawności aparatu fotosyntetycznego kukurydzy, nawet w fazie starzenia się liścia. W fazie tej stwierdzono jednak nietypową dla roślin C_4 wartość punktu kompensacyjnego, sięgającą $22 \mu\text{l/l}$, wobec wartości $2-3 \mu\text{l/l}$ w liściu młodym i dojrzałym [91]. Obserwowany wzrost punktu kompensacyjnego mógł nastąpić albo na skutek obniżenia zdolności wiązania CO_2 , albo wzrostu intensywności wydzielania CO_2 na świetle. Pierwszemu argumentowi przeczy jednak stosunkowo duża zdolność wiązania CO_2 przez starzejący się liść. Ponadto obserwowany jedynie na świetle wzrost wydzielania CO_2 , wyklucza udział oddychania mitochondrialnego w zwiększeniu wartości punktu kompensacyjnego. Ostatecznie Williams i Kennedy [91] ustalili, że obserwowany wzrost punktu kompensacyjnego wiąże się

ze zwiększeniem intensywności fotooddychania w liściach starzejących się. Ponieważ przyjmuje się, że CO_2 wydzielany w efekcie fotooddychania ulega reasymilacji przez PEP zanim oddyfunduje z liścia [87], w stadium starzenia się liścia dochodzi prawdopodobnie do ograniczenia reasymilacji. W przypadku kukurydzy proponowano istnienie specyficznego typu fotooddychania, z uwagi na niezależność natężenia fotosyntezy od niskiego stężenia tlenu [51]. Badania ultrastruktury liścia kukurydzy wykazały, że w cytoplazmie komórek starzejących się wcześniej występują oznaki jej destrukcji niż w chloroplastach [91], co może utrudniać zatrzymywanie CO_2 wewnątrz tkanki.

Podobnie jak u kukurydzy, wzrost intensywności fotooddychania w liściach starzejących się wykazano także u *Portulaca oleracea* [26].

W strefie podstawy trzeciego liścia i w 4-dniowej siewce kukurydzy obserwowano wydzielanie CO_2 na świetle i wykazano, charakterystyczny dla fotooddychania wzrost ilości wydzielanego CO_2 wraz z rosnącym stężeniem tlenu. Ponieważ wartość proporcji CO_2 wydzielanego na świetle do wydzielanego w ciemności wynosiła tylko ok. 1,5, co świadczyło o małym natężeniu fotooddychania, zwrócono uwagę, że niezupełnie jeszcze zróżnicowane młode tkanki wykazują jednak znaczną aktywność karboksylazy PEP. Intensywne wiązanie CO_2 przez ten enzym może zmniejszać ilość wydzielanego do atmosfery CO_2 [60]. W roślinie C_4 *Mollugo nudicaulis* stwierdzono niewielkie natężenie fotooddychania w dolnych liściach, gdzie dominowały cechy roślin C_4 , natomiast w młodszych, górnych liściach natężenie tego procesu było znaczne i dominowały w nich cechy roślin C_3 [65]. Enzymy uczestniczące w procesie fotooddychania są na ogół słabo aktywne w młodych liściach, co stanowi najprawdopodobniej czynnik ograniczający jego intensywność. Wyniki uzyskane przez Soldatiniego [82] świadczą o tym, że w fazie starzenia się liścia kukurydzy enzymy szlaku fotooddechowego ulegają aktywacji i wzmagają się ich synteza pod wpływem powstającego glikolanu. Dezhii [15], śledząc aktywność oksydazy glikolanowej w liściach kukurydzy, uzyskał jednak spadek aktywności w miarę dojrzewania badanych liści i wykazał wyższą aktywność tego enzymu w młodszych, wyżej umieszczonych liściach. Wobec sprzecznych danych dotyczących aktywności oksydazy glikolanowej, należy zwrócić uwagę na różnice w oznaczanej aktywności enzymu zależnie od stosowanej metody ekstrakcji [82]. Zazwyczaj młode tkanki łatwiej ulegają dezintegracji i stąd być może Dezhii [15] uzyskał wyższą aktywność w młodszych liściach.

Fotosyntetyczne przemiany metaboliczne na tle ontogenezy

Wśród różnych elementów wpływających na proces fotosyntezy i przedstawionych na tle rozwoju ontogenetycznego roślin C_4 , nie można pominąć enzymów i metabolitów uczestniczących we wczesnych etapach tego procesu.

Dla porównania danych określających przemiany metaboliczne na tym tle, konieczna jest standaryzacja szeregu czynników środowiska, które mogłyby wpływać na ich ontogenetyczną interpretację. Istnieją dowody, że ilość i aktywność enzymów

zależy od składników mineralnych [3, 77]. Intensywność światła i rodzaj fotoperiodu, to także istotne elementy wpływające na aktywację i syntezę enzymów [12, 13].

