

DE FOTOSYNTHETISCHE CAPACITEIT

m. tollenaar

REPORT no 4, 1971

dept. of Theoretical Production Ecology
Agricultural University
WAGENINGEN - THE NETHERLANDS

DE FOTOSYNTHETISCHE CAPACITEIT*

1. Inleiding

Sinds het mogelijk is m.b.v. een infrarood gasanalysator de netto fotosynthese (NF) betrekkelijk gemakkelijk te meten, heeft het onderzoek naar de verschillen in NF tussen families, geslachten, soorten en rassen een grote vlucht genomen.

Rassen binnen een soort kunnen aanzienlijke verschillen in NF vertonen, zoals bij mais (15), suikerriet (20), soyabonen (6), Phaseolus (21) en tarwe (Dantuma, G., persoonlijke mededeling) is aangetoond. Bij enkele primitieve tarwerassen is een NF gerapporteerd (12) die twee maal zo hoog is als die van huidige tarwerassen. Verschillen in NF worden o.a. veroorzaakt door verschil in diffusieweerstand voor CO_2 door de huidmondjes en het mesophyl en door de carboxylatieweerstand. Deze worden op hun beurt weer beïnvloed door onder andere het verschil in verdeling van de huidmondjes over het blad, de verhouding tussen bladoppervlakte en -volume, de compactheid van het mesophyl en de hoeveelheid chlorophyl in de cellen (11).

Grote verschillen in NF zijn gevonden tussen een groep planten waarbij de fotosynthetische CO_2 -binding in de Calvin cyclus plaatsvindt en een groep planten waarbij de CO_2 -binding in de C4-dicarbonzuur weg gebeurt: de eerstgenoemde groep heeft een aanzienlijk hogere maximale CO_2 -assimilatie-licht kromme dan de tweede onder vergelijkbare omstandigheden. Zo hebben mais en sorghum (uit de C4-dicarbonzuurgroep) een maximum NF van 50 tot 60 $\text{mg CO}_2 \text{ dm}^{-2} \text{ hr}^{-1}$, terwijl granen (Calvin cyclus groep) een maximum NF van 20 tot 30 $\text{mg CO}_2 \text{ dm}^{-2} \text{ hr}^{-1}$ hebben (31). Tot de groep met de C4-dicarbonzuur weg behoren verder o.a. suikerriet, enkele tropische grassen en enkele dicotylen-families, terwijl grassen uit de gematigde luchtstreek en bijna al onze cultuurgewassen tot de Calvin cyclus groep behoren.

* In de literatuur wordt gesproken over fotosynthetische efficiëntie, wanneer men de verschillen in netto fotosynthese tussen planten met de C4-dicarbonzuur weg en planten met de Calvin cyclus bespreekt. Daarentegen is in dit verslag de term fotosynthetische capaciteit hiervoor gekozen, omdat het begrip fotosynthetische efficiëntie reeds wordt gebruikt voor de begin-helling van de lijn, die wordt gevormd door netto fotosynthese uit te zetten tegen de hoeveelheid geabsorbeerde stralingsenergie.

De belangrijkste verschillen tussen beide groepen zijn hieronder aan-
gegeven.

	planten met grote foto- synthetische capaciteit	planten met kleine foto- synthetische capaciteit
Netto fotosynthese	hoog bij veel licht	laag bij veel licht
Bundel-schede-cellen	aanwezig	niet aanwezig
Het substraat van de carboxylatie-reactie	PEP	ribulose difosfaat
Translocatie van de assimilatie-produkten	snel	langzamer
CO ₂ compensatiepunt	laag	hoog
Fotorespiratie	niet aanwezig	aanwezig
Remmende invloed van de zuurstof op de NF	niet aanwezig	aanwezig
Temperatuur optimum	25 - 35°C	15 - 25°C

De oorzaak van de verschillen tussen planten met de C₄-dicarbonzuur weg
en planten met de Calvin cyclus is nog niet gevonden, hoewel vele verschil-
len tussen de beide groepen planten bekend zijn.

Van de hierboven genoemde eigenschappen is het verschil in CO₂-compensa-
tiepunt (de concentratie van de CO₂ in de lucht, waarbij de hoeveelheid
door de plant gebonden CO₂ gelijk is aan de hoeveelheid CO₂ die door de
plant wordt afgegeven) het gemakkelijkst te meten. Menz e.a. (31) hebben
een zeer eenvoudige proef ontwikkeld om van planten te bepalen tot welk
van beide groepen ze behoren d.m.v. het CO₂-compensatiepunt.

Meestal behoort een plantenfamilie in zijn geheel tot één van de beide
groepen. Enkele uitzonderingen hierop zijn bekend; in één van deze ge-
vallen komt zelfs verschil binnen een geslacht voor. Het zou interessant
zijn voor de plantenveredeling wanneer er rassen of soorten gevonden wor-
den met een grote fotosynthetische capaciteit, die zó verwant zijn met
een cultuurgewas met een kleine fotosynthetische capaciteit, dat ze
ermee gekruist kunnen worden.

2. Verschillen tussen "C4-planten" en "C6-planten"

2.1. Taxonomie

De C4-dicarbonzuur weg van CO₂-binding werd door Hatch en Slack (13) voor het eerst bij suikerriet gevonden. Weldra bleek dat deze wijze van CO₂-binding ook voorkomt bij maïs, sorghum en enkele tropische grassen en dat ook deze soorten een hoge maximale NF en een laag CO₂-compensatiepunt hadden.

Aangezien het CO₂-compensatiepunt eenvoudig gemeten kan worden, startten velen een onderzoek naar planten met een laag CO₂ compensatiepunt in de hoop langs deze weg nog andere C4-planten te vinden. Moss e.a. (28, 34) vonden geen noemenswaardig onderling verschil in CO₂-compensatiepunt tussen 325 Gramineae soorten, tussen honderd genetische lijnen van *Triticum aestivum* L. en tussen twintig lijnen van *Hordeum vulgare* L. Zou het resultaat positief zijn uitgevallen, dan hadden deze rassen een interessante bijdrage in een veredelingsprogramma kunnen leveren, daar de cultuurgranen ook alle aan kleine fotosynthetische capaciteit bezitten (28, 34). Tot nu toe verzamelde gegevens wijzen erop dat verschillen in CO₂-compensatiepunt alleen tussen, en niet binnen families van Gramineae voorkomen.

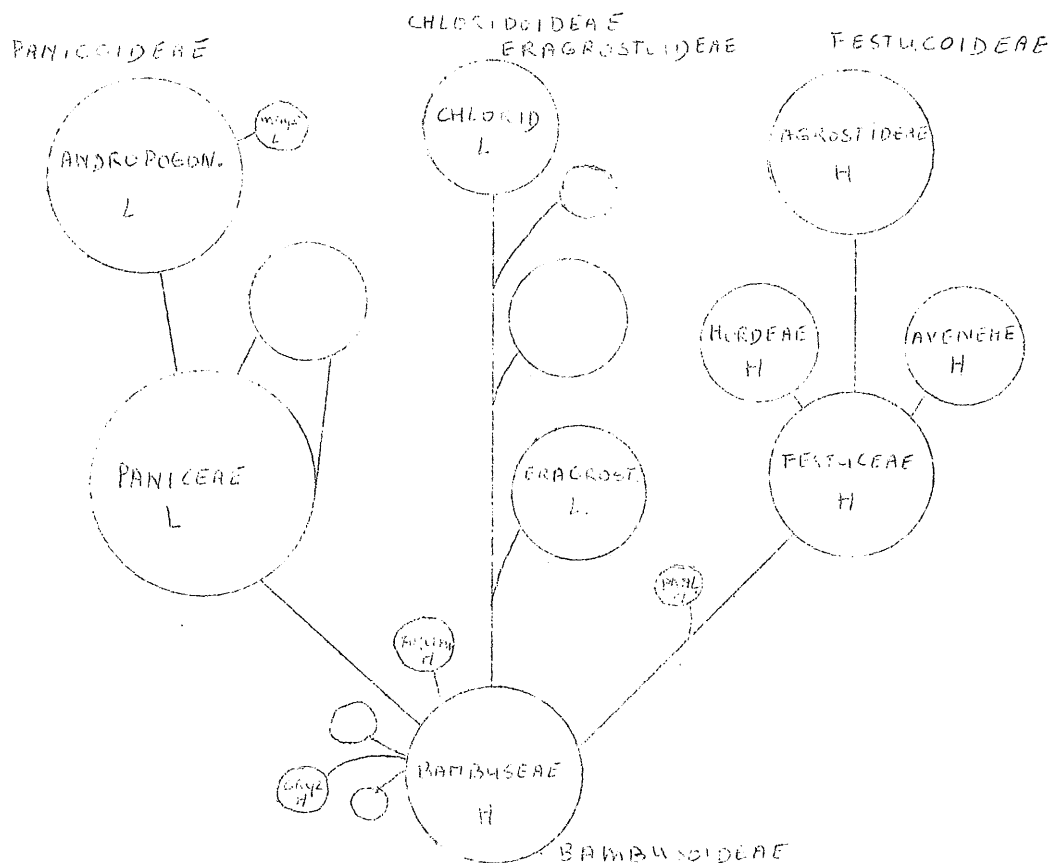


Fig. 1. De CO₂-compensatiepunten van leden van de Gramineae welke zijn gegroepeerd in een phylogenetisch schema, gebaseerd op nieuwere criteria. Een CO₂-compensatiepunt van ca. 50 ppm is weergegeven met H; een CO₂-compensatiepunt van minder dan 5 ppm met een L. Naar Prat (38) en Downton & Tregunna (8).

