



# FOTOSINTESI



# Fase “oscura”







Nella fase oscura sono predominanti reazioni biochimiche, catalizzate da enzimi.

Queste sono temperatura – sensibili, e vengono a cessare sopra i  $45^{\circ}\text{C}$  a causa della denaturazione degli stessi.

Alcuni di questi enzimi devono essere attivati dalla luce (al buio non funzionano!).

Il processo continua fino a quando ci sono a disposizione i vari substrati: la  $\text{CO}_2$ , l'ATP e il  $\text{NADPH} + \text{H}^+$  e un substrato organico «energizzato» da gruppi fosfato.

Il tutto avviene nello STROMA, dove i prodotti finali si accumulano se i processi di “esportazione” sono più lenti di quelli di produzione.



Il cuore dalla fase oscura è un ciclo detto, dal nome del suo scopritore, **Melvin Calvin**, premio nobel nel 1961, **ciclo di Calvin**.

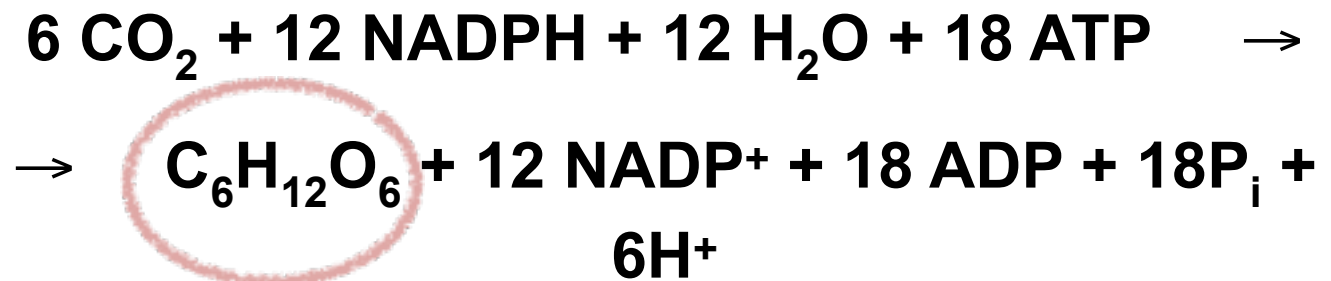




Le reazioni della fase oscura portano alla riduzione biochimica della  $\text{CO}_2$  a carboidrati.

Il processo, noto come "fissazione" o "organizzazione della  $\text{CO}_2$ ", è fondamentale per la biosfera: piante verdi e alghe producono ogni anno enormi quantità di sostanza organica (**produttività primaria**).

Le reazioni possono essere così riassunte:



Carboidrato ridotto: viene in genere indicato un esoso, intendendo il glucosio (perché viene polimerizzato nell'amido primario)



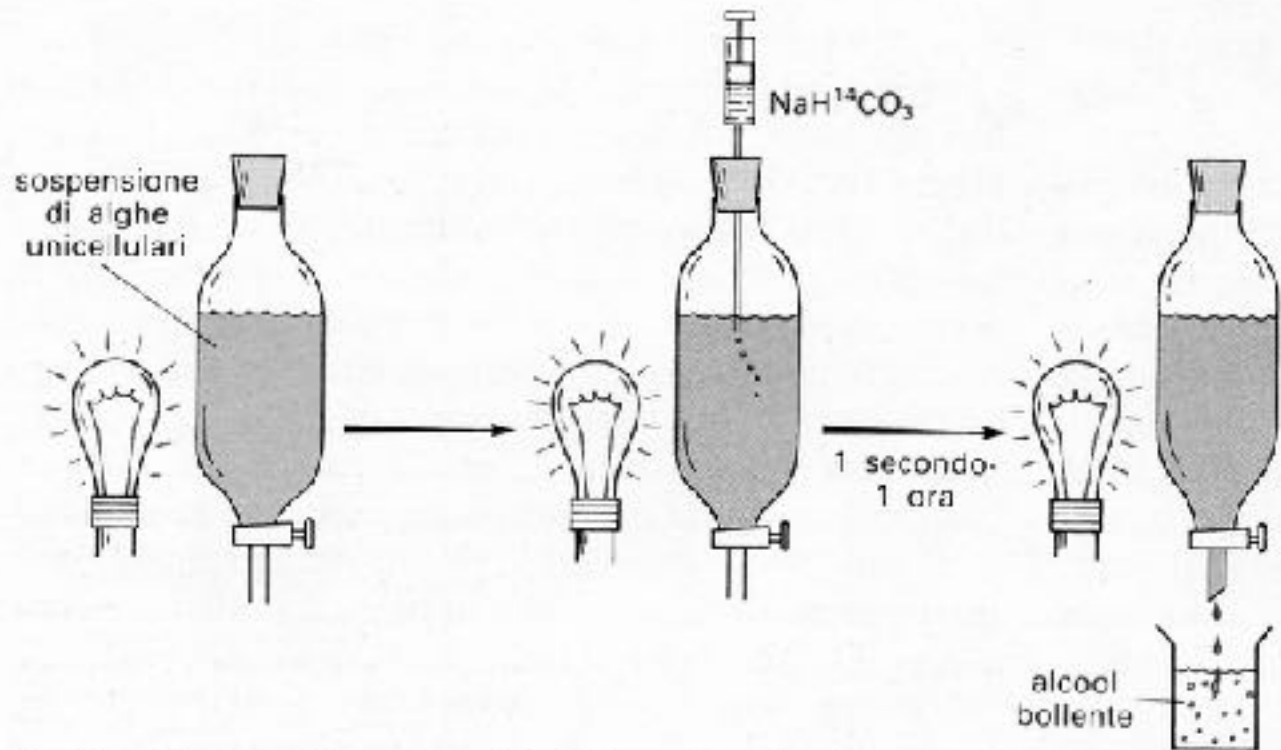




La caratterizzazione delle reazioni e la determinazione delle varie tappe, ciò che viene oggi indicato con il nome di Ciclo di Calvin (-Benson), è il risultato di un enorme lavoro di equipe di un gruppo di 300 scienziati americani che aveva al suo interno i migliori specialisti dei diversi campi, che poterono usare tecnologie allora di assoluta avanguardia.

Siamo negli anni '50, la II guerra mondiale è terminata da poco e ha messo a disposizione i radioisotopi, grazie allo studio dell'atomo.



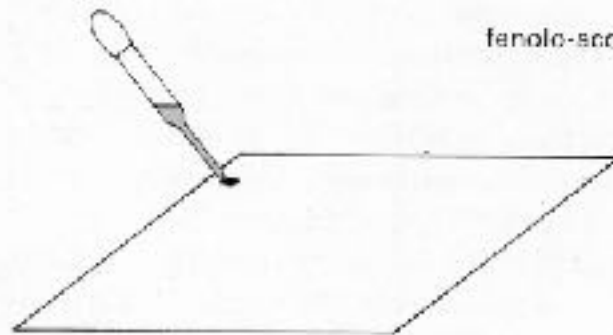


**1** – Il recipiente contiene una sospensione di alghe verdi le quali fotosintetizzano usando la  $\text{CO}_2$  atmosferica non radioattiva sciolta nell'acqua.

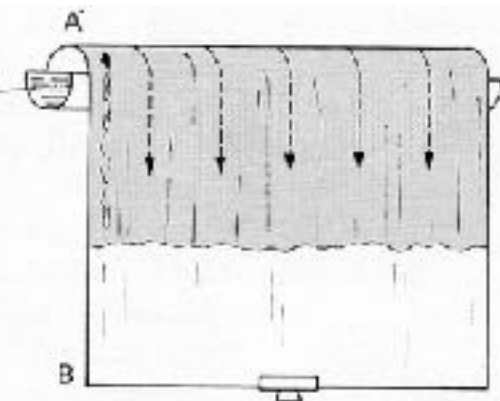
**2** – Si immette nel recipiente una certa quantità di  $\text{CO}_2$  radioattiva (sotto forma di  $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ ).

**3** – Passato un certo intervallo dalla somministrazione di  $\text{CO}_2$  radioattiva si apre il rubinetto. Una parte della sospensione cade nell'alcool bollente. I composti a piccola molecola contenuti nelle cellule (zuccheri, amminoacidi, ecc.) passano in soluzione nell'alcool. L'operazione viene ripetuta varie volte a diversi intervalli di tempo.

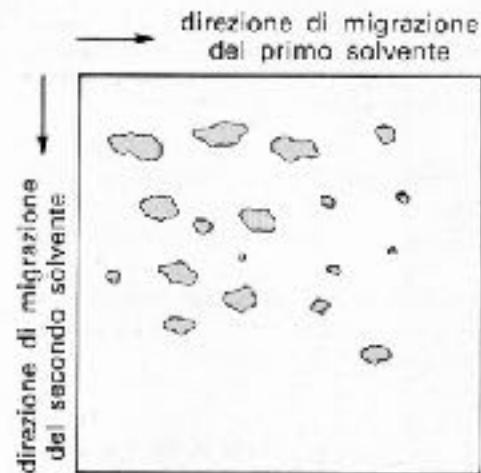




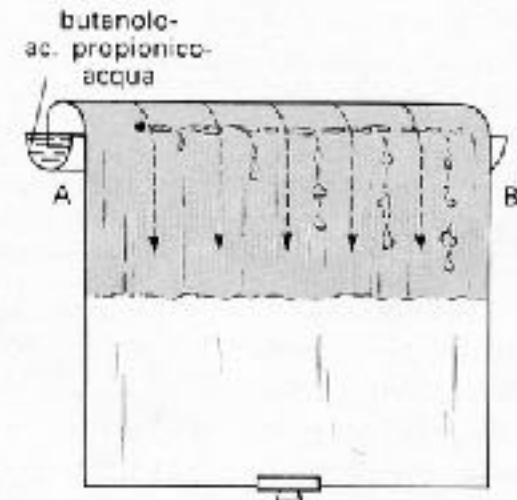
4 - Una piccola quantità dell'estratto alcoolico di alghe viene applicata vicino a un angolo di un foglio di carta cromatografica.



5 - Un lato del foglio pesca in una vaschetta contenente un solvente il quale migra lungo la carta trascinandosi dietro per diverse distanze le varie sostanze contenute nell'estratto, le quali in questo modo vengono parzialmente separate.



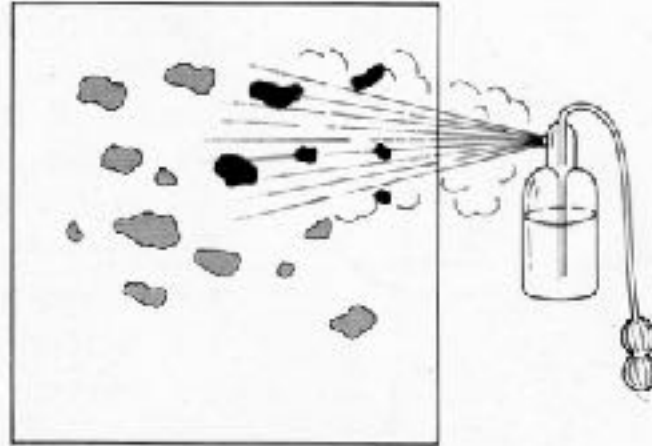
7 - Terminata la separazione cromatografica a ogni sostanza contenuta nell'estratto corrisponde una macchia in una determinata posizione. Ma tutte queste macchie sono praticamente invisibili.