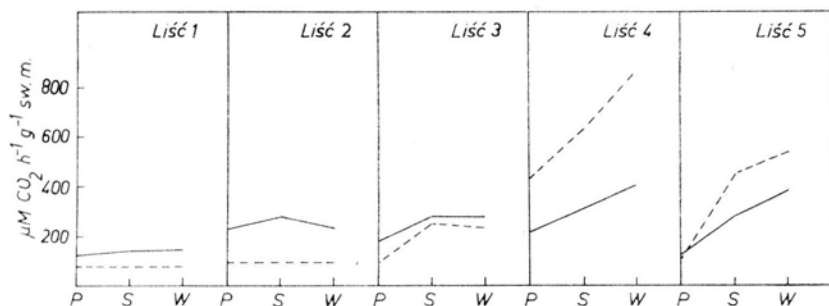
Wzrost ilości azotu w pożywce wpływał nieznacznie na aktywność karboksylazy RuBP, oraz na natężenie fotosyntezy, powodował natomiast wzrost aktywności karboksylazy PEP u kukurydzy. Produkty karboksylacji PEP kierowane były jednak w tych warunkach głównie do syntezy aminokwasów [3]. Shomer-Ilan i Waisel [77] stwierdzili wzrost aktywności karboksylazy PEP w miarę podwyższania stężenia NaCl w pożywce dla kukurydzy. Działanie ciągłego oświetlenia aktywowało obydwie karboksylazy. Rytmiczne wahania aktywności enzymów w tych warunkach spowodowane były prawdopodobnie okresowym nadmiarem produktów reakcji [12]. Oświetlenie etiolowanych 5-dniowych siewek kukurydzy powodowało wzrost aktywności obydwu karboksylaz po kilku godzinach działania światła. Wzrost aktywności enzymów poprzedzała indukowana światłem biosynteza chlorofilu. Okazało się jednak, że po zahamowaniu syntezy chlorofilu przez dodanie kwasu α -amino-lewulinowego nastąpiło ograniczenie tempa wzrostu aktywności karboksylazy PEP, a na aktywność karboksylazy RuBP nie miało to większego wpływu [34]. Karboksylaza PEP oprócz większego powinowactwa do CO_2 , w porównaniu z karboksylazą RuBP, nie jest wrażliwa na działanie tlenu [52]. Aktywność właściwą karboksylaz PEP i RuBP oznaczano w roślinie *C₄ Atriplex spongiosa* w odstępach tygodniowych, w stopniowo starzejącym się liściu i porównano z aktywnością w najmłodszych liściach pojawiających się między kolejnymi pomiarami. Wykazano, że różnice pomiędzy liściem dojrzewającym i najmłodszymi były nieznaczne, natomiast w obydwu liściach aktywność właściwa zależała od stadium rozwoju rośliny [17].

Krzywe zmian aktywności karboksylaz w kolejnych fazach rozwoju drugiego liścia kukurydzy przebiegały podobnie, niezależnie do tego, czy aktywność wyrażano w przeliczeniu na jednostkę masy, czy na mg chlorofilu [84]. W obydwu przypadkach wartości maksymalne występowały w fazie młodocianej, jednak tempo spadku aktywności RuBP karboksylazy było większe niż PEP karboksylazy w miarę starzenia się liścia. Aktywność karboksylazy PEP, wyrażona na gram świeżej masy w pierwszych czterech liściach kukurydzy, wykazała tendencję wzrostową do dziesiątego dnia od momentu pojawienia się każdego liścia, pomiędzy dziesiątym a trzydziestym dniem nie stwierdzono wyraźnych zmian, i dopiero w okresie późniejszym następował spadek aktywności [57].

Jako wskaźnik określający stopień współdziałania dwóch szlaków wiązania CO_2 w roślinach C_4 , występuje często stosunek aktywności karboksylaz PEP i RuBP [13, 26, 31, 60]. U kukurydzy, aktywność PEP karboksylazy w pierwszych trzech liściach była niższa od aktywności RuBP karboksylazy, natomiast w liściu czwartym i piątym przeważała nad RuBP karboksylazą.

W poszczególnych strefach liści od pierwszego do czwartego nie stwierdzono zróżnicowania proporcji wymienionych enzymów, niezależnie od tego, w jakich jednostkach wyrażano aktywność, (patrz ryc. 3.). Na tej podstawie wnioskowano, że w dolnych liściach kukurydzy dominuje karboksylacja RuBP, natomiast udział karboksylacji PEP przeważa dopiero od czwartego liścia [13].

Malejący stosunek aktywności karboksylazy PEP do RuBP w poszczególnych strefach trzeciego liścia kukurydzy, od wartości 4,7 w strefie podstawy liścia do 3,0 w strefie wierzchołkowej, wykazali Perchorowicz i Gibbs [60]. Mimo znacznych potencjalnych możliwości karboksylaza PEP nie jest ich zdaniem w pełni



Ryc. 3 Aktywność enzymów karboksylacyjnych w strefach kolejnych liści kukurydzy [13]. P — strefa podstawy liścia, S — strefa środkowa, W — strefa wierzchołkowa. Karboksylaza PEP -----, Karboksylaza RuBP —————

wykorzystywana w strefie podstawy liścia, z powodu niepełnego jeszcze zróżnicowania ultrastruktury chloroplastów. Ponadto przenoszenie CO_2 z dwukarboksylowych kwasów C_4 do RuBP ograniczane jest niewielką aktywnością dekarboksylacyjnego enzymu jabłczanowego w tej strefie. Otrzymane wyniki wskazywały na brak równowagi między mechanizmem karboksylacji i dekarboksylacji, oraz ograniczony dostęp kwasów C_4 do enzymu dekarboksylacyjnego. Przyjęto wobec tego, że w strefie podstawy liścia przebiega równoległe wiązanie CO_2 przez obydwie karboksylazy, lecz w chloroplastach komórek okołowiązkowych cykl C_3 funkcjonuje niezależnie od syntezy dwukarboksylowych kwasów C_4 w komórkach mezofilu [60]. Stosunek aktywności karboksylaz PEP do RuBP określony w liściach kukurydzy pobieranych z różnych poziomów rośliny, wynosił ok. 5 zarówno w liściu młodym jak i starzejącym się, natomiast w liściu dojrzałym obniżał się do 2,2 [92].

Aktywność karboksylazy RuBP u kukurydzy wykazywała większą dynamikę wzrostu, bowiem wartość jej wzrastała 9-krotnie w liściu dojrzałym w porównaniu z młodym, natomiast tylko 4-krotnie wzrastała wówczas aktywność karboksylazy PEP. W fazie starzenia się liścia kukurydzy spadek aktywności względem maksimum w liściu dojrzałym był jednak ok. 20-krotny w przypadku karboksylazy RuBP, zaś 11-krotny w odniesieniu do karboksylazy PEP. Williams i Kennedy [92] twierdzą na tej podstawie, że karboksylaza RuBP u kukurydzy łatwiej niż karboksylaza PEP ulega inaktywacji w fazie starzenia się liścia. U *Portulaca oleracea* stosunek aktywności karboksylaz PEP do RuBP wynosił ok. 20 i 15 odpowiednio w liściach młodym i dojrzałym. Spadek aktywności w starzejącym się liściu w stosunku do dojrzałego był ok. 10-krotny w odniesieniu do karboksylazy PEP, a tylko ok. 4-krotny w przypadku karboksylazy RuBP. Kennedy [26] tłumaczył ten fakt zróżnicowanym tempem degradacji poszczególnych karboksylaz, zlokalizowanych w różnych elementach komórek.