Bij beschouwing van het phylogenetisch schema van Prat (38) in figuur 1 blijkt zelfs alleen verschil in CO_2 -compensatiepunt voor te komen tussen groepen van verwachte families. De taxonomie gebaseerd op laag (kleiner dan 5 ppm CO_2) tegenover hoog (groter dan 40 ppm CO_2) CO_2 -compensatiepunt bevestigt hier in feite de juistheid van de indeling die gemaakt is door de plantensystematici (die zich hoofdzakelijk baseren op bloemkarakteristieken).

Verder zijn soorten met een laag CO_2 -compensatiepunt aangetroffen bij dicotylen en wel bij Cyperaceae, Amaranthaceae, Chenopodiaceae, Portulacaceae (45) en Euphorbiaceae (34), terwijl de voor planten met een laag CO_2 -compensatiepunt zo typerende vaatbundel-schede-cellen ook waargenomen zijn bij Zygophyllaceae en Compositeae (9).

De tot nu toe gevonden uitzonderingen op de regel dat alleen verschil in CO_2 -compensatiepunt tussen en niet binnen families optreedt worden aangetroffen bij het geslacht *Panicum*, waar het tropische sub-geslacht *Eupanicum* een laag CO_2 -compensatiepunt heeft en het sub-geslacht uit de gematigde luchtstreek *Dichanthelium* een hoog (28, 34) en bij de geslachten *Cyperus* en *Euphorbia*, waar eveneens verschillen tussen sub-geslachten werden gevonden (34). Tot nu toe is alleen van het geslacht *Atriplex* (Chenopodiaceae) bekend dat hierbinnen zowel soorten met een hoog als soorten met een laag CO_2 -compensatiepunt voorkomen (45).

2.2. Bladanatomie

Planten met de C_4 -dicarbonzuur weg van CO_2 -binding onderscheiden zich in de regel van planten met de Calvin-cyclus door een typerende bladanatomie en het bezit van twee typen chloroplasten. De bladanatomie van C_4 -planten met de C_4 -dicarbonzuur weg wordt gekarakteriseerd door de concentrische rangschikking om de vaatbundels van de vaatbundel-schede-cellen (BSC = Bundle Sheath Cells) en de daar omheen liggende mesophyl-cellen. Downton e.a. (8, 9) vergeleken de bladanatomie en de structuur van de chloroplasten van twee soorten uit het geslacht *Atriplex* welke verschilden in wijze van CO_2 -binden. In bladeren van *Atriplex rosea* (met C_4 -dicarbonzuur weg) zijn de vaatbundels door een laag parenchymatische vaatbundel-schede-cellen omgeven. Deze BSC zijn rijk aan cytoplasma en aan chloroplasten (foto 1). De vele mitochondrieën, die in rijen tussen de chloroplasten liggen, zijn ca. 2 x zo lang als die in het mesophyl. De grote lengte en het grote aantal

van de mitochondrieën wijst op grote metabolische activiteit. In tegenstelling tot de chloroplasten in de BSC bevatten die in het mesophyl geen zetmeel. De chloroplasten in het mesophyl van het volwassen blad zijn de helft tot twee-derde van de grootte van de BSC-chloroplasten. *Atriplex hastata* (met de Calvin cyclus) heeft geen BSC en de chloroplastenstructuur van de cellen die aan de vaatbundels grenzen en die er verder vandaan liggen is gelijk. Vergelijkt men de structuur van de BSC van *A. rosea* met de structuur van de BSC van tropische grassen, dan blijkt bij beide de BSC groot en rijk aan zetmeel te zijn, terwijl de speciale chloroplasten bevatten welke verschillen van die in mesophyl-cellen (foto 2).

Daarentegen bevatten de chloroplasten in de BSC van maïs, sorghum en suikerriet weinig of geen grana, terwijl de chloroplasten in de BSC van *Atriplex rosea* goed ontwikkeld grana bezitten (8, 9).

Laetsch & Price (30) volgden de ontwikkeling van de proplastiden tot chloroplasten in de BSC en de daaraan grenzende mesophyl-cellen bij suikerriet. Hun conclusie is dat de differentiatie in structuur van de chloroplasten van suikerriet en andere tropische grassen waarschijnlijk gecorreleerd is met functionele verschillen. Het ontbreken van grana en de ophoping van zetmeel in de chloroplasten van de BSC en de overvloedige aanwezigheid van grana en het vrijwel ontbreken van zetmeel in de mesophyl-cellen duiden op een specialisatie. Er is geen verschil te zien tussen de proplastiden in de BSC en de proplastiden in de mesophyl-cellen (zie foto 1) zodat het ontbreken van grana in de BSC eerder een reductie dan een uniek type van chloroplastenontwikkeling lijkt te zijn (30).

Opgemerkt dient te worden dat de bladanatomie niet altijd de hierboven beschreven karakteristieken vertoont. *Aristida* (met C4-dicarbonzuur weg) heeft twee lagen bundel-schede-cellen. De binnenste laag heeft weinig vakuolen en de chloroplasten hierin zijn lang en bevatten afzonderlijke parallelle thylakoïden, weinig niet goed ontwikkeld grana en veel zetmeelkorrels. De buitenste laag heeft veel vakuolen, terwijl de chloroplasten hier veel kleiner zijn en veel grana en zetmeelkorrels bevatten (8). In het sub-geslacht *Dichanthelium* van het geslacht *Panicum*, dat alleen soorten met een hoog CO₂-compensatiepunt bevat, komen soorten voor (*P. commutatum*, *P. lindheimeri* en *P. pacificum*) met BSC, die echter geen chloroplasten bevatten (24).

Foto 1. In dit stadium zijn de chloroplasten van de BSC en de mesophyl-cellen nog vrijwel gelijk in grootte en structuur. Wel is het verschil tussen de BSC en de mesophyl-cellen duidelijk te zien m.b.t. hoeveelheid vakuolen. ME = mesophyl-cel; VB = vaatbundel; BS = vaatbundel-schede-cel.

Foto 2. Opvallend is het verschil in grootte tussen een chloroplast uit een BSC en een mesophyl-cel: de BSC-chloroplast heeft parallelle thylakoïden en grote zetmeelkorrels (5). De mesophyl-chloroplast bezit grana en heeft geen zetmeelkorrels. In de tussenwand van de mesophyl-cel met de BSC zijn vele plasmodesmata zichtbaar.

2.3. De C₄-dicarbonzuur weg van CO₂-binding

In 1966 vonden Hatch en Slack (13) dat suikerriet fotosynthetische CO₂ bindt en reduceert op een wijze welke op zijn minst in de eerste stappen verschilt met de Calvin cyclus (5). Deze nieuwe wijze van CO₂-binding wordt aangeduid met β -carboxylatie-fotosynthese (daar de β -carboxylatie van fosfeonol-pyrodruivenzuur erin voorkomt) of fotosynthese volgens de C₄-dicarbonzuur weg (daar oxaalzuur, appelzuur en asparaginezuur de eerste produkten zijn bij de CO₂-binding). Zeer schematisch is in figuur 2 uitgebeeld hoe de CO₂-binding en reductie volgens de Calvin cyclus verloopt en zoals die volgens de C₄-dicarbonzuur weg verondersteld wordt plaats te vinden.

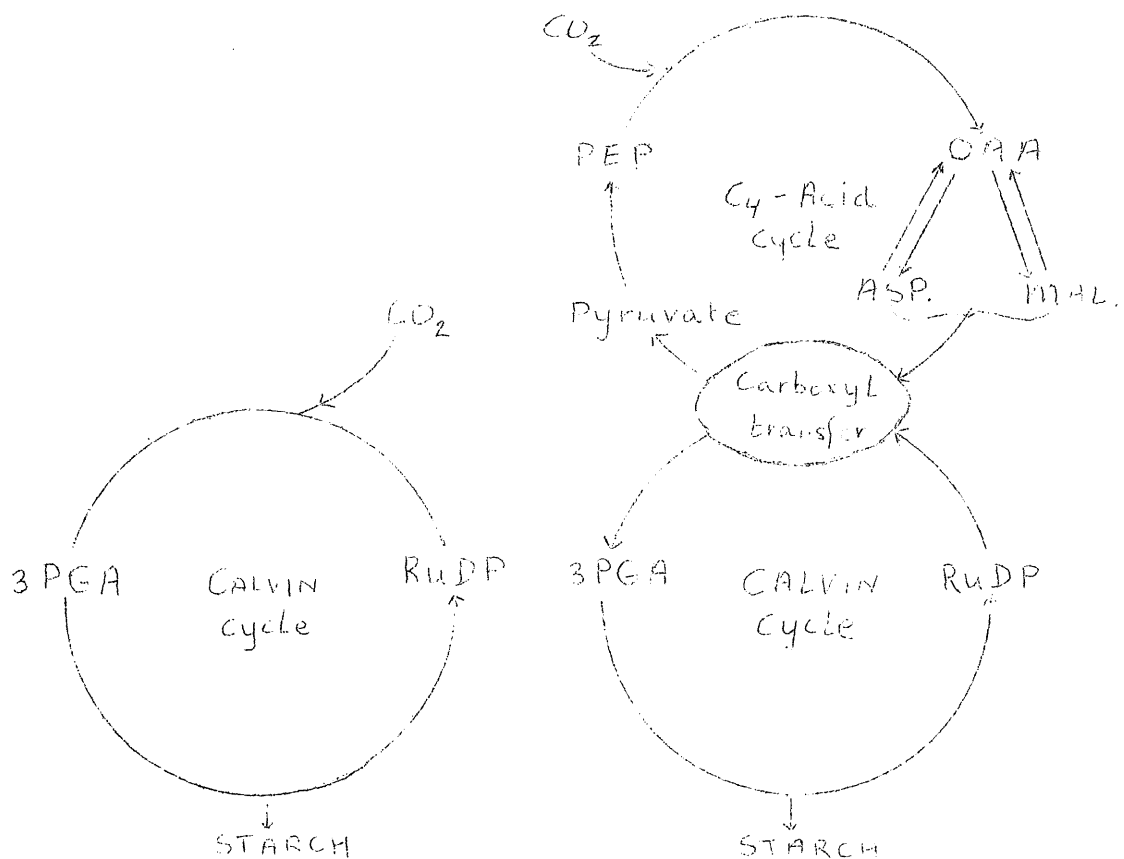


Fig. 2. De CO₂-binding volgens de Calvin cyclus (links) en de de C₄-dicarbonzuur weg (rechts). OAA = oxaalazijnzuur, Asp = asparaginezuur, Mal = appelzuur, Pyruvate = pyrodruivenzuur, 3-PGA = 3 fosfoglycerinezuur, RuDP = ribulose difosfaat (2^b, 3, 5, 7, 13).