6 - La separazione diventa totale con una seconda cromatografia in direzione perpendicolare alla prima. Il foglio, ruotato di 90°, pesca in un solvente diverso.







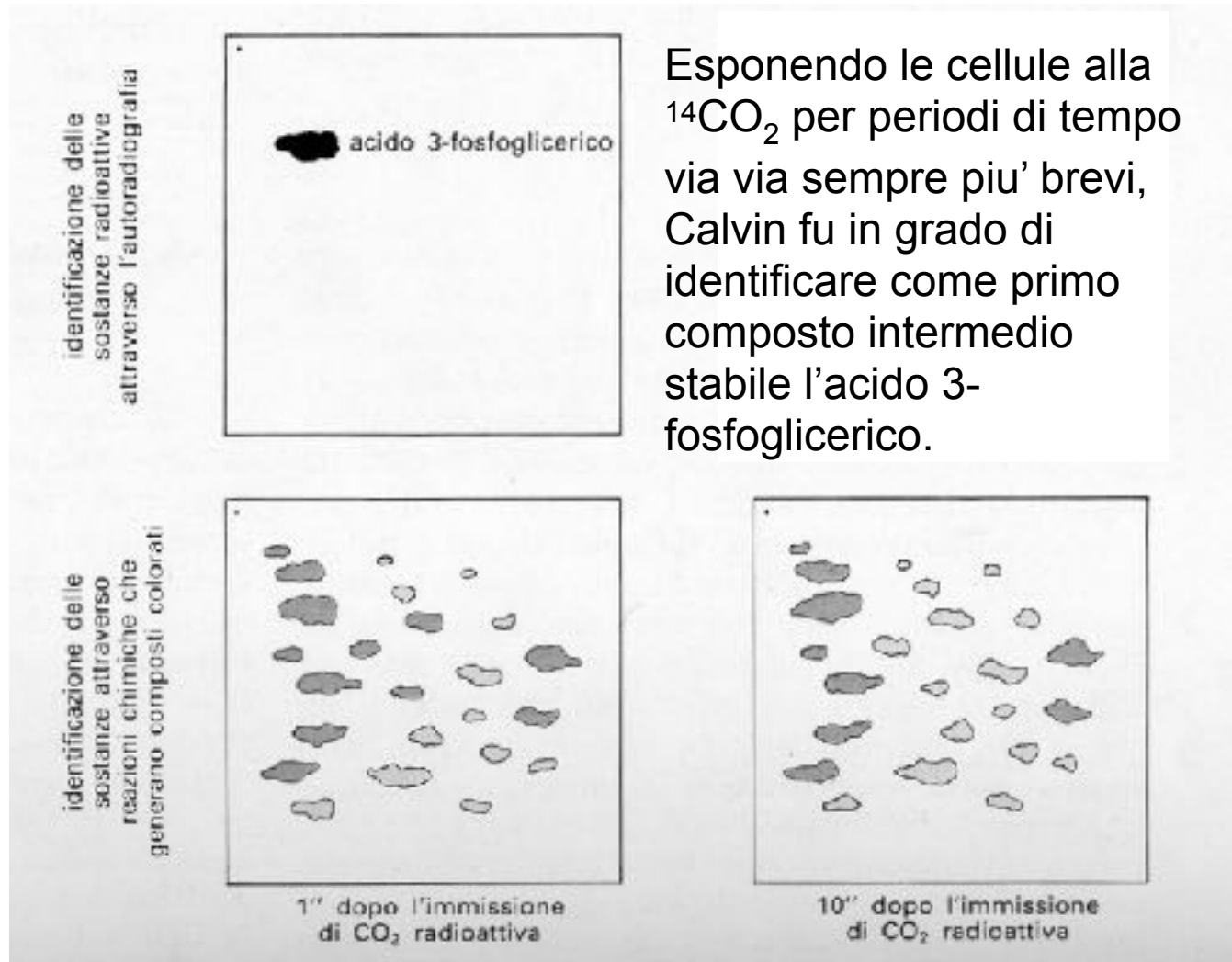
**8** - Le macchie possono essere messe in evidenza spruzzando la carta con soluzioni di particolari sostanze che reagiscono con i vari tipi di composti dando origine a prodotti colorati. Le macchie vengono identificate cromatografando sostanze note nelle stesse condizioni sperimentali. In questo modo si possono identificare praticamente tutti i composti separati.



**9** - Alternativamente il foglio di carta cromatografica viene coperto con una lastra fotografica e lasciato al buio per alcune settimane. Le radiazioni emesse dal  $^{14}\text{C}$  incorporato nei vari composti impressionano la lastra che viene poi sviluppata. In questo modo vengono messe in evidenza solo le sostanze che sono state sintetizzate DOPO l'immissione di  $\text{CO}_2$  radioattiva.

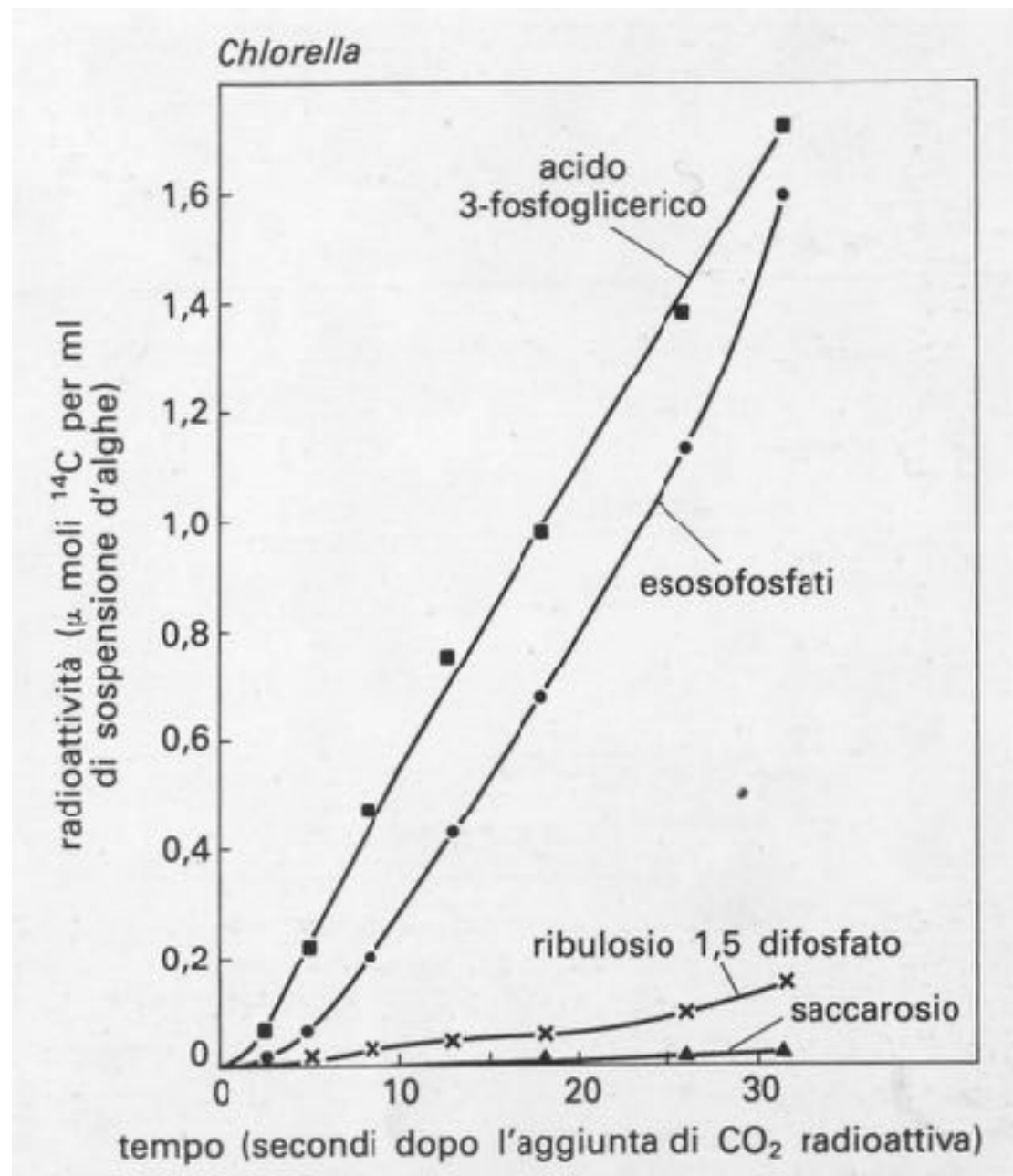
I composti marcati con il  $^{14}\text{C}$  vennero quindi separati e identificati a seconda della posizione che raggiungono in una cromatografia bidimensionale su carta. In questo modo, vennero identificati come intermedi del processo della fissazione numerosi acidi e zuccheri fosfati.





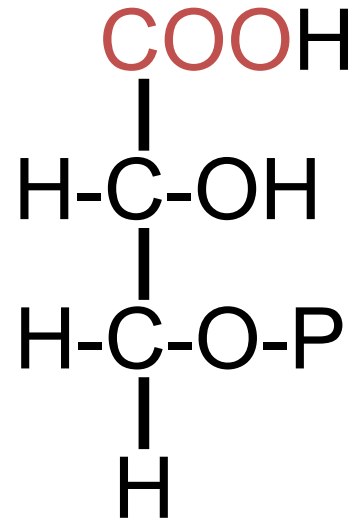
A questo punto furono progressivamente ridotti i tempi di esposizione








I risultati dimostrarono che l'acido 3-fosfoglicerico era marcato principalmente nel gruppo carbossilico.

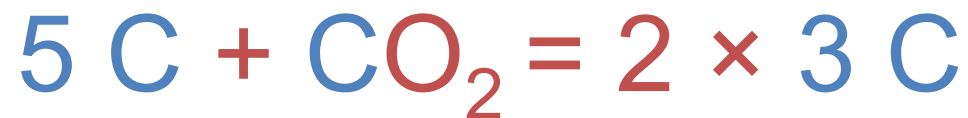


Questo suggerì che l'accettore iniziale della  $\text{CO}_2$  fosse un composto a 2 atomi di C, generando una estenuante, futile ricerca di questo composto.