Względny wzrost aktywności szlaku C_3 w dojrzewającym liściu stwierdzono

w jednoliściennej roślinie *C₄ Pennisetum* [43]. Przeprowadzone w czwartym liściu w okresie od 21 do 35 dnia wegetacji oznaczenia enzymów karboksylacyjnych, wykazały 3,5-krotnie wyższą aktywność karboksylazy PEP nad aktywnością karboksylazy RuBP w młodych liściach, podczas gdy w dojrzałych stosunek aktywności karboksylaz PEP do RuBP zmniejszył się do ok. 1. Także w liściu podzielonym na strefy podstawową, środkową i wierzchołkową, aktywność karboksylazy PEP malała od podstawy do wierzchołka, a karboksylaza RuBP wykazywała wzrost aktywności w tym kierunku.

Zmiany proporcji karboksylaz w okresie kwitnienia sorgo przebiegały w kierunku wzrostu aktywności karboksylazy RuBP i obniżenia aktywności karboksylazy PEP. W analogicznym okresie nie stwierdzono jednak podobnych zmian w badanym dla porównania *Pennisetum typhoides* [31].

Najważniejszym elementem zapewniającym współdziałanie szlaków *C₄* i *C₃* jest dekarboksylacyjny enzym jabłczanowy. Aktywność tego enzymu niezależnie od stadium rozwoju liścia kukurydzy była wyższa niż aktywność karboksylaz. Podobna relacja występowała także pomiędzy dehydrogenazą jabłczanową (MDH), katalizującą syntezę jabłczanu, i karboksylazami PEP oraz RuBP (patrz tab. 2) [92].

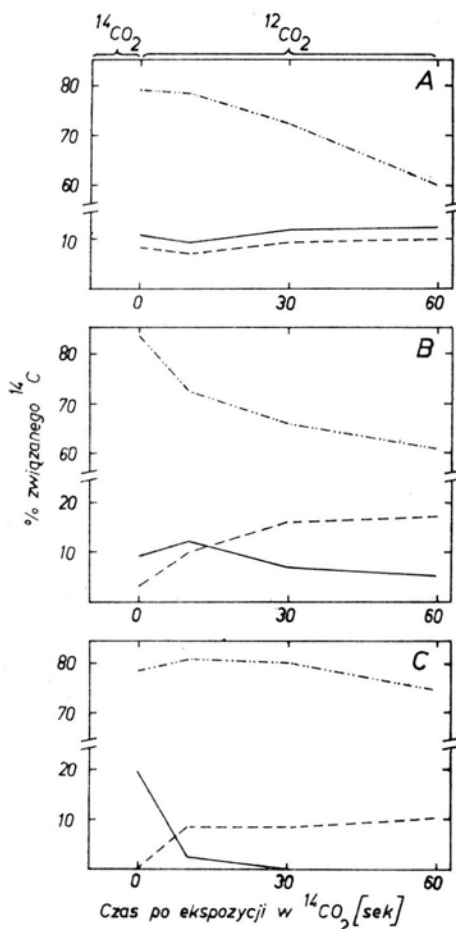
TABELA 2

Aktywność enzymów fotosyntetycznych w kolejnych stadiach rozwoju liścia 60-dniowej kukurydzy [92]. Liść młody — strefa podstawowa 8-9 liścia, liść dojrzały — strefa środkowa 4-5 liścia, liść starzejący się — strefa wierzchołkowa liścia zawierająca ok. 20% chlorofilu względem liścia dojrzałego

Wiek liścia	$\mu\text{M CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ św. m. h}^{-1}$			
	Karboksylaza PEP	Karboksylaza RuBP	Dekarboksyl. enzym NADP-jabłczanowy	Dehydrogenaza jabłczanowa
młody	155,8	33,2	377,9	3980
dojrzały	660,6	296,7	1183,6	5390
starzejący	60,6	14,2	232,2	1670

W liściach *Portulaca oleracea*, podobnie jak u kukurydzy, aktywność MDH przewyższała aktywności obydwu karboksylaz i osiągała wartość maksymalną w dojrzałym liściu. W fazie starzenia się liścia tej rośliny przewaga MDH nad aktywnością karboksylazy RuBP zmniejszała się [26], natomiast w liściach kukurydzy wzrastała [92]. Stosunek aktywności dekarboksylacyjnego enzymu jabłczanowego do karboksylazy RuBP wzrastał w kierunku wierzchołka liścia kukurydzy, lecz w strefie podstawy liścia aktywność karboksylazy względem enzymu dekarboksylacyjnego była 2-krotnie wyższa. Obserwowano korelację aktywności enzymu dekarboksylacyjnego z ultrastrukturalnym różnicowaniem dojrzewających chloroplastów [60]. Analiza dystrybucji ^{14}C po 4 sek. ekspozycji wykazała, że dwukarboksylowe kwasy *C₄* zawierały ok. 70% znacznika w pierwszych trzech liściach 16-dniowych roślin kukurydzy, bez względu na stopień ich dojrzałości. Podobnie, wbudowywanie ^{14}C do 3-PGA nie wykazywało większych różnic i oscylowało ok. 16%. Po 56 sek. w atmosferze pozbawionej izotopowego CO_2 , znakowany jabłczan i asparaginan

zawierał tylko 10% ilości wbudowanego izotopu, podczas gdy wzrosła radioaktywność cukrów, aminokwasów i skrobi, a ilość znakowanego 3-PGA w zasadzie nie ulegała zmianie [56]. Intensywne znakowanie kwasów C_4 po 10 sek. ekspozycji w $^{14}CO_2$, sięgające ok. 80% całkowitej ilości znacznika, miało miejsce także w kolejnych strefach trzeciego liścia kukurydzy. Po 2 min. podawania radioaktywnego CO_2 w strefach środkowej i wierzchołkowej ilość znacznika w tych związkach obniżyła się do ok. 50%, wzrosła w fosforanach cukrów, a pozostała nie zmieniona w 3-PGA. W strefie podstawy liścia ilość znakowanego 3-PGA zmniejszyła się od