Fosfoenol-pyrodruivenzuur (PEP = Phospho-Enol-Pyruvate) dient in de C4-dicarbonzuur weg als substraat voor de carboxylatiereactie. De PEP-carboxylatie-enzymen komen veel voor in de planten met de C4-dicarbonzuur weg van fotosynthese, terwijl ze zo goed als ontbreken in planten met een fotosynthese volgens de Calvin cyclus (1, 2, 3, 13, 23, 40). Bij de CO₂-binding volgens de Calvin cyclus dient ribulose-difosfaat als substraat in de carboxylatiereactie. De ribulose-difosfaat-carboxylase-enzymen komen veel voor in planten met de Calvin cyclus. Planten met de C4-dicarbonzuur weg bleken ook ribulose-difosfaat-carboxylase-enzymen te bezitten (1, 2, 3, 13, 23, 27, 46, tabel 1).

Tabel 1. Vergelijking van de fotosynthese in vivo met de activiteit van enkele fotosynthetische enzymen in een bladextract (in $\mu\text{gmol min}^{-1} \text{g}^{-1}$ vers gewicht) v.g.l.s. Berry e.a. (3).

	<u>tarwe</u> [*]	<u>maïs</u>
Fotosynthese in vivo	3,2	3,5
Ribulose difosfaat carboxylase	4,6	2,2
PEP carboxylase	0,12	10,3

* in 2 % zuurstof

Björkman e.a. (2) vermelden dat het meeste PEP carboxylase van *Atriplex rosea* (met C4-dicarbonzuur weg) zich in het mesophyl-weefsel bevindt. Ook Berry e.a. (3) toonden een grote PEP carboxylase-activiteit in het mesophyl-weefsel van *Gomphrena globosa* en maïs (beide C4-dicarbonzuur weg) aan. Dit mesophyl-weefsel is ook de plaats waar het gebonden koolstofatoom het eerst werd gelokaliseerd. Dit maakt het wel zeer waarschijnlijk dat de mesophyl-cellen, die concentrisch om de BSC gerangschikt liggen, de plaats van CO₂-fixatie zijn, terwijl vermoed wordt dat de verdere verwerking van het eerste fotosynthese-produkt voornamelijk in de BSC plaatsvindt (3, foto 3). De BSC-chloroplasten bevatten alle enzymen, die aan de Calvin cyclus verbonden zijn. Zowel Slack e.a. (40) als Björkman e.a. (2) trokken daar de conclusie uit, dat in ieder geval de BSC-chloroplasten in staat zouden zijn volgens de Calvin cyclus CO₂ te binden. Kortchack &

Nickel (27) toonden dit ook inderdaad aan bij geïsoleerde bundelschede-cellen van suikerriet.

Slack e.a. (40) stelden een schema op voor de binding van het vrij CO_2 en het verdere vervoer van het koolstofatoom in het blad van planten met de C_4 -dicarbonzuur weg. Het CO_2 wordt in de mesophyl-chloroplasten gebonden aan PEP. Het appelzuur dat hierbij naast oxaalazijnzuur en asparaginezuur wordt gevormd staat het koolstofatoom vervolgens aan ribulose difosfaat af in een transcarboxylatiereactie. Deze reactie wordt ook door Berry e.a. (3) verondersteld plaats te vinden. Het vervolgens gevormde glycerinezuur wordt tenminste voor een gedeelte in de mesophyl-chloroplasten tot triosefosfaten gereduceerd, alvorens naar de BSC te worden vervoerd, om daar verder verwerkt te worden op een wijze zoals dat ook bij de Calvin cyclus het geval is (40).

Downton (7) verdeelde de planten met de C_4 -dicarbonzuur weg in twee groepen. De ene groep heeft appelzuur als het meest gevormde eerste produkt bij de CO_2 -binding. De andere groep heeft asparaginezuur en oxaalazijnzuur als meest gevormde eerste produkten bij de CO_2 -binding. Het appelzuur staat i.t.t. oxaalazijnzuur en asparaginezuur in de BSC naast het koolstofatoom ook NADH_2 af en voorziet de BSC hierdoor van het reductievermogen dat nodig is voor de Calvin cyclus. Dit zou ook kunnen verklaren waarom de planten die tot de "appelzuur-groep" behoren, geen grana in hun BSC-chloroplasten bevatten. Het reductievermogen moet bij de groep van planten die oxaalazijnzuur en asparaginezuur als meest gevormde eerste produkten bij de CO_2 -binding hebben, door middel van de lichtreactie in het grana van de BSC-chloroplasten verkregen worden (7). De verschillen tussen *Atriplex rosea* en mais, zoals die hierboven bij de anatomie beschreven zijn, zouden hiermee verklaard kunnen worden.

2.4. De translocatie van het gebonden koolstofatoom

Wanneer de C_4 -cyclus alle of een belangrijk deel van de CO_2 naar ribulose difosfaat transporteert (foto 3) is het noodzakelijk dat een snelle translocatie van het gebonden koolzuurmolecuul van de mesophyl-chloroplasten naar de BSC en van het substraat voor de carboxylatie (pyruvate) van de BSC naar de mesophyl-chloroplasten. Hofstra & Nelson namen een bijzonder snel vervoer van gebonden C^{14} bij mais waar. Binnen 30 minuten was 50 % van de gebonden C^{14} van

Foto 3. De verdeling van de reacties over bundelschede-(rechts) en mesophyl-(links)-chloroplasten. Doorgetrokken lijnen geven chemische omzettingen weer en stippellijnen het transport. Afkortingen:
OAA = oxaalazijnzuur, Mal = appelzuur, Asp = asparaginezuur,
Pyruvate = pyrodruivenzuur, 3-PGA = 3 fosfo-glycerinezuur.
Triose-P = triosefosfaat.
J.A. Berry (1971), Carnegie Institution Year Book '69: Plate 9.

de plaats van fixatie naar elders vervoerd; bij soyabonen en tabak was dit pas na 4 uur (19).

Berry e.a. (3) dienden 6 seconden $^{14}\text{CO}_2$ toe aan bladeren van *Gomphrena globosa* (met C4-dicarbonzuur weg) en vrozen direct hierna deze bladeren in. De C^{14} bevond zich in de BSC en het concentrisch hierom gerangschikte mesophyl-weefsel. Wachtte men 30 seconden met invriezen, dan bevond het meeste C^{14} zich in de BSC (3).