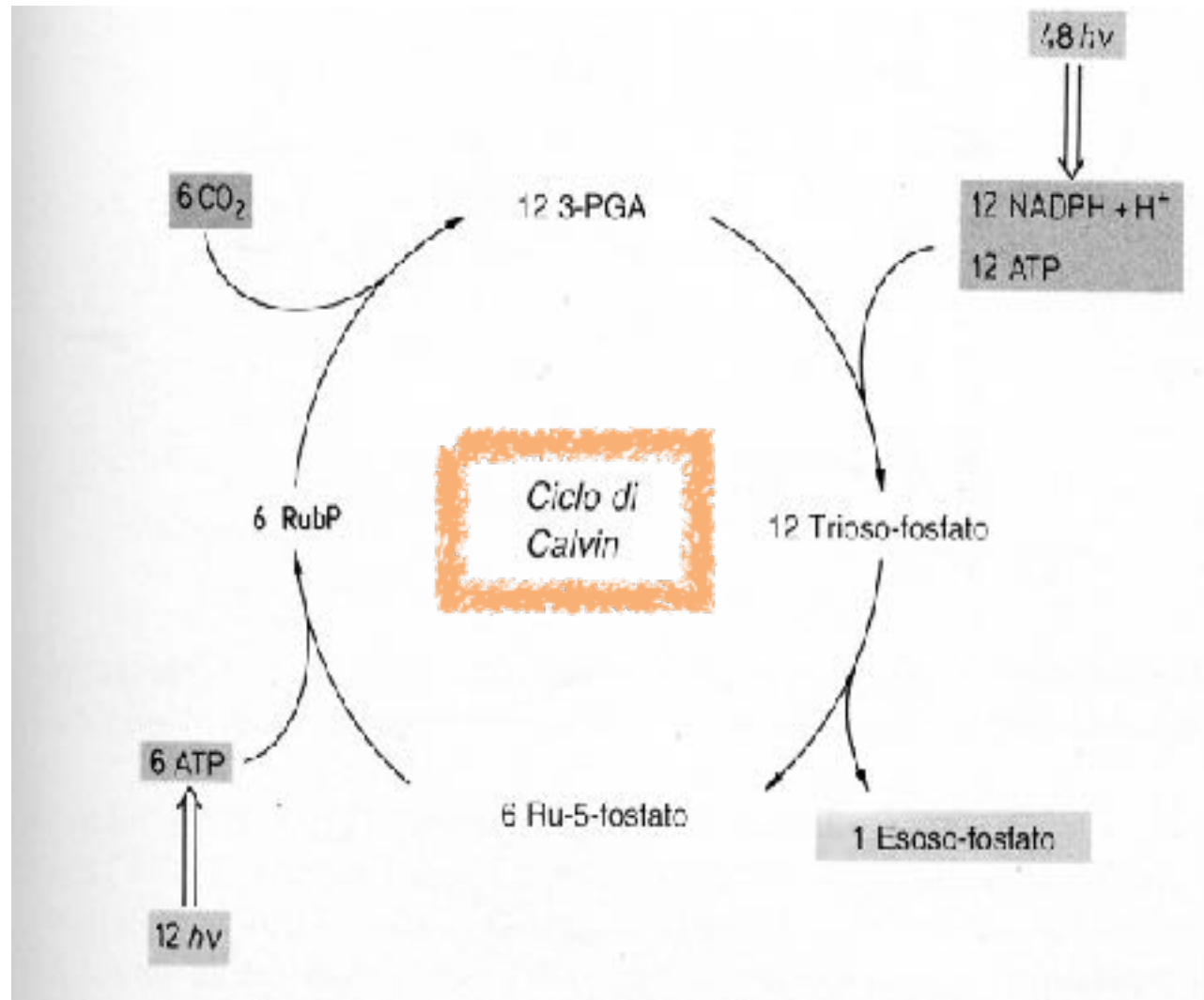


La seguente scoperta che i pentosi monofosfati partecipano al ciclo suggerì la possibilità che l'accettore iniziale della CO<sub>2</sub> fosse un composto a 5 atomi di C che, dopo aver reagito con la CO<sub>2</sub>, generava 2 molecole di acido 3-fosfoglicerico.



Questo sconvolgimento concettuale portò rapidamente all'identificazione del **ribulosio 1,5-difosfato** (un pentoso) come l'accettore della CO<sub>2</sub> e alla formulazione completa del ciclo.

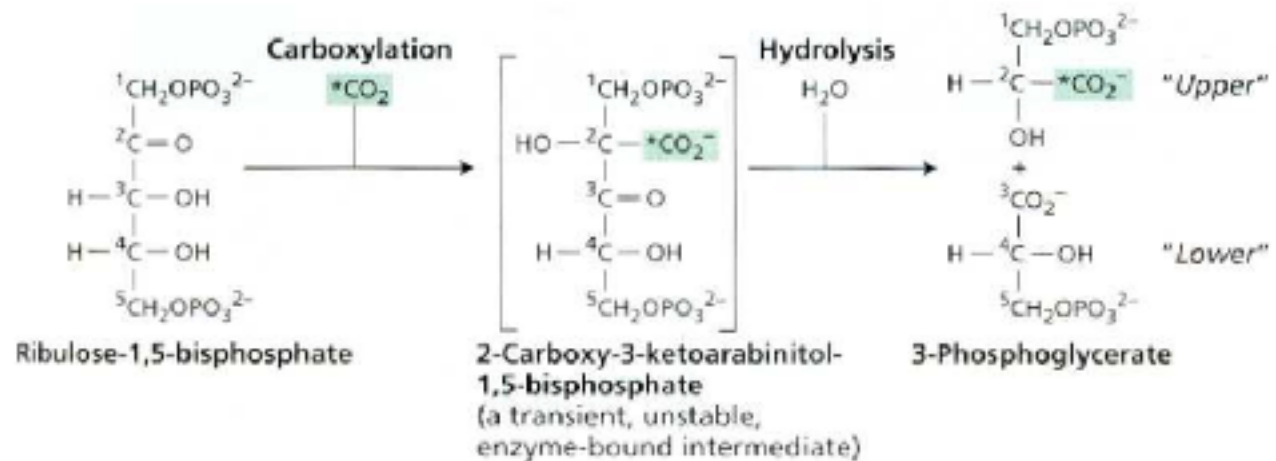






# Fase di carbossilazione

La prima reazione è una fissazione di  $\text{CO}_2$  su un accettore organico, il **pentoso ribulosio 1,5-difosfato (RuDP)**. Si forma così un intermedio esoso fosfato instabile, che si decompone quasi istantaneamente per idrolisi dando due molecole di **acido 3-fosfoglicerico (PGA)**.



$$\Delta G = -51 \text{ kJ mol}^{-1}$$





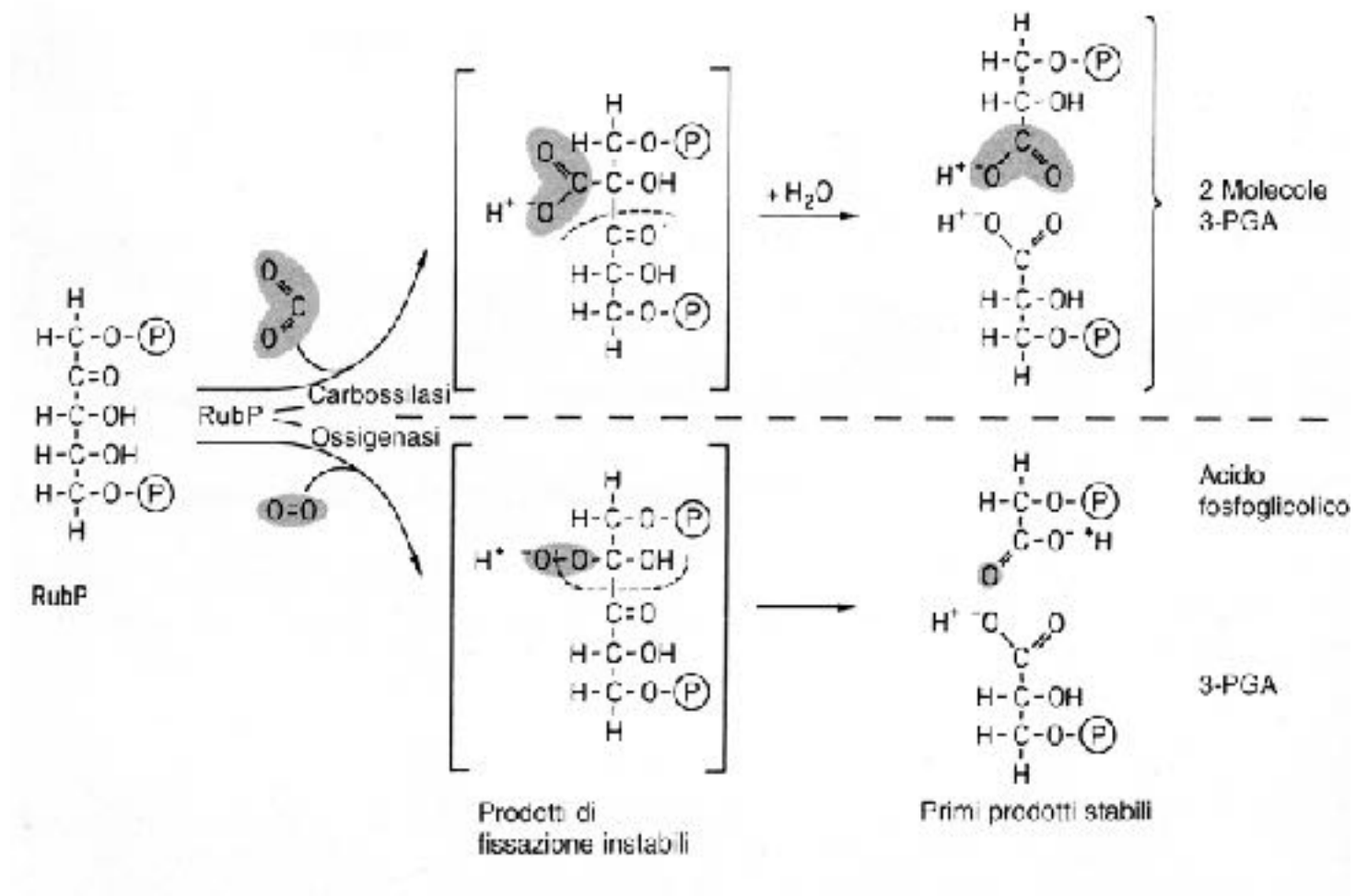
Una piccola parte delle molecole di PGA sono destinate alla **conversione del PGA in glucosio**, la grande maggioranza alla **rigenerazione del RuDP**, in **un rapporto 1:5**.

Catalizzatore della carbossilazione è l'enzima Ribuloso bifosfato carbossilasi-ossigenasi, detto anche **RUBISCO**, l'enzima più abbondante in natura.

In molti cloroplasti esso costituisce infatti anche il 50% delle proteine totali e, nella biosfera, fino al 20% di tutte le proteine presenti.

La caratteristica più particolare di questo enzima multi-catena sta nel fatto che esso lega al substrato sia  $\text{CO}_2$  che  $\text{O}_2$ , a seconda della concentrazione dei due gas.