Ryc. 4 Dystrybucja ^{14}C w produktach fotosyntezy kolejnych stref liścia kukurydzy [60]. A — strefa wierzchołkowa, B — strefa środkowa, C — strefa podstawy liścia, jabłczan — asparaginian —..... fosforany cukrów —----- 3-PGA —————

wartości 10% po 10 sek. ekspozycji, do ok. 3% po ekspozycji trwającej 2 min. Ilość znakowanego jabłczanu i asparaginianu w tej strefie nie zmieniała się w czasie 2 min. ekspozycji [60].

Dystrybucję znakowanego węgla w kolejnych strefach śledzono także w czasie 1 min. po zakończeniu krótkiej ekspozycji w izotopowym CO_2 . W tym wypadku

ilość znakowanych związków była podobna do uzyskanej w czasie 2 min. znakowania $^{14}\text{CO}_2$, a szczegółowo przedstawia to ryc. 4. Analizy przeprowadzone w liściach 4-dniowych siewek kukurydzy okazały się zbieżne z wynikami uzyskanymi w strefie środkowej [60]. Przedstawione dane wskazywały na współdziałanie szlaków C_4 i C_3 w strefach środkowej i wierzchołkowej oraz nie wykluczały tej możliwości w 4-dniowych siewkach. Wartości otrzymane w strefie podstawy liścia wraz z przeprowadzonymi oznaczeniami aktywności enzymów potwierdzały hipotezę, że w tej strefie fotosyntetyczny cykl C_3 jest niezależny od przemian metabolicznych szlaku C_4 . W tej sytuacji możliwy wydaje się jałowy przebieg szlaku C_4 , prowadzący do przemian dwukarboksylovych kwasów C_4 na PEP wewnątrz komórek mezofilu [60].

Kolejnym potwierdzeniem intensywnej karboksylacji PEP w kukurydzy były badania przeprowadzone w trzech stadiach rozwojowych jej liści [91]. Jako jedyny wyraz wzrostu aktywności szlaku C_3 wraz ze starzeniem się liści, wskazywano niewielkie zwiększenie ilości znakowanego glicerynianu i towarzyszącą temu obniżkę ilości znacznika związanego w kwasach C_4 od 75 do 66%. Przeprowadzone przez Williamsa i Kennedy'ego [92] badania dystrybucji znacznika ^{14}C w czasie 2 min. po zakończeniu ekspozycji wykazały spadek radioaktywności kwasów C_4 w liściu dojrzałym z ok. 75 do kilku procent, a jej wzrost w 3-PGA, fosforanach cukrów i największy, sięgający 45% w sacharozie. Radioaktywność 3-PGA rosła jednak tylko do 15 sek. po ekspozycji, osiągając wartość ok. 20%, po czym malała stopniowo, by po 2 min. znaleźć się na poziomie wartości początkowej (kilka %). W liściu starzejącym się procent radioaktywności w fosforanach cukrów był wyższy niż w dojrzałym, a znakowanie 3-PGA niższe niż w liściu dojrzałym i nie zmieniające się po ekspozycji. Po 2 min. stwierdzono w liściu starzejącym się 2-krotnie wyższą radioaktywność w kwasach C_4 w porównaniu z liściem dojrzałym. Większa ich ilość w tym stadium rozwoju wskazywała na ograniczony transport znakowanego węgla między jableczanem a 3-FGA [92].

Zależność wbudowywania $^{14}\text{CO}_2$ od stopnia dojrzałości całych roślin kukurydzy przedstawili Reynolds i wsp. [70]. W roślinach 4-tygodniowych stwierdzano jak poprzednio ok. 80% radioaktywności w kwasach C_4 , natomiast w roślinach 10-tygodniowych tylko ok. 40%. Przedłużenie ekspozycji do 30 sek. powodowało spadek tych wartości do 60% i 15% odpowiednio w roślinach młodszych i starszych. Znakowanie sacharozy i alaniny osiągało po 30 sek. wartość ok. 12% w roślinach 4-tygodniowych, zaś w roślinach starszych ok. 75%.

W młodych liściach *Portulaca oleracea* jableczan, asparaginian i alanina skupiały łącznie ok. 90% radioaktywności po 10 sek. ekspozycji, a udział każdego z wymienionych związków wynosił ok. 30%. Dojrzałe liście wiązały w kwasach C_4 już tylko 45% radioaktywności, a ok. 2% znacznika wbudowane było do 3-PGA i 15% do fosforanów cukrów. W starzejących się liściach wbudowany ^{14}C nadal skupiał się głównie w kwasach C_4 i alaninie, lecz w 3-PGA stwierdzano tym razem 18% znacznika po 10 sek. ekspozycji. Tak więc, w tym stadium rozwoju liści nastąpił ok. 8-krotny wzrost znakowania 3-PGA [28].

Stwierdzone różnice w znakowaniu wczesnych produktów fotosyntezy w kolej-

nych fazach rozwoju zależą, jak się wydaje, od ultrastrukturalnych i biochemicznych zmian w dojrzewających, a następnie starzejących się chloroplastach.

Stadium rozwoju stanowi w tym wypadku jeden z głównych czynników decydujących o efekcie działania poszczególnych systemów enzymatycznych C_3 i C_4 . Jak twierdzi Kennedy i Laetsch [28], fotosyntetyczny szlak C_4 może odgrywać pomocniczą rolę tylko w pewnych stadiach rozwoju liścia lub rośliny i pod tym kątem należy chyba rozpatrywać fakt jego powstania i przystosowanie niezbędnych elementów.