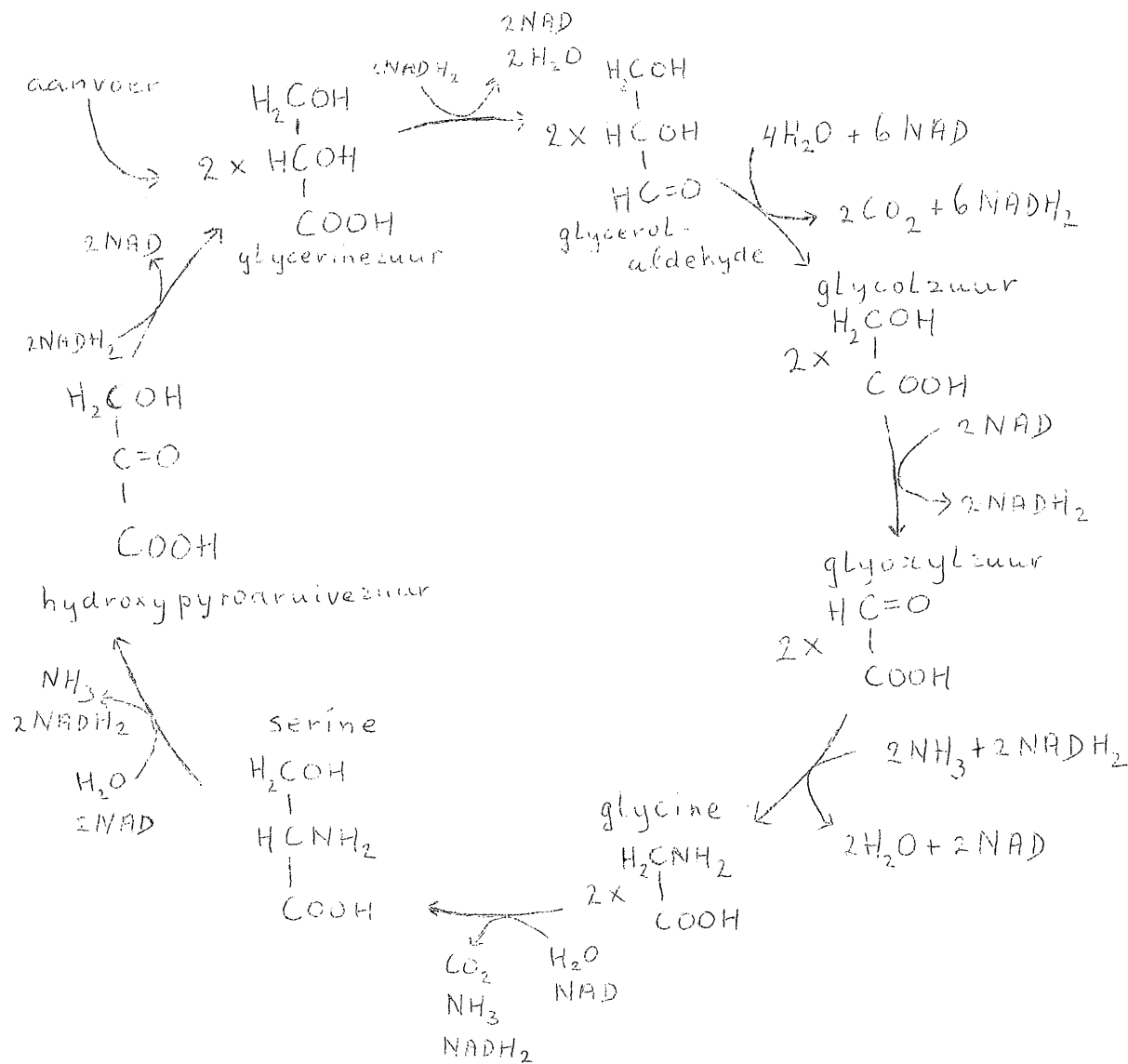
Moss & Rasmussen (35) brachten mais- en bietenbladeren 2 minuten in een verlichte ruimte met $^{14}\text{CO}_2$. Vervolgens werden 90 seconden hierna de bladeren ingevroren. Het bleek dat bij de bieten-bladeren het C^{14} zich in een gelijkmatige verdeling over het gehele blad bevond. Bij de mais-bladeren was alle C^{14} geconcentreerd in de BSC.

Tot de transportsnelheid van het gebonden koolstofatoom kunnen bijdragen: a) de korte afstand tussen de cellen waar CO_2 wordt gefixeerd (mesophyl) en waar verwerking plaatsvindt (BSC), b) de concentrische rangschikking van mesophyl-cellen rondom BSC (30) en c) de vele verbindende plasmodesmata (30, foto 1). Chloroplasten in het mesophyl van mais (22), *Amaranthus* en *Atriplex* (29), hebben een inwendig membraam, dat verbonden is met het uitwendige chlorophyl-membraam. Een snel vervoer vanaf de organen binnen de chloroplast naar het cytoplasma lijkt hierdoor mogelijk. Dit is niet gevonden bij planten met de Calvin cyclus (22, 29).

2.5. Fotorespiratie

Planten met de Calvin cyclus vertonen een respiratie in het licht (fotorespiratie), terwijl planten met de C4-dicarbonzuur weg deze fotorespiratie niet vertonen (18, 22, 33).

Moss (33) mat de respiratie in een CO_2 -vrije ruimte bij planten met de Calvin cyclus in het donker en in het licht. Bij de overgang van donker naar licht neemt de respiratie (of nauwkeuriger gezegd: De CO_2 -afgifte) aanvankelijk af tot soms 20 % van de donkerrespiratie. Na ongeveer 5 minuten in het licht begint de respiratie echter weer te stijgen, om tenslotte op een respiratie uit te komen die ca. 75 % hoger ligt dan de donkerrespiratie. Bij mais daalt de respiratie bij de overgang van donker naar licht naar nul en blijft verder op dat niveau (33). De fotorespiratie verschilt van de donkerrespiratie



Figuur 3. Een cyclus geconstrueerd met gegevens van Kasaki & Tolbert (26). De balans is: $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_4 + 2\text{H}_2\text{O} + 5 \text{NAD} \longrightarrow 3 \text{CO}_2 + 5 \text{NADH}_2$

in de volgende opzichten: (a) De donkerrespiratie wordt niet beïnvloed door het zuurstofgehalte van de lucht. De fotorespiratie daalt bij afnemend zuurstofgehalte om tenslotte bij een gehalte van 2 - 3 % zuurstof in de lucht nul te worden (22). (b) Het temperatuuroptimum van de donkerrespiratie ligt bij 45°C, terwijl dat van de fotorespiratie bij 35°C ligt (18). (c) De donkerrespiratie wordt niet beïnvloed door een glycolzuuroxidase-remmer, terwijl de fotorespiratie hierdoor wordt geremd (46). Het is derhalve waarschijnlijk, dat de donkerrespiratie en de fotorespiratie twee verschillende processen zijn. Hew & Krotkov (17) toonden aan dat bladeren van planten met de Calvin cyclus die in het licht fotosynthetiseren, 2 x zoveel CO₂ afstonden bij 100 % zuurstof dan bij 20 % zuurstof. Bladeren van deze planten die in het licht niet fotosynthetiseren ten gevolge van CO₂-gebrek bleken niet meer CO₂ af te staan bij 100 % zuurstof dan bij 20 % zuurstof. Bij deze laatste bladeren was er ook geen verschil tussen de respiratie in het donker en respiratie in het licht (17). De fotorespiratie blijkt dus verbonden te zijn met de vorming van fotosynthetische produkten.

Het toevoegen van een glycolzuur-oxidase remmer (α - hydrozypyridinemethaansulfonzuur) verlaagde de fotorespiratie van planten met de Calvin cyclus. Dit zou erop wijzen, dat glycolzuur het substraat voor de fotorespiratie is (32, 36, 46). Een gedeelte van de gebonden CO₂ komt waarschijnlijk via glycerolaldehyde van glycerinezuur in glycolzuur terecht (36). Kisiaki & Tolbert (26) namen waar dat glycolzuur tot glyoxylzuur wordt geoxideerd en dat glyoxylzuur vervolgens in glycine wordt omgezet. Bij de omzetting van glycine in serine, die vervolgens geschiedt, komt CO₂ vrij (2 glycine $\longrightarrow$ serine + CO₂ + HN₃). Via hydroxypyrodruivenzuur wordt uit serine vervolgens glycerinezuur gevormd en is de cyclus voltooid (26). Uit deze gegevens kan een cyclus worden geconstrueerd als gegeven in figuur 3. Deze feiten maken het waarschijnlijk dat tenminste een gedeelte van de fotorespiratorische CO₂ (de donkerrespiratie wordt niet door de glycolzuur oxydase-remmer beïnvloed (46)) in de hierboven beschreven cyclus wordt gevormd.

Tolbert e.a. (43) vonden in spinaziebladeren kleine lichaampjes (0,5 - 1,0 μ in diameter) welke door hen peroxisomen werden genoemd en die dicht granulair stroma bevatten, omgeven door een enkele membraan.

In deze peroxisomen bevindt zich bij spinazie 53 % van de glycolzuuroxidase, NADH_2 -glyoxylzuur reductase en katalase enzymen. Ook in andere planten met de Calvin cyclus werden peroxisomen gevonden (44). In maisbladeren komen ze tevens voor; doch slechts in een concentratie van 2 tot 5 % vergeleken met spinazie (44). Er wordt verondersteld (26) dat in de peroxisomen glycolzuur wordt geoxideerd tot glyoxylzuur en dat deze verbinding vervolgens in glycine wordt omgezet.

Vermeld dient te worden, dat Björkman e.a. (2) geen verschil in glycolzuur-oxidase activiteit vonden tussen *Atriplex rosea* (met C_4 -dicarbonzuur weg) en *Atriplex patula* (met Calvin cyclus).

Een schatting van de intensiteit van de fotorespiratie is moeilijk te maken, daar de reassimulatie van respiratoir CO_2 niet te meten is. Deze is o.a. afhankelijk van niet te bepalen weerstanden in de CO_2 flux van mitochondrieën en peroxisomen naar chloroplasten en intercellulaire ruimten (22, figuur 1).

2.6. De remmende invloed van zuurstof op de NF

De fotorespiratie bij planten met de Calvin cyclus wordt sterk beïnvloed door het zuurstofgehalte. Ook het CO_2 -compensatiepunt wordt bij tarwe door het zuurstofgehalte beïnvloed, terwijl het op mais geen invloed heeft (figuur 4).

Jolliffe & Tregunna (25) toonden aan dat tarwe bij een zuurstofgehalte van 3 % op tropische grassen (met C_4 -dicarbonzuur weg) leek wat betreft hoge NF, CO_2 -compensatiepunt en temperatuuroptimum. Ook *A. patula* (met Calvin cyclus) bleek bij een laag zuurstofgehalte geen kleinere NF te hebben dan *A. rosea* (met C_4 -dicarbonzuur weg; figuur 5).