Gli stadi del processo che portano da **PGA** a **glucosio** , e quindi a **saccarosio** e **amido** sono esattamente opposti a quelli della glicolisi.

Infatti il **PGA**, oltre a formarsi nella fotosintesi è anche un intermedio nella **glicolisi**, dato che le principali vie metaboliche possono essere percorse nei due sensi: in questo caso, se è possibile ottenere **PGA** da **glucosio** sarà anche possibile ottenere **glucosio** da **PGA**.

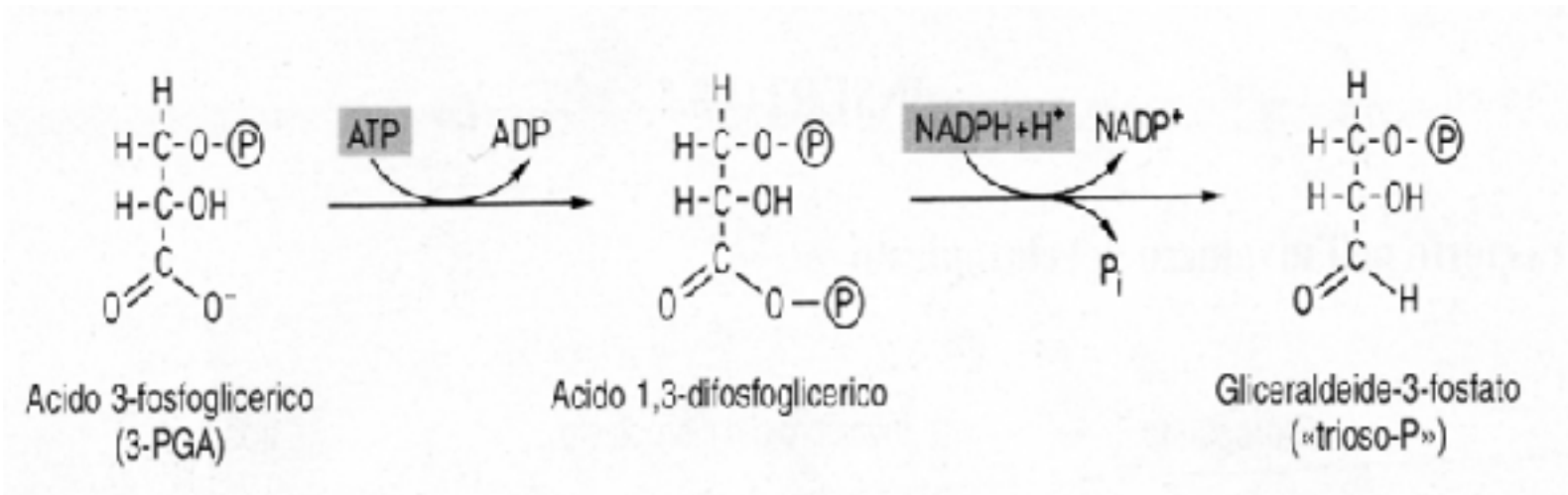
L'unica diversità tra i due opposti processi consiste nel **coenzima riducente**, che nel caso della fotosintesi è l'**NADPH**, nel caso della glicolisi l'**NAD**.

Questo conferma la regola secondo la quale **NAD** è il tipico coenzima delle vie metaboliche degradative in cui prevalgono le ossidazioni, mentre **NADP** è il tipico coenzima delle vie biosintetiche in cui prevalgono le riduzioni.

Le **reazioni di riduzione del PGA** possono essere sintetizzate in un semplice schema.



## Riduzione del PGA



Il **PGA** deve essere ridotto, con spesa di energia (ATP+NADPH). Il **PGA** viene dapprima attivato dall'**ATP**, che gli dona il gruppo **fosfato**, quindi ridotto a GLICERALDEIDE-3-P (**GP3**) dall'**NADPH**.





Quale è quindi il destino della G3P?

In linea teorica, ogni due molecole di trioso fosfato potrebbe essere prodotto un glucosio, che potrebbe entrare nelle vie di biosintesi del saccarosio o dell'amido.

Tuttavia, se ciò avvenisse, sarebbe al contempo necessario trovare un modo per rigenerare il ribulosio 1-5 difosfato per vie esterne al ciclo di Calvin. Ma il ciclo di Calvin, è, appunto, un **ciclo**. Questo vuol dire che gli intermedi di reazione, alla fine del ciclo, si riformano.

Questo accade anche per il ribulosio 1-5 difosfato. Le vie metaboliche che portano alla sua rigenerazione sono complesse, e coinvolgono zuccheri fosfati a 4, 5, 6, 7 atomi di C, oltre al consumo di un ATP per molecola rigenerata.

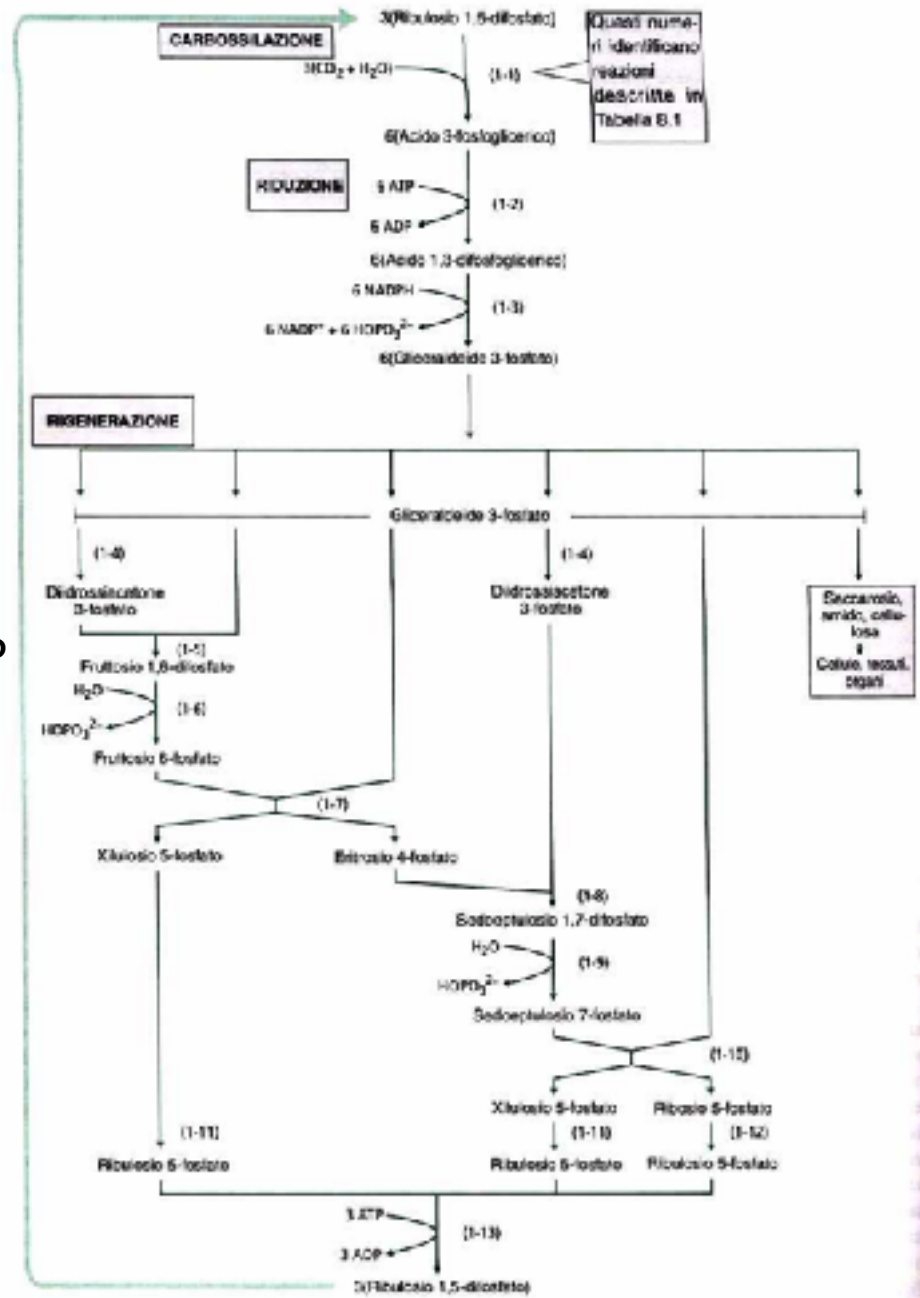
All fine, ogni tre "giri" del ciclo di Calvin, viene liberata una molecola di G3P.







## Rigenerazione del RuDP



## Conversione della GP3 in esosi

La **GP3** prodotta nella fase oscura della fotosintesi viene poi trasformata in zuccheri esosi.

La **GP3** ha già il numero di ossidazione di uno zucchero e quindi la sua successiva trasformazione non richiede altre tappe riduttive endoergoniche (con spesa di energia).

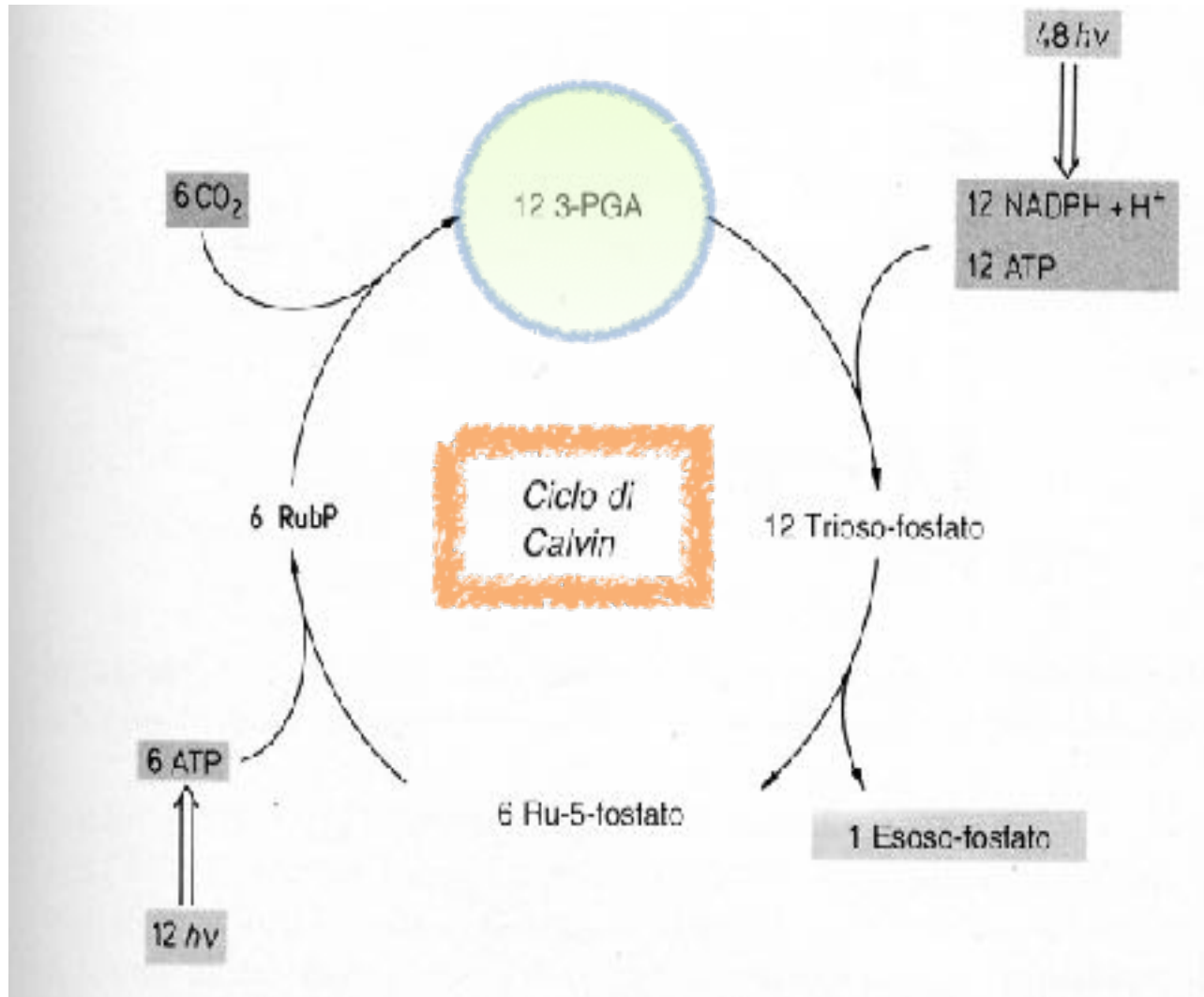
Nel processo bilanciato di costruzione di una molecola di **esoso** (glucosio), 6 molecole di **CO<sub>2</sub>** si combinano con 6 di **RuDP** per formarne 12 di **PGA**.