Podsumowanie

Istnieje wiele dowodów, że ewolucja pewnych gatunków roślin objęła także szlak fotosyntetycznego wiązania CO_2 , którego rozwój przebiegał od typu C_3 do C_4 . W trakcie ontogenezy roślin obserwuje się niekiedy podobny kierunek zmian procesu fotosyntezy. Wydaje się zatem, że zmiany ontogenetyczne odzwierciedlają w pewnej mierze rozwój filogenetyczny.

Zazwyczaj w młodych roślinach C_4 i ich pierwszych liściach dominuje szlak C_3 Calvina-Bensona, natomiast szlak C_4 Hatcha-Slacka uaktywnia się w nieco późniejszej fazie rozwoju. W okresie starzenia się liście niektórych roślin C_4 wykazują spadek aktywności metabolicznego szlaku C_4 , a niekiedy względny wzrost aktywności szlaku C_3 . Można to tłumaczyć zróżnicowaną wrażliwością enzymów na inaktywację i bliżej nieokreślone czynniki biochemiczne. Niektóre bioregulatory, których poziom zmienia się wraz z rozwojem rośliny, mogą także wpływać na efektywność współdziałania szlaków C_4 i C_3 , lecz jest to raczej wpływ pośredni.

System wiązania CO_2 w roślinach C_4 , w którym zaangażowane są kolejno reakcje karboksylacji PEP, a następnie RuBP, zależy od stopnia rozwoju ultrastruktury chloroplastów i ich aktywności fotochemicznej, a nie jak sądzono do niedawna, od specyficznej struktury anatomicznej liścia. Wskazuje na to również korelacja procesów biochemicznych ze zmianami ultrastruktury w starzejących się tkankach liści.

Wzrost intensywności fotooddychania w fazie starzenia się roślin C_4 i ich liści jest jak dotąd różnie interpretowany. Wydaje się jednak, że główną przyczyną tego zjawiska jest ograniczenie zdolności utrzymywania CO_2 wewnątrz tkanki i utrudniony transport węgla z jabłczanu lub asparagianu do RuBP.

Przedstawione dane wskazują, że element dynamiki jaki wnosi ontogeneza zmienia w znacznym stopniu stacjonarny model roślin C_4 . W ujęciu ontogenetycznym model ten upodobnia się w okresie młodocianym i w fazie starzenia się roślin do modelu roślin C_3 . W roślinach młodych model ontogenetyczny jest zbieżny z ewolucyjnym tokiem przemian fotosyntezy. W roślinach starzejących się pomocnicza rola szlaku C_4 , jaką odgrywa on do zakończenia intensywnego wzrostu, prawdopodobnie traci znaczenie i w związku z tym jego aktywność metaboliczna ulega stopniowemu ograniczeniu.

Autor serdecznie dziękuje Prof. Janowi Zurzyckiemu za sugestie i uwagi przekazane przy opracowywaniu niniejszego artykułu.

LITERATURA

- [1] Alexander, A. G., Kumar A. 1974: Relationships of chlorophyll and enzyme gradients to sucrose content of sugar-cane leaves. — *J. Agr. Univ. Puerto Rico* 58:406—417.
- [2] Andersen, K. S., Bain, J. M., Bishop, D. G., Smillie, R. M. 1972: Photosystem II activity in agranal bundle sheath chloroplasts from *Zea mays*. — *Plant Physiol.* 49:461—466.
- [3] Avdeeva, T. A., Andreeva, T. F., 1973: Nitrogen Nutrition and Activities of CO₂-fixing Enzymes and Glyceraldehyde Phosphate Dehydrogenase in Broad Bean and Maize. — *Photosynthetica* 7: 140—145.
- [4] Baker, N. R., Leech, R. M. 1977: Development of photosystem I and photosystem II activities in leaves of light-grown maize. — *Plant Physiol.* 60:640—644.
- [5] Baszyński, T., 1971: Distribution of plastid quinones and pigments along the leaf in different stages of plastid development of *Zea mays* L. seedlings. — *Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, Sect. C* 26:187—198.
- [6] Bishop, D. G., Andersen, K. S., Smillie, R. M., 1971: Incomplete membrane-bound electron transport pathway in agranal chloroplasts. — *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 42:74—81.
- [7] Bishop, D. G., Andersen, K. S., Smillie, R. M., 1972: pH dependence of photochemical reactions in maize chloroplasts. — *Plant Physiol.* 50:774—777.
- [8] Björkman, O., 1973: Comparative studies on photosynthesis in higher plants. — *Photophysiology. Current Topics in Photobiology and Photochemistry*, vol. VII, str. 1—63, Giese, A. C.
- [9] Bourdu, R. 1976: Discussion sur les caractéristiques structurales et infra-structurales des feuilles en fonction de l'appartenance aux trois types métaboliques. — *Physiol. Veg.* 14:551—561.
- [10] Bourdu, R., Krivitzky M. 1972: Sur le rapport chlorophylle „a” chlorophylle „b” des chloroplastes dimorphiques de *Zea mays* L. — *Compt. rend. Acad. Sci. Paris, Ser. D* 275:1039—1042.
- [11] Bull T. A. 1971: The C₄ pathway related to growth rates in sugar-cane. — *Photosynthesis and Photorespiration*, Wiley Interscience, str. 68—75.
- [12] Colombo, P. M., Rascio, N., Orsenigo, M., 1977: An hypothesis on a possible regulation process of photosynthesis in maize plants exposed to continuous illumination. — *Caryologia* 30:(4).
- [13] Crespo, H. M., Frean, M., Cresswell, C. F., Tew, J., 1979: The Occurrence of Both C₃ and C₄ Photosynthetic Characteristics in a Single *Zea mays* Plant. — *Planta* 147:257—263.
- [14] Crookston, R. K., Moss, D. N.: 1970: The relation of carbon dioxide compensation and chlorenchymatous vascular bundle sheaths in leaves of dicots. — *Plant Physiol.* 46:564—567.
- [15] Dezhi, L., 1974: Aktivnost' oksidazy glikolievoj kisloty i sodierzhanie khlorofilla v listiakh kukuzy. — *Acta bot. Acad. Sci. hung.* 20:221—226.
- [16] Downton, W. J. S., Pylotis, N. A., 1970: Loss of photosystem II during ontogeny of sorghum bundle sheath chloroplasts. — *Can. J. Bot.* 49:179—180.
- [17] Downton, J., Slatyer, R. O., 1971: Variation in Levels of Some Leaf Enzymes. — *Planta* 96:1—12.
- [18] Edwards, G. E., 1974: Diversification of C₄ plants. — *What's New in Plant Physiol.* 6:1—7.
- [19] Edwards, G. E., Black, C. C., 1971: Photosynthesis in mesophyll cells and bundle sheath cells isolated from *Digitaria sanguinalis* L. Scop. leaves. — *Photosynthesis and Photorespiration*; Hatch, M. D., Osmond, C. B., Slatyer, R. O., Wiley Interscience, str. 153—168.
- [20] Gaponenko, V. I., 1976: Vlijanie Vneshnikh Faktorov na Metabolizm Khlorofilla. — *Nauka i Tiekhnika*, Minsk.
- [21] Hatch, M. D., Slack, C. R., 1966: Photosynthesis by sugar-cane leaves. A new carboxylation reaction and the pathway of sugar formation. — *Biochem. J.* 101:103—111.
- [22] Hatch, M. D., Slack, C. R., Bull, T. A., 1969: Light-induced changes in the content of some enzymes of the C₄-dicarboxylic acid pathway of photosynthesis and its effect on other characteristics of photosynthesis. — *Phytochemistry* 8:697—706.
- [23] Huber, W., Sankhla, N., 1974: Effect of Gibberellic Acid on the Activities of Photosynthetic Enzymes and ¹⁴CO₂ Fixation Products in Leaves of *Pennisetum typhoides* Seedlings. — *Z. Pflanzenphysiol.* 71:275—280.