De NF van *A. rosea* wordt niet door het zuurstofgehalte beïnvloed. Poskuta (37) met de NF van maisplanten, welke variëerden in leeftijd van 4 tot 22 dagen, bij een zuurstofgehalte van 20 % en 100 %. De NF was 50 % tot 300 % hoger bij een zuurstofgehalte van 20 %, dan die bij een zuurstofgehalte van 100 %. Het CO_2 -compensatiepunt bleef echter ongeveer gelijk. Het CO_2 -compensatiepunt was bij 4 dagen oude planten bij een zuurstofgehalte van 20 % $15,2 \mu\text{g CO}_2/\text{g}$ lucht en bij een zuurstofgehalte van 100 % $13,5 \mu\text{g CO}_2$ (37).

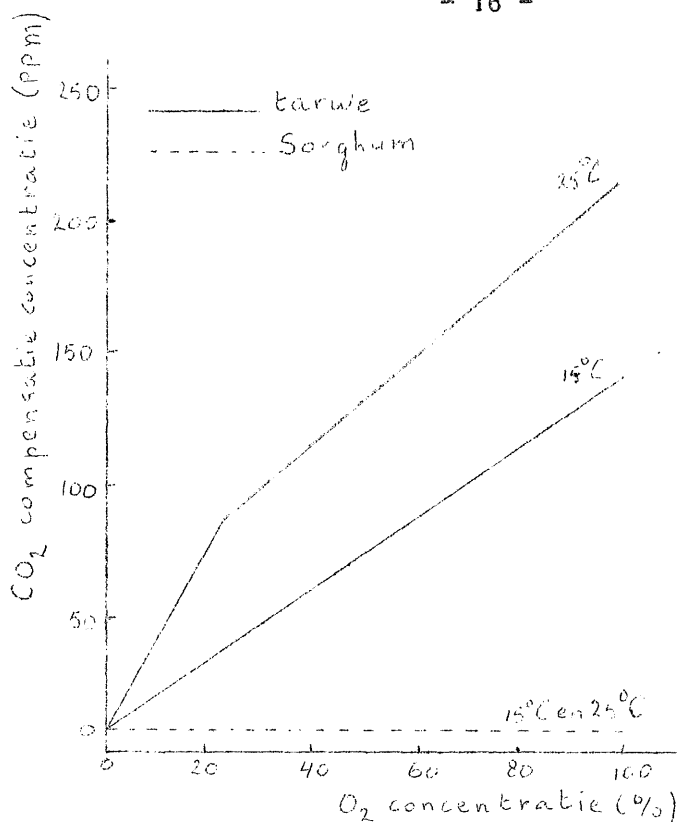


Fig. 4. Effect van O₂-concentratie in de atmosfeer en de temperatuur op tarwe (hoog CO₂-compensatiepunt) en sorghum (laag CO₂-compensatiepunt). Menz, Moss, Cannel & Brun. Crop Science, 9 (1969).

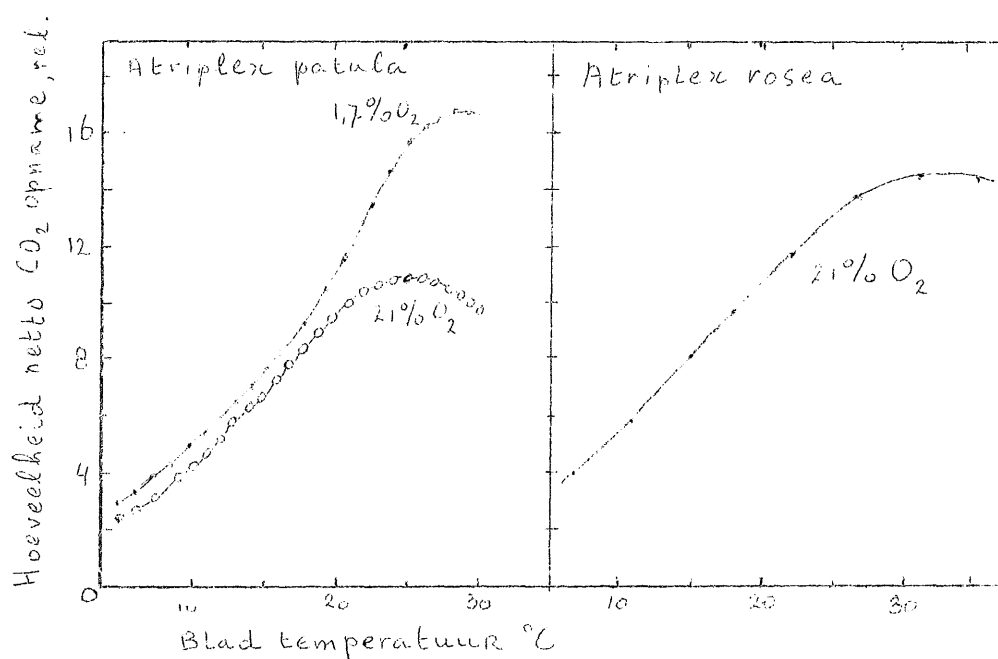


Fig. 5. De temperatuur-afhankelijkheid van de fotosynthetische CO₂-opname in 1,7 % en 21 % O₂ bij een blad van *A. patula* (hoog CO₂-compensatiepunt) en in 21 % O₂ bij een blad van *A. rosea* (laag CO₂-compensatiepunt). Björkman, Gauhl & Nobs. Carnegie Institution Year Book, 68.

De NF wordt geremd bij 100 % zuurstof. De oorzaak hiervan is vermoedelijk niet een hogere respiratie.

Uit bovenstaande feiten meen ik te kunnen concluderen dat het verschil in NF tussen planten met de Calvin cyclus en planten met de C4-dicarbonzuur weg voor een groot gedeelte verklaard kan worden door het wel of niet aanwezig zijn van fotorespiratie.

Proeven met suikerriet en tarwe tonen aan, dat het wel of niet aanwezig zijn van een zuurstofremming niet onder alle omstandigheden samenhangt met het hebben van een Calvin cyclus of C4-dicarbonzuur weg. De NF van 18 maanden oude bladeren van suikerriet nam toe bij een lager O_2 -niveau (4) en beneden de $13^{\circ}C$ was geen effect van zuurstofremming bij tarwe te meten (25).

2.7. Optimum temperatuur en lichtintensiteit

De planten met de C4-dicarbonzuur weg hebben een optimum temperatuur van $25^{\circ}C - 35^{\circ}C$, terwijl planten met de Calvin cyclus een optimum temperatuur van $15^{\circ}C - 25^{\circ}C$ hebben (2,8).

Zoals uit figuur 6 blijkt bereiken planten met de Calvin cyclus lichtverzadiging, in tegenstelling tot planten met de C4-dicarbonzuur weg.

Als *A. rosea* en *A. patula* werden gekweekt onder een lichtintensiteit van $1,1 \times 10^5 \text{ erg cm}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ lag het temperatuur-optimum voor groei van *A. patula* tussen $20 - 25^{\circ}C$ en voor *A. rosea* tussen $25 - 30^{\circ}C$.

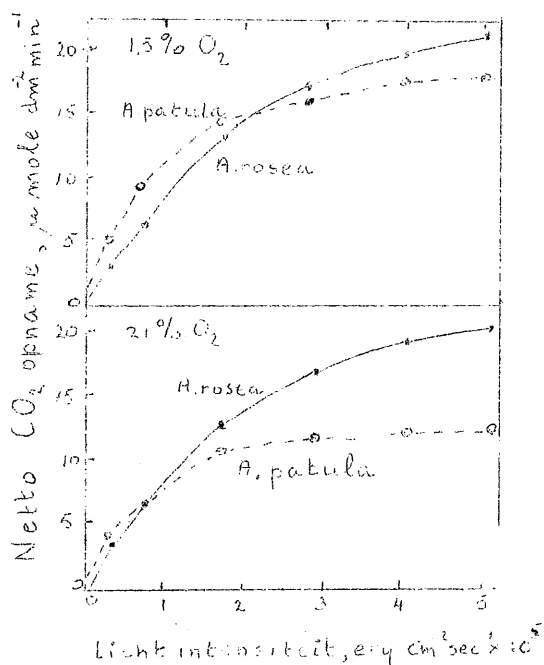


Fig. 6. Effect van lichtintensiteit op de fotosynthetische CO_2 -opname in 1,5 % en 21 % O_2 bij *A. patula* en *A. rosea*. Bladtemperatuur was $25^{\circ}C$ en CO_2 -concentratie 0,030-0,034 %. Björkman, Gauhl & Nobs. Carnegie Institution Year Book, 68: blz. 630.

De groei van *A. rosea* was veel groter bij 30°C dan bij 15°C. Bij 15°C was er geen verschil in groeisnelheid tussen *A. patula* en *A. rosea* (2).

Jolliffe & Tregunna (25) namen bij tarwe geen effect van zuurstofremming waar bij temperaturen lager dan 13°C. Verschillen tussen beide groepen komen pas tot uiting bij hogere temperaturen. Het selectieve voordeel dat planten met de C4-dicarbonzuur hebben in de subtropen en tropen is vermoedelijk de reden waarom ze tot nu toe uitsluitend daar zijn aangetroffen.