Solo 2 molecole di **GP3** sono destinate alla sintesi di esosi, mentre le altre dieci (!!!) possono proseguire il ciclo per diventare, alla fine, 6 molecole di **RuDP**, pronte ad essere utilizzate di nuovo («rigenerazione del substrato»).

I conti tornano: 10 **GP3** significano 30 atomi di C ( $10 \times 3 = 30$ ), così come 6 RuDP ( $6 \times 5 = 30$ ).



# METABOLISMO C3 o delle piante C3





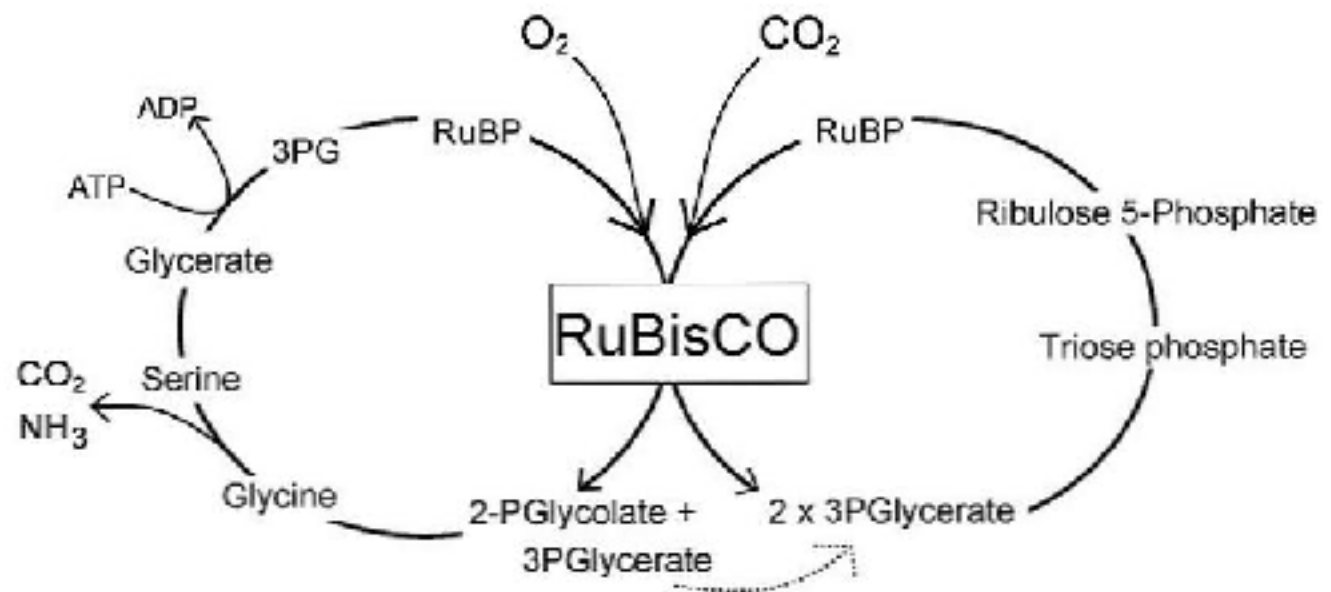
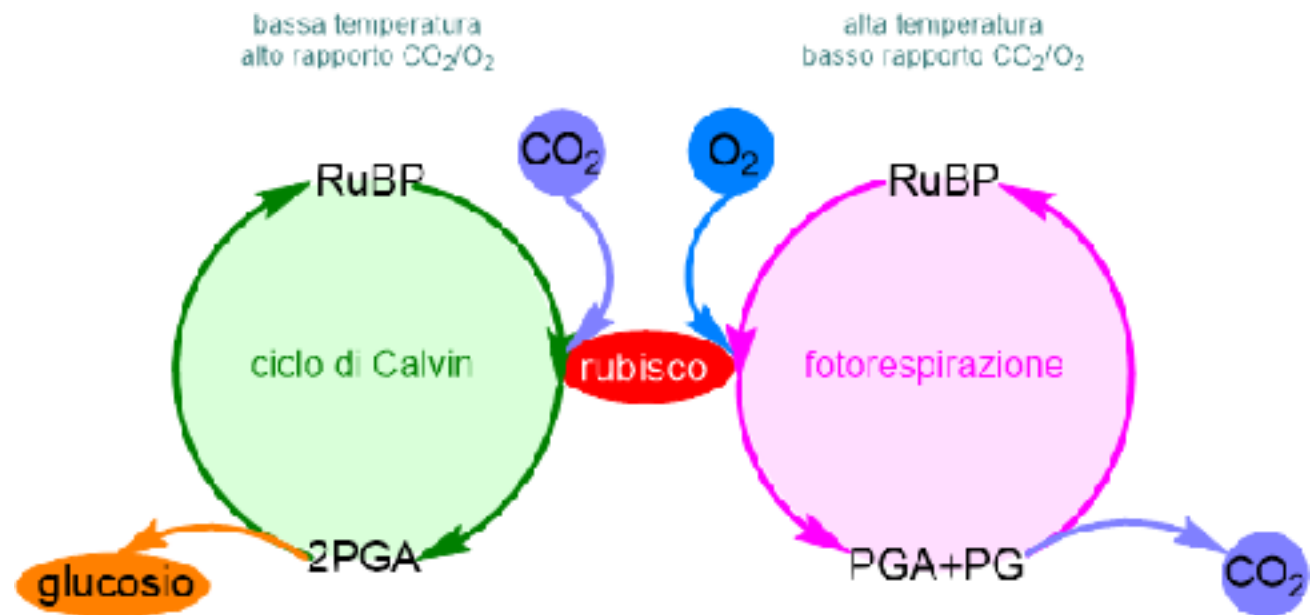


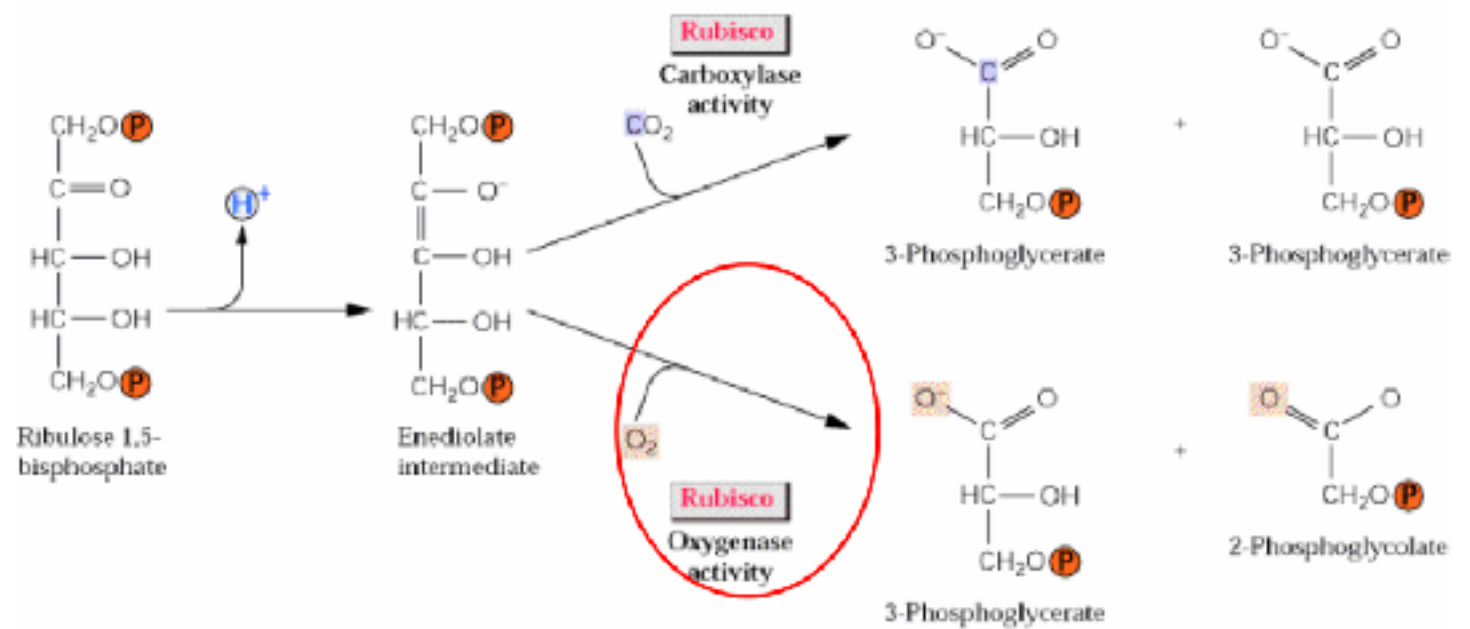
La **RibUlosio BlfoSfato Carbossilasi - Ossigenasi**, come dice il nome, ha la capacità di catalizzare l'unione del **RuDP** sia a una molecola di anidride carbonica, che a una molecola di ossigeno. Questa sua mancanza di specificità è probabilmente dovuta al fatto che questo enzima si è evoluto quando sul pianeta la quantità di ossigeno in atmosfera era molto bassa, e quella di anidride carbonica al contrario molto alta. Di conseguenza, questa sua mancanza di specificità non era un problema.