- [24] Johnson, S. C., Brown, W. V., 1973: Grass leaf ultrastructural variations. *Amer. J. Bot.* 60:727—735.
- [25] Kanai, R., Kashiwagi, M., 1975: *Panicum milioides*, a Gramineae plant having Kranz leaf anatomy without C₄-photosynthesis. — *Plant Cell Physiol.* 16:669—679.
- [26] Kennedy, R. A., 1976: Relationship between Leaf Development, Carboxylase Enzyme Activities and Photorespiration in the C₄-Plant *Portulaca oleracea* L. — *Planta* 128:149—154.
- [27] Kennedy, R. A., Barnes, J. E., Laetsch, W. M., 1977: Photosynthesis in C₄ plant tissue cultures. Significance of Kranz anatomy to C₄ acid metabolism in C₄ plants. — *Plant Physiol.* 59:600—603.
- [28] Kennedy, R. A., Laetsch, W. M., 1973: Relationship between Leaf Development and Primary; Photosynthetic Products in the C₄ Plant *Portulaca oleracea* L. — *Planta* 115:113—124.
- [29] Kennedy, R. A., Laetsch, W. M., 1974: Plant Species Intermediate for C₃, C₄ Photosynthesis. — *Science* 184:1087—1089.
- [30] Keresztes, A., Faludi-Daniel, A., 1973: Ultrastructure, pigment content and photosynthetic activity of the normal and mutant chloroplasts in developing *Tradescantia* leaves. — *Acta biol. Acad. Sci. hung.* 24:175—189.
- [31] Khana, R., Sinha, S. K., 1973: Change in the predominance from C₄ to C₃ pathway following anthesis in Sorghum. — *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 52:121—124.
- [32] Kisaki, T., Hirabayashi, S., Yano, N., 1973: Effect of age of tobacco leaves on photosynthesis and photorespiration. — *Plant Cell Physiol.* 14:505—514.
- [33] Klyuchareva, E. A., 1974: Izmienienie fotokhimicheskoi aktivnosti i kharaktera fraktsionirovaniya pigment-bielkovo fonda v plastidkakh zielenyushchikh listiev. — *Biologia i Nauchno-Tiekhnicheskij Progress Acad. Nauk SSSR*, str. 48—50.
- [34] Kobayashi, H., Asami, S., Akazawa, T., 1980: Development of Enzymes Involved in Photosynthetic Carbon Assimilation in Greening Seedlings of Maize (*Zea mays*). — *Plant Physiol.* 65:198—204.
- [35] Koch, H., 1976: Zebrastreifung, eine Chlorose keimender Monokotylen verursacht durch Belichtung und Temperatur. — *Angew. Bot.* 50:233—250.
- [36] Kortschak, H. P., Hartt, C. E., Burr, G., 1965: Carbon dioxide fixation in sugar-cane leaves. — *Plant physiol.* 40:209—213.
- [37] Laetsch, W. M., 1968: Chloroplast specialization in dicotyledons possessing the C₄-dicarboxylic acid pathway of photosynthetic CO₂ fixation. — *Amer. J. Bot.* 55:875—883.
- [38] Laetsch, W. M., 1969: Relationship between chloroplast structure and photosynthetic carbon-fixation pathways. — *Sci. Prog. Oxf.* 57:323—351.
- [39] Laetsch, W. M., 1971: Chloroplast structural relationships in leaves of C₄ Plants. — *Photosynthesis and Photorespiration*; Hatch, M. D., Osmond, C. B., Slatyer, R. O., Wiley Interscience, str. 323—349.
- [40] Laetsch, W. M., 1974: The C₄ syndrome: a structural analysis. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 25:27—52.
- [41] Laetsch, W. M., Boasson, R., 1971: Effect of growth regulators on organelle development. — *Hormonal Regulation in Plant Growth and Development*; Kaldewey, H., Vardar, Y., Verlag Chemie, str. 453—465.
- [42] Laetsch, W. M., Kortschak, H. P., 1972: Chloroplast structure and function in tissue cultures of a C₄ plant. — *Plant Physiol.* 49:1021—1023.
- [43] Lavergne, D., Bismuth, E., Sarda, C., Champigny, M. L., 1979: Physiological Studies on two Cultivars of Pennisetum II. Effects of Leaf Age on Biochemical Characteristics and Activities of the Enzymes Associated with the Photosynthetic Carbon Metabolism. — *Z. Pflanzenphysiol.* 93:159—170.
- [44] Law, G. W. M., 1975: Photosynthetic Carbon Metabolism in Primary and Secondary Leaves of *Zea mays* L. — *Ph. Doct. Thesis, Univ. Manitoba.*
- [45] Lechowski, Z., 1978: Fotosynteza typu pośredniego C₃-C₄. — *Wiad. Bot.* 22:89—97.
- [46] Lechowski, Z., 1978: Fotosynteza typu pośredniego C₃-C₄. Aspekty biochemiczne i fizjologiczne. — *Wiad. Bot.* 22:183—198.