2.8. Een vergelijking van de groeisnelheid van een plant met de C4-dicarbonzuur weg en een plant met de Calvin cyclus, beide behorende tot het geslacht *Atriplex*

Tot nu toe zijn steeds vergelijkingen in NF gemaakt tussen planten met de C4-dicarbonzuur weg en planten met de Calvin cyclus. Een vergelijking in groeisnelheid tussen deze planten was weinig zinvol, daar ze tevens in zoveel andere eigenschappen verschilden. Nu er echter binnen het geslacht *Atriplex* zowel soorten behorende tot de ene groep als soorten behorende tot de andere groep gevonden zijn, is een reële vergelijking mogelijk. Slayter (41) vergeleek *A. spongiosa* (met C4-dicarbonzuur weg) met *A. hastata* (met Calvin cyclus). De proef werd ingezet met drie weken oude planten. In de daarop volgende periode van 23 dagen werd de NF en de groei (toeneming droog gewicht) gemeten bij veel licht. Zowel de NF als de groeisnelheid van *A. spongiosa* is aanvankelijk 2 x zo hoog als die van *A. hastata*. In de loop van de 23 dagen neemt de NF van *A. spongiosa* af, om aan het eind van de 23 dagen op ongeveer gelijk niveau met *A. hastata* te komen. De groei van *A. spongiosa* loopt eveneens terug en is na 23 dagen nog maar 0,8 van de groei van *A. hastata*. Dit experiment toont aan, dat (a) een aanvankelijke hoge NF bij planten met de C4-dicarbonzuur weg zich in een ouder stadium niet hoeft te continueren en (b) dat planten met een hogere NF niet zonder meer een snellere groei behoeven te hebben.

2.9. Een vergelijkend onderzoek van de F1 en F2-hybriden van *A. rosea* en *A. patula* met hun ouders

Björkman e.a. (1) hadden in 1969 de F1 verkregen van *A. rosea* (C4-plant) x *A. patula* (C6-plant). In 1970 werden van deze F1 20 F2-planten verkregen (2b), waarop alle verdere gegevens zijn gebaseerd. Daar de meiose in de pollenmoederzellen en waarschijnlijk ook in de embryo-moeder-zak-cellen zeer onregelmatig verliep, was de zaadzetting op de F1 bijzonder gering. Bovendien varieerde daardoor het chromosomen-aantal van de F2-planten van iets boven het diploïde-niveau ($2n = 18$) tot meer dan pentaploïd. De meeste F2-planten hadden ca. 36 chromosomen.

De bladanatomie. De bladanatomie van de F1 lag tussen de beide ouders in. In de F2 vond een uitsplitsing plaats en een heel skala van *A. rosea* tot *A. patula*-typen werd verkregen.

Biochemische karakteristieken. PEP-carboxylase-activiteit is in *A. rosea* ca. 20 x zo groot als in *A. patula*. De F1 had een carboxylase-activiteit die ca. 5 x zo groot was als *A. patula*. In de F2 vond weer een uitsplitsing plaats. De PEP-carboxylase-activiteit van de F2-planten beweegt zich van iets lager dan *A. patula* tot ca. 10 x zo groot als *A. patula*. De carboxydismutase-activiteit is in *A. rosea* lager dan in *A. patula*. In de F1- en F2-planten werd een carboxydismutase-activiteit gevonden, die niet significant verschilde van *A. patula*. Zoals reeds eerder vermeld is, worden als eerste produkten bij fotosynthese van C4-planten voornamelijk C4-dicarbonzuren gevonden, terwijl bij C6-planten 3-fosfoglycerolzuur en intermediären uit reductieve pentosefosfaat-cyclus gevonden worden als eerste produkten. Ook hier is de F1 intermediair: voor 50 % worden C4-dicarbonzuren en voor 50 % 3-fosfoglycerolzuur en suikerfosfaten als eerste produkten gevonden. In de F2 werd een aanzienlijke variatie gevonden. Het gedeelte van C^{14} dat in de C4-dicarbonzuren werd gevonden varieerde van significant meer dan in *A. patula* tot iets minder dan in de F1. Eigenaardig was, dat er in de F2-planten geen correlatie gevonden werd tussen de PEP-carboxylase-activiteit en de hoeveelheid gevormde C4-dicarbonzuren. Uit proeven met C^{14} bleek verder, dat C4-dicarbonzuren zich in F2-planten ophoopten. De transcarboxylatiereactie van C4-dicarbonzuren na ribulase-difosfaat leek niet plaats te vinden.

Het CO₂-compensatiepunt. Het CO₂-compensatiepunt van de F1 was vrijwel gelijk aan dat van A. patula. In de F2 vond wederom een uitsplitsing plaats, n.l. van 46 tot 19 ppm CO₂.

De fotosynthese-functie. De NF van de F1 en F2 zijn ondanks boven beschreven onderlinge verschillen voor alle planten ongeveer gelijk. De NF is duidelijk veel lager dan van A. patula of A. rosea zoals uit tabel 2 blijkt.

Tabel 2*. CO₂-opname bij lichtverzadiging, 27°C en 300 ppm CO₂ bij de F2 van een kruising tussen A. rosea en A. patula in vergelijking met de ouders en de F1.

Plant	Netto CO ₂ -opname µg mol min ⁻¹ dm ⁻²		CO ₂ -opname in 21 % O ₂
	21 % O ₂	1,3 % O ₂	CO ₂ -opname in 1,3 % O ₂
A. rosea	21.8 ± 1.0	21.8 ± 1.0	1.00 ± 0.00
A. patula	11.8 ± 0.6	18.5 ± 1.1	0.63 ± 0.01
F1 hybrid	6.5 ± 0.7	11.3 ± 1.3	0.57 ± 0.04
F2 hybrids: 7735-1	6.2	10.2	0.61
7735-2	6.9	10.7	0.64
7735-3	6.5	9.7	0.64
7735-4	7.6	11.1	0.68
7736-1	7.9	11.9	0.66
7740-1	7.2	11.7	0.61
7740-3	5.7	8.6	0.66
7740-4	5.6	9.6	0.58
7740-5	7.1	10.9	0.65
7744-4	7.0	10.5	0.67

* Carnegie Institution Yearbook 69, blz. 640, table 8.

Alleen bij lage lichtintensiteit en laag O₂ gehalte (het O₂ remmend effect is bij de F1-planten evenals bij A. patula aanwezig) of bij lage temperatuur en laag O₂ gehalte is de NF ongeveer gelijk aan de NF van de beide ouders.

Het bleek dat alle bovenvermelde eigenschappen onafhankelijk van elkaar in de F2-planten uitsplitsten (een F2-plant met A. rosea blad-anatomie, had niet noodzakelijk ook een laag CO₂-compensatiepunt, etc.).

Geconcludeerd kan worden dat elk kenmerk slechts op een gering aantal genen berust, daar er ondanks het polyploïde niveau van de F2 en het kleine aantal F2-planten een aanzienlijke uitsplitsing plaatsvond. Het lijkt echter noodzakelijk te zijn dat een plant vele of alle kenmerken van een C4-plant moet bezitten om een hoge fotosynthetische capaciteit te bewerkstelligen. Een en enkele eigenschappen van een C4-plant bleken geen effect te hebben op de fotosynthetische capaciteit.

3. Toepassingsmogelijkheden

3.1. Selectie op hoge fotosynthetische capaciteit en het kruisen van planten met een hoge fotosynthetische capaciteit met planten met een lage fotosynthetische capaciteit

Indien er rassen of soorten gevonden worden met een hoge fotosynthetische capaciteit, die zó verwant zijn met een cultuurgewas met een lage fotosynthetische capaciteit dat ze ermee gekruist kunnen worden, dan zou dit perspectieven voor een veredelingsprogramma bieden.

Menz e.a. (31) hebben een zeer eenvoudige proef ontwikkeld om van planten te bepalen tot welke groep ze behoren d.m.v. het CO₂-compensatiepunt. In een kasje met CO₂-dichte wanden worden bij continue belichting naast planten met een laag CO₂-compensatiepunt de te onderzoeken planten geplaatst. Hebben deze laatste een hoog CO₂-compensatiepunt, dan gaan ze binnen een week dood: zodra de CO₂-concentratie lager dan hun CO₂-compensatiepunt is staan ze meer CO₂ af dan ze opnemen, terwijl de planten met een laag CO₂-compensatiepunt dan nog voortdurend meer CO₂ opnemen dan ze afstaan. Hebben de te onderzoeken planten een laag CO₂-compensatiepunt, dan blijven alle planten in het kasje gedurende deze week in leven (31). Bij het zoeken naar planten met een hoge fotosynthetische capaciteit lijkt het verstandig te zoeken binnen geslachten (a) die verwant zijn met geslachten waarbinnen het geslacht soorten met zowel de Calvin cyclus als soorten met de C4-dicarbonzuur weg voorkomen en/of (b) binnen geslachten die (ook) in warme streken voorkomen. Spinazie (*Spinacia oleracea*) en biet (*Beta vulgaris*) voldoen aan beide eisen: ze zijn beide verwant met het geslacht *Atriplex* en hun genencentrum ligt in Azië en het Midden Oosten (42). Beide hebben een hoog CO₂ compensatiepunt (45).

Mocht het mogelijk zijn hoge fotosynthetische capaciteit in een van onze cultuurgewassen in te kruisen dan is het nog onzeker of deze hoge fotosynthetische capaciteit de produktiviteit ook zal verhogen in de gematigde luchtstreek, omdat de gewasfotosynthese slechts een onderdeel is van gewasproduktiviteit.