Tuttavia, le condizioni in cui l'enzima si trova a operare fanno sì che spesso il problema della ossigenazione del RuDP sia molto importante.

Perché è un problema? Perché l'ossigenazione del RuDP produce non due molecole di **3-fosfoglicerato**, ma una di 3-fosfoglicerato, e una di **2-fosfoglicolato** ( $C_2O_3H_2$ ). Di conseguenza, il quantitativo di triosi prodotto è 1, e non 2. Questo ha ovvie conseguenze a cascata sui passaggi successivi, e in particolare impedisce la rigenerazione del RuDP, che deve essere prodotto per altre vie, con conseguente "spesa" in termini di energia.












**A 25° Carbossilazione/ossigenazione = 3:1**

**Cosa succede quando la temperatura aumenta?**



**A 35° Carbossilazione/ossigenazione = 1:1**





Per la LEGGE DI HENRY, a temperatura costante, la solubilità di un gas in un liquido è proporzionale alla pressione che il gas esercita sulla soluzione.

$$C = P \times \alpha$$

$\alpha$  = coefficiente di assorbimento alla temperatura T

C = volume di gas (riportato a 0°), assorbito alla pressione di 1 atmosfera da un volume unitario di acqua

Il coefficiente di assorbimento è diverso per ogni gas e diminuisce all'aumentare della temperatura; quindi un aumento di T determina una diminuzione della concentrazione di gas nella soluzione in misura diversa da gas a gas

A 25°C è di  $1.3 \times 10^{-3}$  mol/atm·L per l'ossigeno, e  $3.4 \times 10^{-2}$  mol/atm·L per l'anidride carbonica.





Temperature (°C)	$\alpha$ (CO <sub>2</sub> )	[CO <sub>2</sub> ] (μM in solution)	$\alpha$ (O <sub>2</sub> )	[O <sub>2</sub> ] (μM in solution)	$\frac{[\text{CO}_2]}{[\text{O}_2]}$
5	1.424	21.93	0.0429	401.2	0.0515
15	1.019	15.69	0.0342	319.8	0.0462
25	0.759	11.68	0.0283	264.6	0.0416
35	0.592	9.11	0.0244	228.2	0.0376







Tuttavia, non è solo “colpa” della temperatura.

O meglio, la temperatura non agisce esclusivamente da sola, e solo direttamente sulla solubilità dei gas.

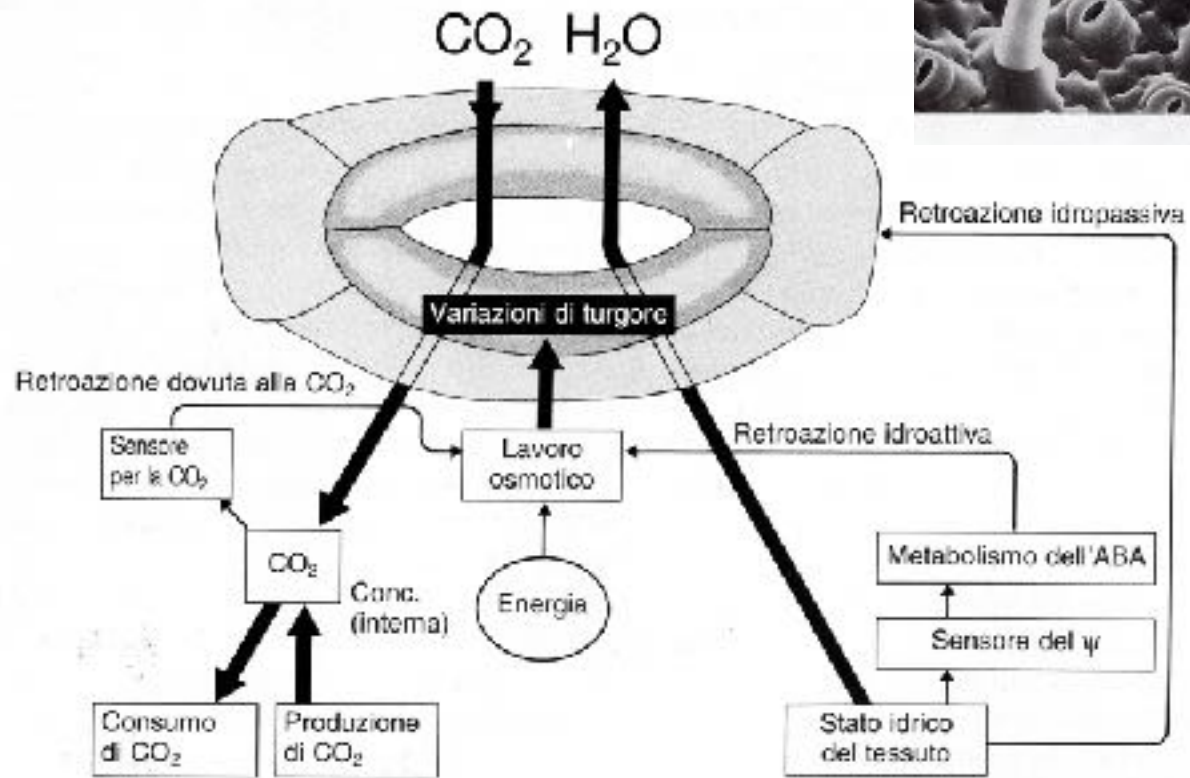
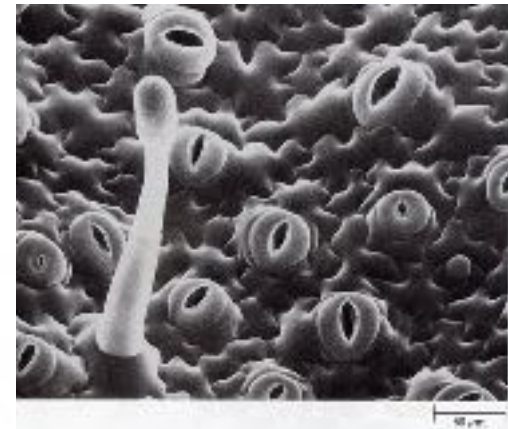
Conta anche l’acqua.

Sul pianeta il clima varia molto, specialmente in senso latitudinale dall’equatore ai poli. Abbiamo climi che variano da caldi e aridi, in particolare nei deserti, ai climi tropicali, caldi ma con abbondanza d’acqua, ai climi temperati, come il nostro, ove raramente hanno eventi di eccessiva aridità, a climi continentali freddi come quelli del nord Europa.

La disponibilità idrica, combinata con la temperatura, è un’altro fattore importante per l’equilibrio tra fotorespirazione e ciclo di Calvin.



# Gli stomi



Modello di sistema di retroazione che interviene nel controllo dei movimenti di apertura degli stomi. I sensori per la concentrazione di  $\text{CO}_2$  e per il potenziale idrico fogliare ( $\psi$ ) sono situati nelle cellule stomatiche. ABA: acido abscissico (da RASCHKE).





Le piante si trovano costrette a gestire anche la quantità d'acqua che hanno a disposizione.

Se vi è abbondanza d'acqua, tenere gli stomi aperti anche a alte temperature non è un grosso problema, visto che le perdite possono essere compensate facilmente.

Tuttavia, in condizioni di scarsa disponibilità idrica o comunque quando l'evapotraspirazione non riesce a essere compensata, le piante si trovano costrette a chiudere gli stomi durante porzioni del giorno, o per l'intera giornata, per evitare perdite letali di acqua.

Tuttavia, la fotosintesi non si ferma, causando un aumento della concentrazione dell'ossigeno, e una diminuzione della concentrazione di anidride carbonica. A stomi chiusi non vi è ricambio dell'aria arricchita di ossigeno della foglia, con conseguente incremento della fotorespirazione, e consumo di energia per ripristinare gli intermedi di reazione del ciclo di Calvin.

Per questo, in alcuni gruppi di piante si sono evoluti metabolismi additivi al ciclo di Calvin, detto C<sub>3</sub>. Questi sono i metabolismi C<sub>4</sub> e CAM.





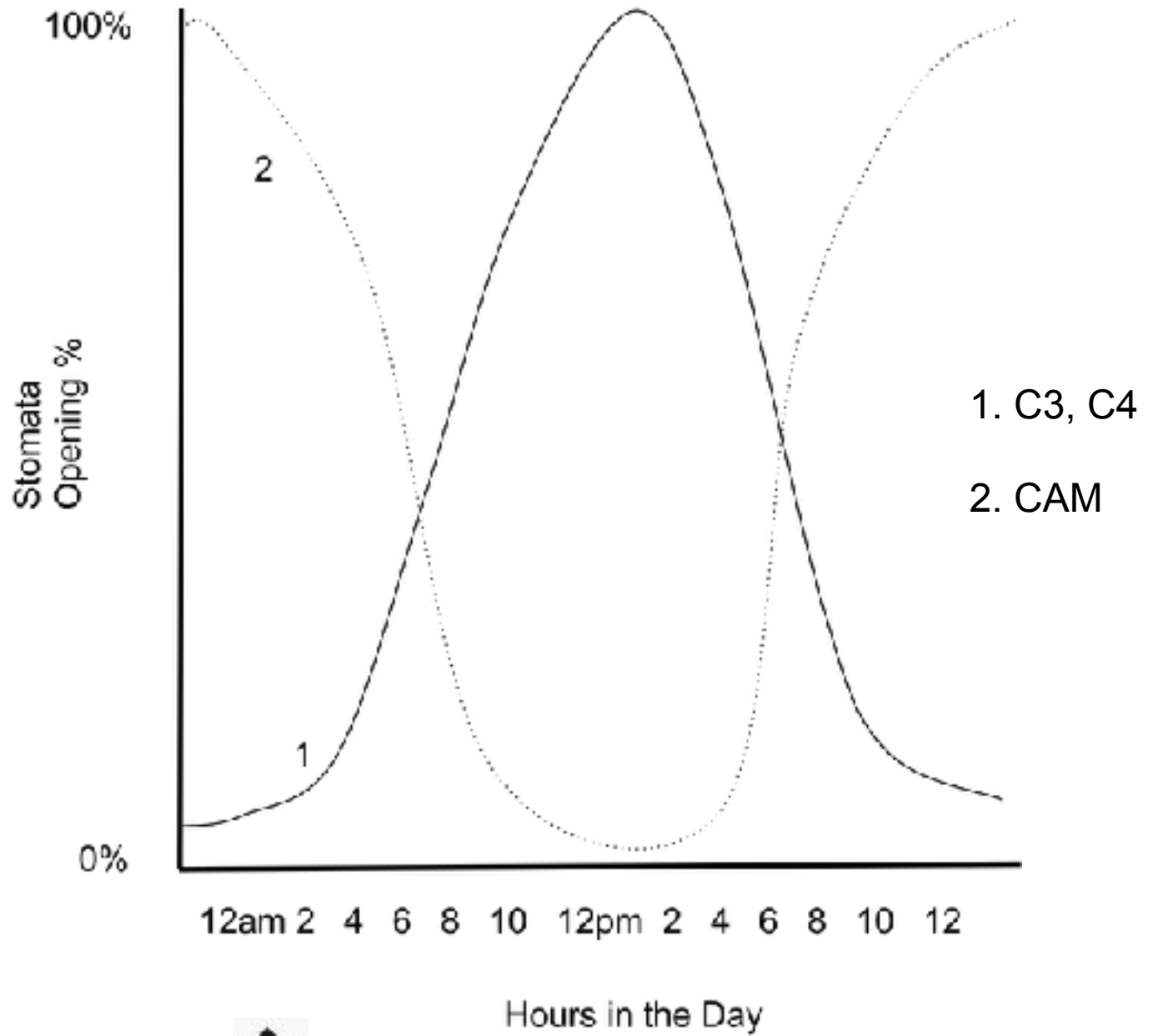


Le piante "CAM" aprono i loro stomi di notte, quando, negli ambienti in cui vivono, fa più freddo, e quindi l'acqua evapora più lentamente, e fissano l'anidride carbonica in composti a 4 atomi di carbonio che vengono conservati in grandi vacuoli.