- [47] Leech R. M., Rumsby, M. G., Thomson, W. W., 1973: Plastid differentiation: acyl lipid, and fatty acid changes in developing green maize leaves. — *Plant Physiol.* 52:240—245.
- [48] Leech, R. M., Rumsby, M. G., Thomson, W. W., Crosby, W., Wood, P., 1972: Lipid changes during plastid differentiation in developing maize leaves. — *Photosynthesis, Two Centuries after Its Discovery by Joseph Priestley*; Forti, G., Avron, M., Melandri, A., Dr W. Junk N. V. Publ., str. 2479—2488.
- [49] Ludlow, M., Wilson, M., Wilson, G. L., 1971: Photosynthesis of Tropical Pasture Plants III. Leaf Age. — *Aust. J. biol. Sci.* 24:1077—1087.
- [50] Mackender, R. O., 1978: Etioplast Development in Dark-grown Leaves of *Zea mays* L. — *Plant Physiol.* 62:499—504.
- [51] Mahon, J. D., Fock, H., Hoehler, T., Calvin, D. T., 1974: Changes in specific radioactivities of corn-leaf metabolites during photosynthesis in $^{14}\text{CO}_2$ and $^{12}\text{CO}_2$ at normal and low oxygen. — *Planta* 120:113—123.
- [52] Maleszewski, S., 1974: Tlen jako element regulacji fotosyntezy. — *Post. Biochem.* 20:379—402.
- [53] Mokronosov, A. T., Bagautdinova, R. I., Fedoseeva, G. P., Nekrasova, G. F., Borzenkova, R. A., Nazarov, S. K., 1973: Strukturnaya i funktsionalnaya dinamika lista v ontogeneze. — *Voprosy Regulyatsii Fotosinteza*; Sbornik 3, str. 3—44.
- [54] Morot-Gaudry, J. F., Bethenod O. Chatier, M., Chatier, P., 1976: Photosynthese comparee d'un Mais normal (W 64A) et d'un Mais mutant opaque 2 (W 64A o₂). — *Physiol. Veg.* 14:595—606.
- [55] Morot-Gaudry, J. F., Thomas, D. A., Deroche, M. E., Chatier, P., 1978: Growth, Leaf Optical Properties, Chlorophyll Content and Net Assimilation Rate in Maize Seedlings with and without the Gene Opaque 2. — *Photosynthetica* 12:284—289.
- [56] Morot-Gaudry, J. F., Farineau, J., Jolivet, E., 1979: Effect of Leaf Position and Plant Age on Photosynthetic Carbon Metabolism in Leaves of 8 and 16 Day-Old Maize Seedlings (W 64A) with and without the Gene Opaque 2. — *Photosynthetica* 13:365—375.
- [57] Möller, G., Stamp, P., Geisler, G., 1977: Fotometrische Messung der PEP-Carboxylase-Aktivität in Maisblättern unter Berücksichtigung des Entwicklungszustandes der Pflanze. — *Z. Pflanzenernaehr. Bodenkd.* 140:481—490.
- [58] Nimbalkar, J. D., Joshi, G., 1974: Photosynthesis and mineral metabolism in senescent leaves of sugar-cane Var. Co. 740. — *Indian Agric.* 18:257—264.
- [59] O'Neal, D., Hew, C. S., Latzko, E., Gibbs, M., 1972: Photosynthetic carbon metabolism of isolated corn chloroplasts. — *Plant Physiol.* 49:607—614.
- [60] Perchowicz, J. T., Gibbs, M., 1980: Carbon Dioxide Fixation and Related Properties in Sections of the Developing Green Maize Leaf. — *Plant Physiol.* 65:802—809.
- [61] Poskuta, J., 1969: Photosynthesis, Respiration and Post-illumination Fixation of CO_2 by Corn Leaves as Influenced by Light and Oxygen Concentration. — *Physiol. Plant.* 22:76—85.
- [62] Raafat, A., Stur, J., Sipos, M., Marek, N., 1970: Some aspects of oxidative-reductive changes in chloroplast suspensions during the process of ageing. — *Acta biochim. biophys. Acad. Sci. hung.* 5:265—272.
- [63] Raafat, A., Szasz, K., Horvath, I., 1970: Effect of leaf age on the chlorophyll fractions extracted with two different acetone concentrations. — *Acta bot. Acad. Sci. hung.* 16:187—191.
- [64] Raghavendra, A. S., Das, V. S. R., 1978: Development of Photochemical Activities in Mesophyll and Bundle Sheath Chloroplasts of C_4 and C_3 Plants during Seedling Growth. — *Plant Sci. Letters* 12:355—360.
- [65] Raghavendra, A. S., Rajendrudu, G., Das, V. S. R., 1978: Simultaneous occurrence of C_3 and C_4 photosynthesis in relation to leaf position in *Mollugo nudicaulis*. — *Nature* 273:143—144.
- [66] Rascio, N., Orsenigo, M., Arboit, D., 1976: Prolamellar Body Transformation with Increasing Cell Age in the Maize Leaf. — *Protoplasma* 90:253—263.
- [67] Rascio, N., Colombo, P. M., Orsenigo, M., 1980: The Ultrastructural Development of Plastids in Leaves of Maize Plants Exposed to Continuous Illumination. — *Protoplasma* 102:131—139.
- [68] Rathnam, C. K. M., Raghavendra, A. S., Das, V. S. R., 1976: Diversity in the Arrangements