3.2. Literatuur

1. Björkman, O. and E. Gauh1 (1969) - Carboxydismutase activity in plants with and without β -carboxylation photosynthesis. *Planta*, 88: 197-203.
2. Björkman, O., E. Gauh1 and M.A. Nobs (1970) - Comparative studies of *Atriplex* species with and without β -carboxylation photosynthesis and their first generation hybrid. *Carnegie Institution Year Book*, 68: 620-633.
- 2b. Björkman, O., J.A. Berry, J.E. Boyton, M.A. Nobs and R.W. Pearcy (1971) - *Carnegie Institution Year Book*, 69: 624-655.
3. Berry, J.A., W.J.S. Downton and E.B. Tregunna (1970) - The photosynthetic carbon metabolism of *Zea mays* and *Gomphrena globosa*: The location of the CO_2 -fixation and the carboxyl transfer reactions. *Canadian Journal of Botany*, 48: 777-786.
4. Bull, T.A. (1969) - Photosynthetic efficiencies and photorespiration in Calvin cyclus and C_4 -dicarboxylic acid plants. *Crop Science*, 9: 726-729.
5. Calvin, M. and J.A. Bassham. The photosynthesis of carbon compounds (W.A. Benjamin, N.Y., 1962).
6. Dornhoff, G.M. and R.M. Shibles (1970) - Varietal differences in net photosynthesis of soybean leaves. *Crop Science*, 10: 42-45.
7. Downton, W.J.S. (1970) - Preferential C_4 -dicarboxylic acid synthesis, the postillumination CO_2 burst, carboxyl transfer step, and grana configurations in plants with C_4 -photosynthesis. *Canadian Journal of Botany*, 48: 1795-1800.
8. Downton, W.J.S. and E.B. Tregunna (1968) - Carbon dioxide compensation - its relation to photosynthetic carboxylation reactions, systematics of the Gramineae and leaf anatomy. *Canadian Journal of Botany*, 46: 207-215.

9. Downton, W.J.S., T. Bisalputra and E.B. Tregunna (1969) - The distribution and ultrastructure of chloroplasts in leaves differing in photosynthetic carbon metabolism. *Canadian Journal of Botany*, 47: 915-920.
10. Downton, W.J.S., J. Berry and E.B. Tregunna (1969) - Photosynthesis: temperate and tropical characteristics within a single grass genus. *Science*, 163: 78-79.
11. El-Sharkawy, M. and J.D. Hesketh (1965) - Photosynthesis among species in relation to characteristics of leaf anatomy and CO₂ diffusion resistances. *Crop Science*, 5: 517-521.
12. Evans, L.T. and R.L. Dunstone (1970) - Some physiological aspects of evolution in wheat. *Australian Journal of Biological Science*, 23: 245-254.
13. Hatch, M.D. and C.R. Slack (1966) - Photosynthesis by sugar-cane leaves. A new carboxylation reaction and the pathway of sugar formation. *The Biochemical Journal*, 101: 103-111.
14. Hatch, M.D., C.R. Slack and H.S. Johnson (1967) - Further studies on a new pathway of photosynthetic carbon dioxide fixation in sugar cane and its occurrence in other plant species. *Biochemical Journal*, 102: 417-422.
15. Heichel, G.H. and R.B. Musgrave (1969) - Varietal differences in net photosynthesis of Zea mays L. *Crop Science*, 9: 483-486.
16. Hess, J.L., N.E. Tolbert and L.M. Pike (1967) - Glycolate biosynthesis by *Scenedesmus* and *Chlorella* in the presence or absence of NaHCO₃. *Planta*, 74: 278-285.
17. Hew, C.S. and G. Krotkov (1968) - Effect of oxygen on the rates of CO₂ evolution in light and in darkness by photosynthesizing and non-photosynthesizing leaves. *Plant Physiology*, 43: 464-466.
18. Hofstra, G. and J.D. Hesketh (1969) - Effects of temperature on the gas exchange of leaves in the light and dark. *Planta*, 85: 228-237.
19. Hofstra, G. and C.D. Nelson (1969) - The translocation of photosynthetically assimilated ¹⁴C in corn. *Canadian Journal of Botany*, 47: 1435-1442.
20. Irvine, J.E. (1967) - Photosynthesis in sugar-cane varieties under field conditions. *Crop Science*, 7: 297-300.

21. Izhar, L.S. and D.H. Wallace (1967) - Genetic variation in photosynthetic efficiency of *Phaseolus vulgaris*. *Crop Science*, 7: 457-460.
22. Jackson, W.A. and R.J. Volk (1970) - Photorespiration. *Annual Review of Plant Physiology*, 21: 385-432.
23. Johnson, H.S. and M.D. Hatch (1968) - Distribution of the C₄-dicarboxylic acid pathway of photosynthesis and its occurrence in dicotyledonous plants. *Phytochemistry*, 7: 375-380.
24. Johnson, H.S. and M.D. Hatch (1969) - The C₄-dicarboxylic acid pathway of photosynthesis. Identification of intermediates and products, and quantitative evidence for the route of carbon flow. *The biochemical Journal*, 114: 127-134.
25. Jolliffe, P.A. and E.B. Tregunna (1968) - Effect of temperature, CO₂ concentration and light intensity on oxygen inhibition of photosynthesis in wheat leaves. *Plant Physiology*, 43: 902-906.
26. Kisaki, T. and N.E. Tolbert (1969) - Glycolate and glycolate metabolism by isolated peroxisomes or chloroplasts. *Plant Physiology*, 44: 242-250.
27. Kortschalk, H.P. and L.G. Nickel (1970) - Calvin-type carbon dioxide fixation in sugar-cane stalk parenchyma tissue. *Plant Physiology*, 45: 515-516.
28. Krenzer, E.G. and D.N. Moss (1969) - Carbon dioxide compensation in grasses. *Crop Science*, 9: 619-621.
29. Leatch, W.M. (1968) - Chloroplast specialisation in dicotyledons possessing the C₄-dicarboxylic acid pathway of photosynthetic CO₂ fixation. *American Journal of Botany*, 55: 875-883.
30. Leatch, W.M. and I. Price (1969) - Development of the dimorphic chloroplasts of sugar-cane. *American Journal of Botany*, 56: 77-87.
31. Menz, K.M., D.M. Moss, R.Q. Cannel and W.A. Brun (1969) - Screening for photosynthetic efficiency. *Crop Science*, 9: 692-694.
32. Moss, D.N. (1966-a) - *Plant Physiology*, 41 (Suppl.), xxxiii.
33. Moss, D.N. (1966-b) - Respiration of leaves in light and darkness. *Crop Science*, 6: 351-354.
34. Moss, D.N., E.G. Krenzer and W.A. Brun (1969) - Carbon dioxide compensation points in related plant species. *Science*, 164: 187-188.

35. Moss, D.N. and H.P. Rasmussen (1969) - Translocation and cellular localisation of CO₂-fixation. *Plant Physiology*, 44: 1063-1068.
36. Osmond, C.B. (1969) - β -carboxylation photosynthesis and photorespiration in higher plants. *Biophysica Acta*, 172: 144-149.
37. Poskuta, J. (1969) - Photosynthesis, respiration and postillumination fixation of CO₂ by corn leaves as influenced by light and oxygen concentration. *Physiologia Plantarum*, 22: 76-85.
38. Prat, H. (1936) - La systématique des graminées. *Ann. Sci. Nat. (Botan.) Ser. 10*, 18, 890-905.
39. Slack, C.R. (1969) - Localization of certain photosynthetic enzymes in mesophyll and parenchyma sheath chloroplasts of maize and *Amaranthus palmeri*. *Phytochemistry*, 8: 1387-1391.
40. Slack, C.R., M.D. Hatch and D.J. Goodchild (1969) - Distribution of enzymes in mesophyll and parenchyma-sheath chloroplasts of maize leaves in relation to the C₄-dicarboxylic acid pathway of photosynthesis. *The Biochemical Journal*, 114: 489-498.
41. Slatyer, R.O. (1970) - Comparative photosynthesis, growth and transpiration of two species of *Atriplex*. *Planta*, 93: 175-189.
42. Snee, J.: *Handbuch der Pflanzenzüchtung. Sechster Band: Züchtung von Gemüse, Obst, Reben und Forstpflanzen*: 227-228 (. Parey in Berlin und Hamburg, 1962).
43. Tolbert, N.E., A. Oesser, T. Kisiaki, R.H. Hageman and R.K. Yamazaki (1968) - Peroxisomes from spinach leaves containing enzymes related to glycolate metabolism. *The Journal of Biological Chemistry*, 243: 5179-5184.
44. Tolbert, N.E., A. Oesser, R.K. Yamazaki, R.H. Hageman and T. Kisiaki (1969) - A survey for leaf peroxisomes. *Plant Physiology*, 44: 135-147.
45. Tregunna, E.B. and W.J.S. Downton (1967) - Carbon dioxide compensation in members of the *Amaranthaceae* and some related families. *Canadian Journal of Botany*, 45: 2385-2387.
46. Zelitch, J. (1968) - Investigation on photorespiration with a sensitive ¹⁴C-assay. *Plant Physiology*, 43: 1829-1837.

EEN ONDERZOEK NAAR DE AANWEZIGHEID VAN VARIËTEITEN MET EEN HOGE
FOTOSYNTHETISCHE CAPACITEIT BINNEN HET GESLACHT SPINACIA

Samenvatting

Van vijf en dertig "wilde" variëteiten van de soorten *Spinacia oleracea*, *Sp. tetandra*, *Sp. turkestanica* en *Sp. spinosa* en het cultuurras Prevital (*Sp. oleracea*) werd onderzocht of het CO₂-compensatiepunt "hoog" of "laag" was. Bovendien werden bladeren van planten van deze variëteiten gekleurd met JKJ om deze op de aanwezigheid van bundel-schede-cellen te testen. Geen van de onderzochte planten had een laag CO₂-compensatiepunt. Tevens werd in geen van de onderzochte spinaziebladeren de indruk van de aanwezigheid van bundel-schede-cellen gewekt. Het geslacht *Spinacia* bevat derhalve waarschijnlijk geen variëteiten met een hoge fotosynthetische capaciteit.