Di giorno chiudono gli stomi e rilasciano l'anidride carbonica, saturando la RuBisCO e limitando la fotorespirazione. Questo metabolismo è fortemente limitato dalla capacità di immagazzinare carbonio nei vacuoli, e risulta quindi vantaggioso solo in ambienti con forte limitazione di disponibilità idrica.

Le altre piante (C3, C4) apre gli stomi durante il giorno, in risposta all'intensità della luce, l'umidità e la concentrazione di anidride carbonica.







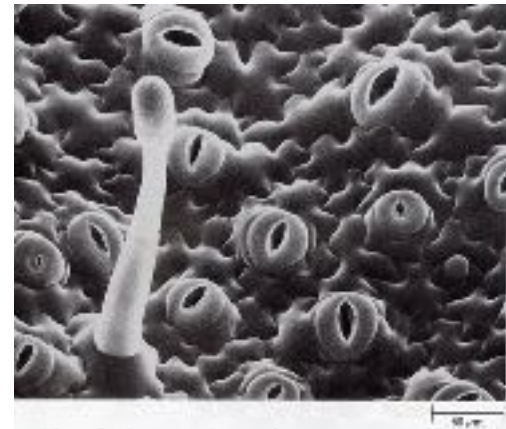
Nelle piante C3 e C4, quando le condizioni sono favorevoli all'apertura (ad esempio, elevata intensità di luce e alta umidità), una pompa protonica favorisce la fuoriuscita di protoni ( $H^+$ ) dalle celle di guardia, con conseguente negativizzazione del potenziale elettrico. Questo fa aprire canali voltaggio-dipendenti per il potassio ( $K^+$ ).

Per mantenere questa tensione negativa, anioni bilanciano l'afflusso di potassio. L'aumento della concentrazione di soluto abbassa il potenziale idrico della cellula, con conseguente afflusso d'acqua per osmosi, e aumento di volume e della pressione del turgore.

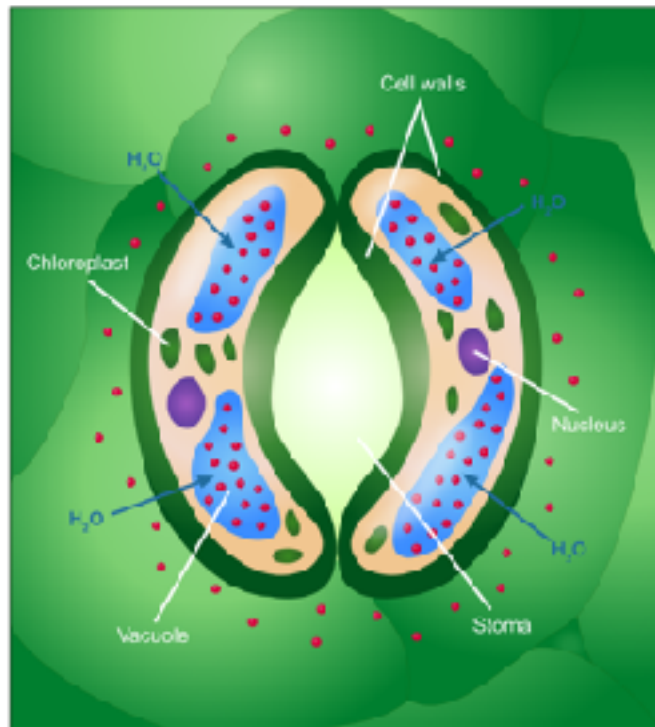
Quindi, a causa degli anelli di microfibrille di cellulosa che impediscono un aumento in larghezza, e al fatto che le estremità delle cellule di guardia sono tenute saldamente in posizione dalle cellule epidermiche circostanti, queste possono solo incurvarsi, creando un poro attraverso il quale i gas possono entrare e uscire dalla cellula.





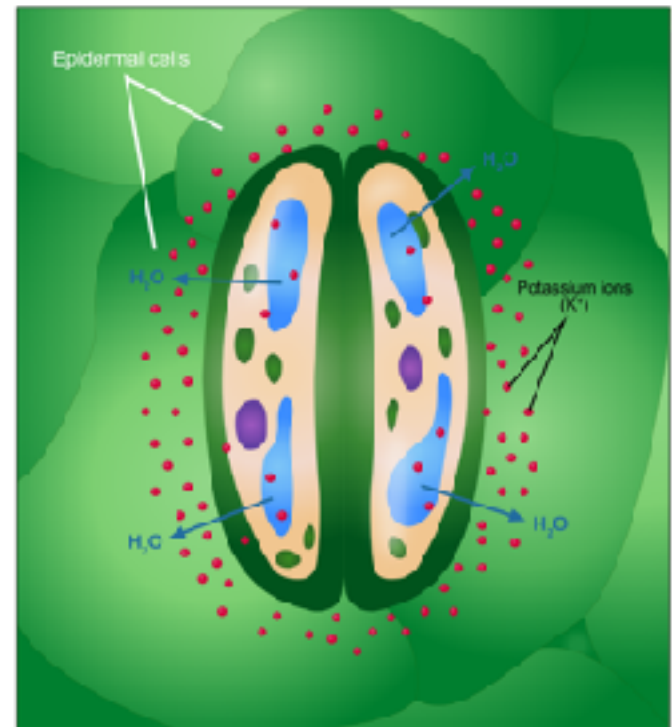


**Guard cells (swollen)**



**Stoma opening**

**Guard cells (shrunken)**



**Stoma closing**



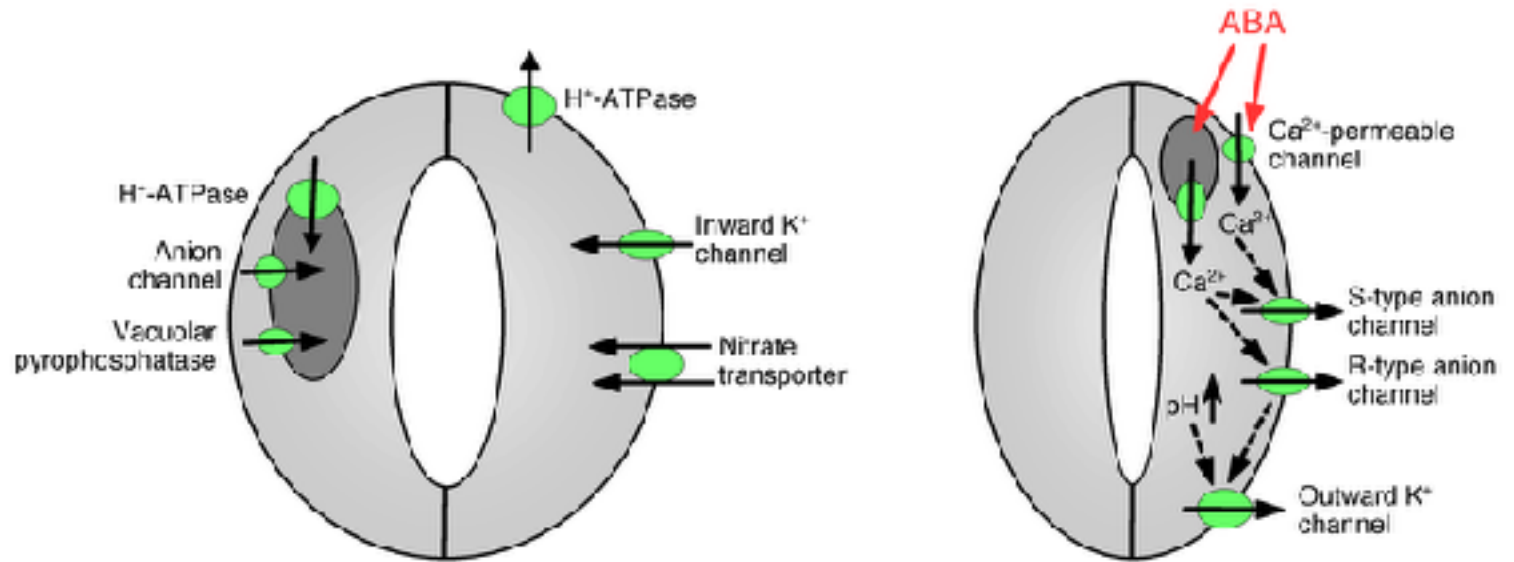
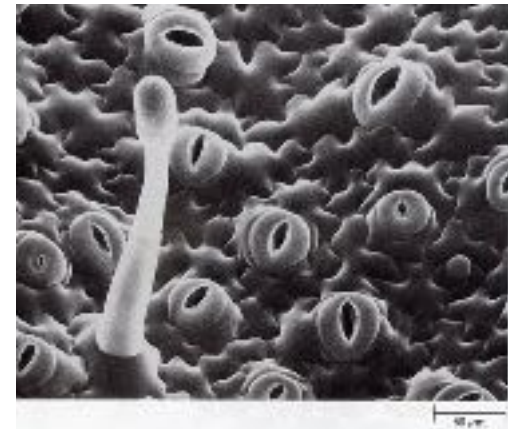


Quando le radici iniziano a percepire una carenza d'acqua nel terreno viene rilasciato acido abscissico (ABA).

Questo si lega alle proteine recettrici nella membrana plasmatica e del citosol delle cellule di guardia. Questo porta a un aumento del pH del citosol, e fa aumentare la concentrazione di ioni calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) liberi nel citosol tramite afflusso dall'esterno della cellula, e rilascio da depositi interni, come il reticolo endoplasmatico e i vacuoli.

Questo arresta l'assorbimento di ioni potassio ( $\text{K}^+$ ) e, successivamente, la perdita di  $\text{K}^+$ . La conseguenza è un aumento del potenziale idrico, che si traduce nella diffusione dell'acqua fuori dalla cellula per osmosi, che si traduce nella chiusura dei pori stomatici.