- of Mesophyll Cells among Leaves of Certain C₄ Dicotyledons in Relation to C₄ Physiology. — Z. Pflanzenphysiol. 77:283—291.
- [69] Raven, C. W., 1973: Chlorophyll formation and phytochrome. — Meded. Landbouwhogesch. Wageningen 73:1—100.
- [70] Reynolds, P. E., Raigosa, J., Trip, P., 1974: Qualitative and quantitative changes in first products of photosynthesis in *Zea mays* as related to age. — Plant Physiol. 53 (suppl.) pos. 349.
- [71] Sankhla, N., Huber, W., 1974: Effect of Abscisic Acid on the Activities of Photosynthetic Enzymes and ¹⁴CO₂ Fixation Products in Leaves of *Pennisetum typhoides* Seedlings. — Physiol. Plant. 30: 291—294.
- [72] Sankhla, N., Huber, W., 1975: Regulation of Balance between C₃ and C₄ Pathway: Role of Abscisic Acid. — Z. Pflanzenphysiol. 74:267—271.
- [73] Šestak, Z., 1970: Photosystem I and II particles from leaves of different age. — Carnegie Inst. Year Book 68:572—574.
- [74] Šestak, Z., 1972: Leaf age and the shape of the red absorption band of maize chloroplasts. — Photosynthetica 6:75—79.
- [75] Šestak, Z., 1977: Photosynthetic Characteristics during Ontogenesis of Leaves — 1. Chlorophylls. — Photosynthetica 11:367—448.
- [76] Šestak, Z., 1977: Photosynthetic Characteristics during Ontogenesis of Leaves — 2. Photosystems, Components of Electron Transport Chain, and Photophosphorylations. — Photosynthetica 11:449—474.
- [77] Shomer-Ilan, A., Waisel, Y., 1973: The effect of NaCl on the balance between C₃ and C₄ carbon fixation pathways. — Physiol. Plant. 29:190—193.
- [78] Shomer-Ilan, A., Beer, S., Waisel, Y., 1975: *Suaeda monoica*, a C₄ Plant without Typical Bundle Sheaths. — Plant Physiol. 56:676—679.
- [79] Smirnova, N. P., 1967: K voprosu o svyazi khlorofilla iz lipo-proteidnym kompleksom inbrednoj, gibridnoj i svobodnoopylyaemoj kukuruzy. — Tr. gorsk. sel.-khoz. Inst. 27:160—163.
- [80] Smith, B. N., 1976: Evolution of C₄ Photosynthesis in Response to Changes in Carbon and Oxygen Concentrations in the Atmosphere through Time. — BioSystems 8:24—32.
- [81] Smith, B. N., Robins, M. J., 1974: Evolution of the C₄ Photosynthesis: An Assessment based on ¹³C/¹²C Ratios and Kranz Anatomy. — Proceedings 3rd International Congress Photosynthesis; Avron, M., Elsevier Amsterdam, str. 1579—1587.
- [82] Soldatini, G. F., 1979: Changes of Glycolate Oxidase Activity with Leaf Age in *Zea mays* L. — Z. Pflanzenphysiol. 94:267—271.
- [83] Spruit, C. J. P., Raven, C. W., 1970: Regeneration of protochlorophyll in dark grown seedlings following illumination with red and far red light. — Acta bot. neerl. 19:165—174.
- [84] Stamp, P., 1978: Der Chlorophyllgehalt, die PEP- und RuDP-Carboxylase-Aktivitäten während der Blattenentwicklung einer ergrünenden Chlorophyllmutante und einer normalen Linie von *Zea mays* L. — Z. Pflanzenphysiol. 86:395—404.
- [85] Treharne, K. J., Stoddart, J. L., Pughe, J., Parajothy, K., Wareing P. F., 1970: Effects of gibberelins and cytokinins on the activity of photosynthetic enzymes and plastid ribosomal RNA synthesis in *Phaseolus vulgaris* L. — Nature 228:129—131.
- [86] Usuda, H., Kanai, R., Takeuchi, M., 1971: Comparison of carbon dioxide fixation and fine structure in varied assimilatory tissues of *Amarantus retroflexus* L. — Plant Cell Physiol. 12:917—930.
- [87] Volk, R. J., Jackson, W. A., 1972: Photorespiratory phenomena in maize oxygen uptake, isotope discrimination, and carbon dioxide efflux. — Plant Physiol. 49:218—223.
- [88] Walker, G. H., Izawa, S., 1979: Photosynthetic Electron Transport in Isolated Maize Bundle Sheath Cells. — Plant Physiol. 63:133—138.
- [89] Waygood, E. R., Law, G., 1976: ¹⁴CO₂ fixation in leaves and chloroplasts of maize. — Plant Physiol. 57 (suppl.) S-33.
- [90] Wellburn, E. A. M., Wellburn, A. R., Stoddart, J. L., Treharne, K. J., 1973: Influence of gibberelic and abscisic acids and the growth retardant CCC, upon plastid development. — Planta 111:337—346.

- [91] Williams, L. E., Kennedy, R. A., 1977: Relationship Between Early Photosynthetic Products, Photorespiration, and Stage of Leaf Development in *Zea mays*. — *Z. Pflanzenphysiol.* 81:314—322.
- [92] Williams, L. E., Kennedy, R. A., 1978: Photosynthetic Carbon Metabolism during Leaf Ontogeny in *Zea mays* L. *Enzyme Studies. Planta* 142:269—274.
- [93] Woo, K. C., Anderson J. M., Boardman, N. K., Downton, W. J. S., Osmond, C. B., Thorne, S. W., 1970: Deficient photosystem II in agranal bundle sheath chloroplasts of C₄ plants. — *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 67:18—25.

Mgr ANDRZEJ WOJCIECHOWSKI

Zakład Fizjologii Roślin UJ,
ul. Grodzka 53, 31-001 Kraków