Inleiding

Mais, verschillende tropische grassen en enkele dicotylen-families hebben een hoge maximale netto fotosynthese, een laag CO₂-compensatiepunt, bezitten bundel-schede-cellen en nog enkele andere karakteristieken, die kenmerkend zijn voor planten met een hoge fotosynthetische capaciteit. Grassen uit de gematigde luchtstreek, bieten, spinazie en bijna al onze cultuurgewassen hebben een lage maximale netto fotosynthese, een hoog CO₂-compensatiepunt, bezitten geen bundel-schede-cellen en behoren daarmee tot de groep met een lage fotosynthetische capaciteit.

Indien er soorten of variëteiten gevonden worden met een hoge fotosynthetische capaciteit, die zó verwant zijn met een van onze cultuurgewassen met een lage fotosynthetische capaciteit, dat er ermee gekruist kunnen worden zou dat de mogelijkheid kunnen openen de cultuurrassen met een hogere maximale netto fotosynthese te verkrijgen. Het geslacht *Atriplex* is tot nu toe nog het enige geslacht, waarbinnen soorten met een hoge fotosynthetische capaciteit en soorten met een lage fotosynthetische capaciteit naast elkaar zijn gevonden. Hier bestaat dus de mogelijkheid planten van beide groepen met elkaar te kruisen. Het geslacht *Spinacia* is verwant met het geslacht *Atriplex*. Cultuurrassen van spinazie hebben

een lage fotosynthetische capaciteit. De mogelijkheid bestaat dat, net als in *Atriplex*, er in het geslacht *Spinacia* soorten of variëteiten voorkomen met een hoge fotosynthetische capaciteit. De kans is groter dat verschillen worden gevonden tussen soorten, daar er nog geen gevallen van verschil binnen een soort zijn waargenomen. Een complicatie hierbij is dat systematici nog geen volledige zekerheid hebben over de indeling in soorten en variëteiten van het geslacht *Spinacia*.

Materiaal en methode

Het spinaziemateriaal dat op hoge fotosynthetische capaciteit onderzocht werd werd ter beschikking gesteld door de heer A.W.B. Janssen van het Unilever research laboratorium in Duiven. Het bestond uit 27 "wilde" variëteiten van *Sp. oleracea*, 3 variëteiten van *Sp. tetandra*, 4 variëteiten van *Sp. turkestanica* en 1 variëteit van *Sp. spinoza*. Deze variëteiten zijn verzameld in Turkije, Rusland, India, Iran, Taiwan en Japan. In de proef werd tevens het cultuurras Prevital (*Sp. oleracea*) opgenomen. Van mais, dat gebruikt werd als plant met een laag CO_2 -compensatiepunt, werd het ras CIV 7 gebruikt.

De spinazie-variëteiten werden getest op een wijze zoals die door Menz e.a. (1) is beschreven. De te onderzoeken spinazie-planten werden hiertoe naast planten met een laag CO_2 -compensatiepunt (mais) en een continu belichte en CO_2 -dichte ruimte geplaatst. Hebben de te onderzoeken planten een hoog CO_2 -compensatiepunt, dan sterven ze binnen 7 dagen; hebben ze daarentegen een laag CO_2 -compensatiepunt, dan blijven ze gedurende deze week in leven. De proef werd ingezet met 21 dagen oude (dagen na uitzaai) spinazieplanten en 11 dagen oude maisplanten. De planten werden op een plastic plaat in een bak met voedingsoplossing geplaatst. De binnenkant van deze bak was geheel bedekt met CO_2 -dicht plastic. Over die plaat heen werd een kasje in de bak met voedingsoplossing geplaatst. Dit kasje bestond uit een geraamte van ijzeren buizen, die op de onderkant na geheel omgeven was met CO_2 -dicht plastic. De afmetingen van het kasje waren 54 bij 105 cm en 40 cm hoog. De afstand van de onderkant van het kasje tot de vloeistofspiegel was 8 cm. Op 10 cm boven het kasje hingen 8 TL buizen van elk 40 Watt, die de planten 24 uur per dag verlichtten. De temperatuur in het kasje werd op ca. 25°C gehouden.

Iedere plaat bevatte 132 plantgaten. Steeds werden 2 kasjes naast elkaar genomen met elk dezelfde 12 spinazie-variëteiten, die in rijen van 8 naast

elkaar werden gezet. Een van de twee kasjes bevatte bovendien 32 maisplanten. Het andere kasje diende als controle.

De opkweek van het plantenmateriaal vond in klimaatkamers plaats. De spinazie werd uitgezaaid in klinkerisoliet en bij 15°C gezet. Na 10 dagen werden gekiemde plantjes op een plastic plaat in de voedingsoplossing geplaatst en bij 20°C gezet. De mais werd in perliet uitgezaaid en bij 25°C gezet. Na 7 dagen werden de gekiemde planten bij 20°C in de voedingsoplossing geplaatst. De voedingsoplossing bij de opkweek was "halve" Hoagland met ijzer, die met H_2SO_4 aangezuurd was tot een pH 5 - 6. De voedingsoplossing bij de proef was "hele" Hoagland met ijzer, ook aangezuurd tot een pH 5 - 6. Om een indruk te krijgen van de CO_2 -concentratie in de kasjes tijdens de proef, werd bij 1 experiment na 7 dagen een zwak basische oplossing met fenolftaline in een trechter in een kasje met spinazie + mais en in een kasje met alleen spinazie gebracht (volgens een idee van Wolf & Garson (2)). De snelheid waarmee de base + fenolftaline ontkleurt, is een maat voor de CO_2 -concentratie. De oplossing van base + fenolftaline werd gemaakt door 1 ml 0,1012 N CO_2 -vrij NaOH toe te voegen aan 1½ liter CO_2 -vrij water en daaraan een spatelpuntje fenolftaline toe te voegen.

Van de onderzochte spinazie-variëteiten en van de mais werden bovendien bladeren met JKJ gekleurd. Dit werd gedaan om de aanwezigheid en verdeling van het zetmeel in de bladeren te bepalen. Bladeren van controleplanten werden aan het eind van de lichtperiode bestudeerd om zeker te zijn van een hoog zetmeelgehalte. De verdeling van het zetmeel in het blad geeft een indruk over het wel of niet aanwezig zijn van bundel-schedecellen zoals door Downton & Tregunna (3) is aangetoond.

Resultaten en conclusie

Ingezet werden 3 x 2 kasjes (1 kasje met 12 spinazie-variëteiten + mais en 1 kasje met alleen spinazie) om de in totaal 36 spinazie-variëteiten te testen.

De symptomen bij de drie kasjes met mais waren gelijk. Ook tussen de drie controle-kasjes waren de symptomen onderling gelijk. De kasjes met mais: De eerste twee dagen na het inzetten van de proef groeiden de maisplanten nog iets, waarna deze de overige 5 dagen stationair bleven. De spinazieplanten groeiden na het inzetten van de proef niet meer, maar bleven de eerste vier dagen er gezond uitzien. Op de vijfde dag gingen ze alle slap hangen. Op de zesde dag was 90 % dood en op de zevende dag was 100 % dood. Verschillen tussen variëteiten waren niet te zien.

De controlekasjes: De spinazieplanten groeiden niet meer na het inzetten van de proef, maar bleven er de eerste 8 dagen redelijk gezond uitzien. Hierna begonnen er willekeurig over alle variëteiten verspreid planten voor te komen die vergeelden en vervolgens afstierven. Na ca. 14 dagen zijn ook hier alle planten dood. Een maal werd na zeven dagen in twee kasjes (een met spinazie + mais en een met alleen spinazie) een trechter in de kasjes gevuld met een zwak basische oplossing met fenolftaline. Bij het kasje met spinazie + mais ontkleurde de oplossing in 5 minuten. Bij het kasje met alleen spinazie ontkleurde de oplossing pas na twee dagen.

Een oppervlakkige bestudering van de bladanatomie d.m.v. het kleuren van bladeren met JKJ gaf bij de verschillende spinazie-variëteiten een eenvormig beeld te zien. Het zetmeel was gelijkmatig over de bladeren verdeeld. Bij mais was niet veel zetmeel te zien (mais slaat niet veel van de gereduceerde CO_2 in zetmeel op), maar de zetmeel die te zien was lag in de cellen die om de vaatbundels gerangschikt waren. De foto's laten dit duidelijk zien.

Uit de resultaten van deze proeven kan met vrij grote waarschijnlijkheid de conclusie getrokken worden, dat in het geslacht *Spinacia* geen soorten (of variëteiten) voorkomen met een hoge fotosynthetische capaciteit.

Literatuur

1. Menz, M., D.N. Moss, R.Q. Cannell and W.A. brun (1969) - Screening for photosynthetic efficiency. Crop Science, t: 692-694.
2. Wolf, D.D. and E.W. Garson (Department of Agronomy, Virginia Polytechnic Institute) - CO_2 compensation measurements. Agronomy Abstracts. 1970 Annual Meetings: Blz. 41.
3. Downton, W.J.S. and E.B. Tregunna (1968) - Carbon dioxide compensation - its relation to photosynthetic carboxylation reactions, systematics of the Gramineae, and leaf anatomy. Canadian Journal of Botany, 46: 207-215.

Foto's van mais (boven) en spinazie (onder) bladeren die gekleurd zijn met JKJ. Donker gebied is zetmeel in bundel-schede-cellen (boven) en in mesophyl-cellen (onder). De vergroting is x 64.