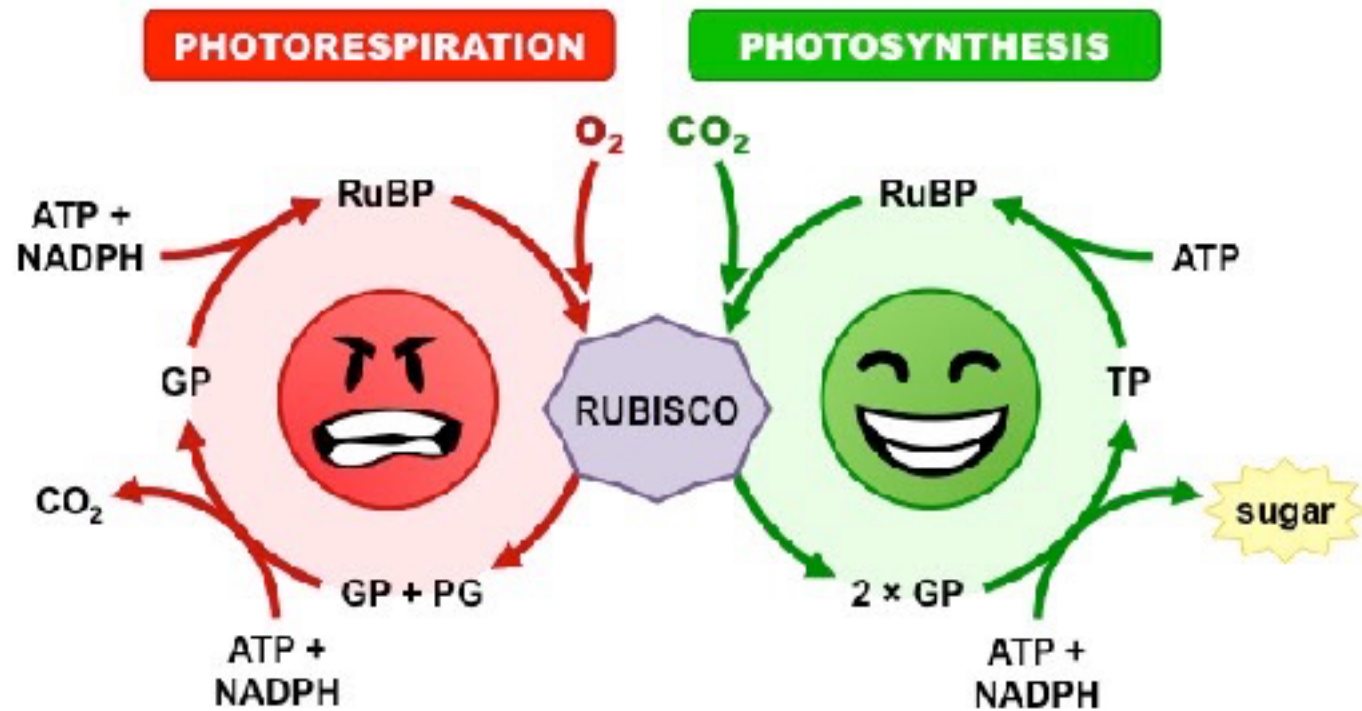






# Fotosintesi C3, C4 e CAM







La estrema variabilità delle condizioni ambientali sul pianeta ha spinto le piante ad adattarsi per prosperare in ambienti diversi, sviluppando adattamenti che incrementassero l'efficienza fotosintetica anche in condizioni ove la fotorespirazione renderebbe la strategia C3 limitante, o addirittura inadatta alla sopravvivenza. Per questo si sono evoluti dei metabolismi aggiuntivi al classico ciclo **C3**, denominati **C4** e **CAM**.

La fotosintesi nelle piante **C4** prevede una **separazione spaziale** della fase luminosa da quella oscura, separazione che consente il “distanziamento” della fotolisi dell'acqua dal ciclo di Calvin.

Le piante **CAM** invece operano una **separazione temporale** tra la cattura dell'anidride carbonica (di notte) e la fotosintesi (di giorno), con conseguente possibilità di tenere gli stomi chiusi durante tutto il giorno.





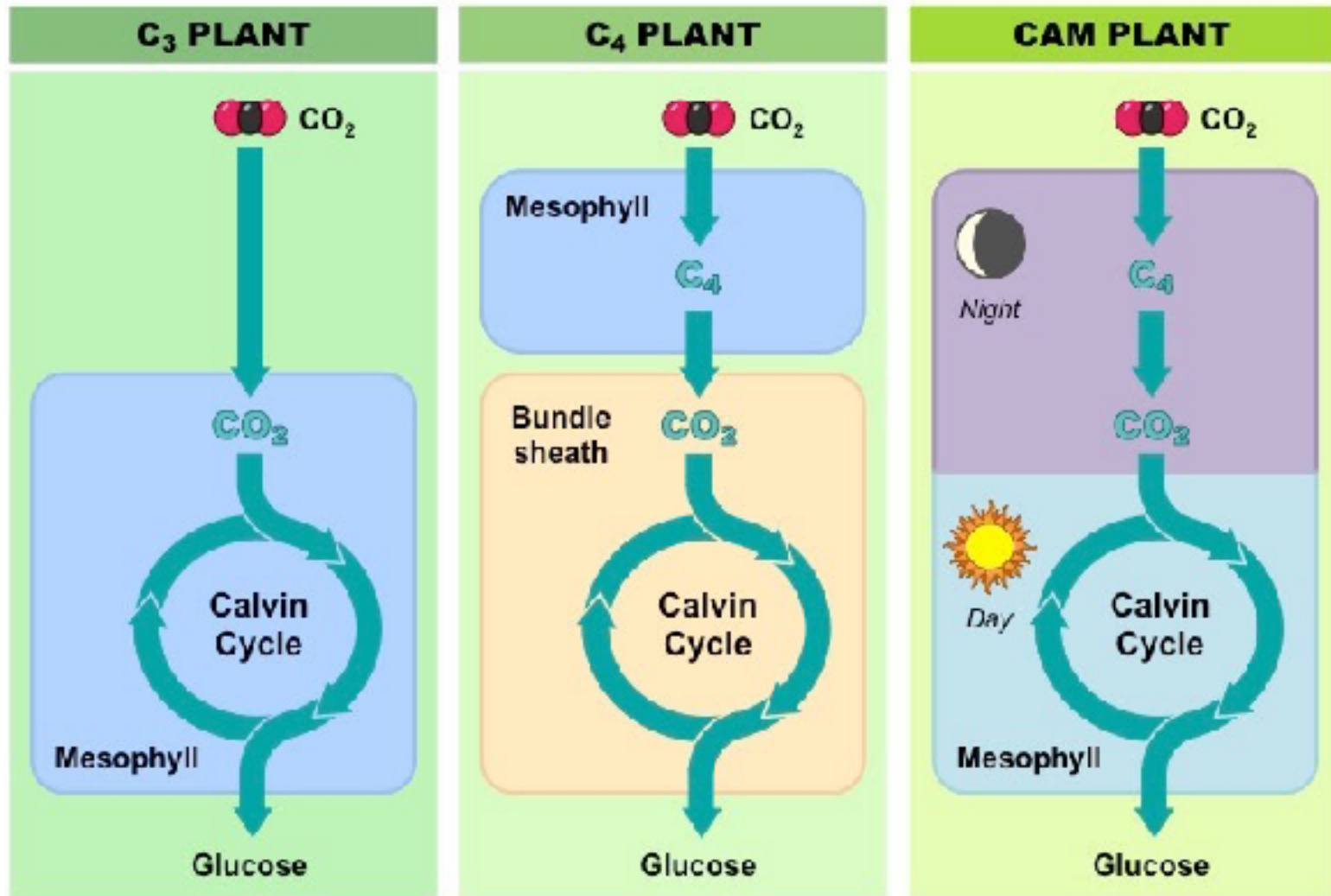


Si tratta di adattamenti fisiologici di piante che vivono in ambienti caratterizzati in genere da forte irraggiamento luminoso e temperature elevate.

Introducendo delle fissazioni temporanee pre-Ciclo di Calvin, alcune specie hanno raggiunto:

- i più elevati ratei fotosintetici (piante C4);
- il più efficiente uso dell'acqua (piante CAM).









# Comparison of C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, and CAM plants

C3 plants	C4 plants	CAM plants
Most plants	Tropical grasses like corn, sugarcane	Succulents, pineapple, agave
Fix carbon in Calvin cycle - attach CO <sub>2</sub> to RuBP	Fix carbon in cytoplasm - attach CO <sub>2</sub> to PEP	Fix carbon at night only, fix it to organic molecules
Enzyme - Rubisco	Enzyme - PEP-ase	Enzyme - PEP-ase
Most energy efficient method	1/2 way between these two	Best water conservation
Loses water through photorespiration	Loses less water ←→	Loses least water





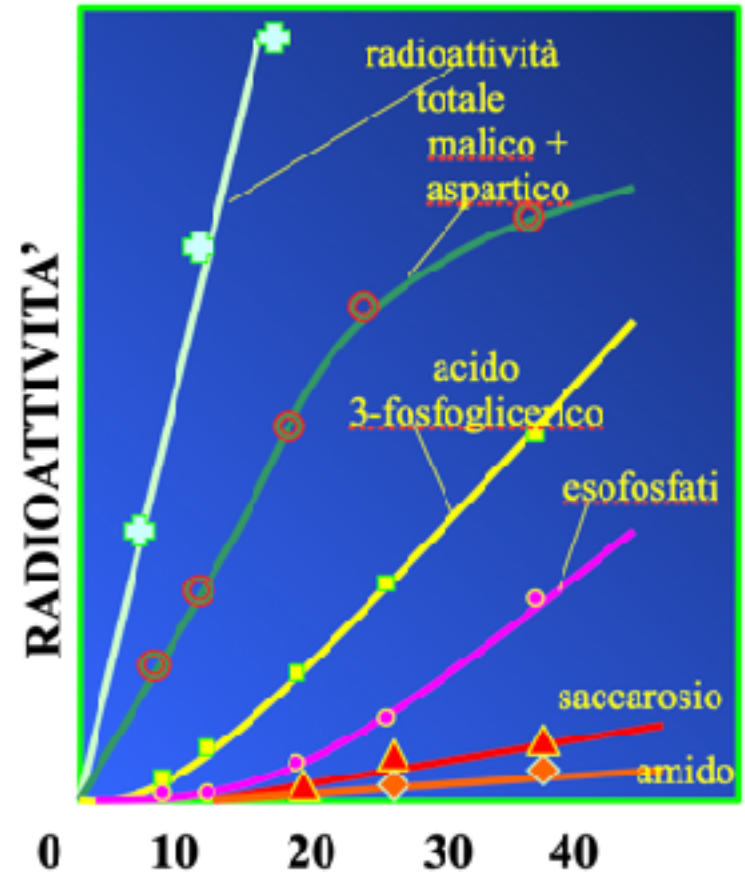
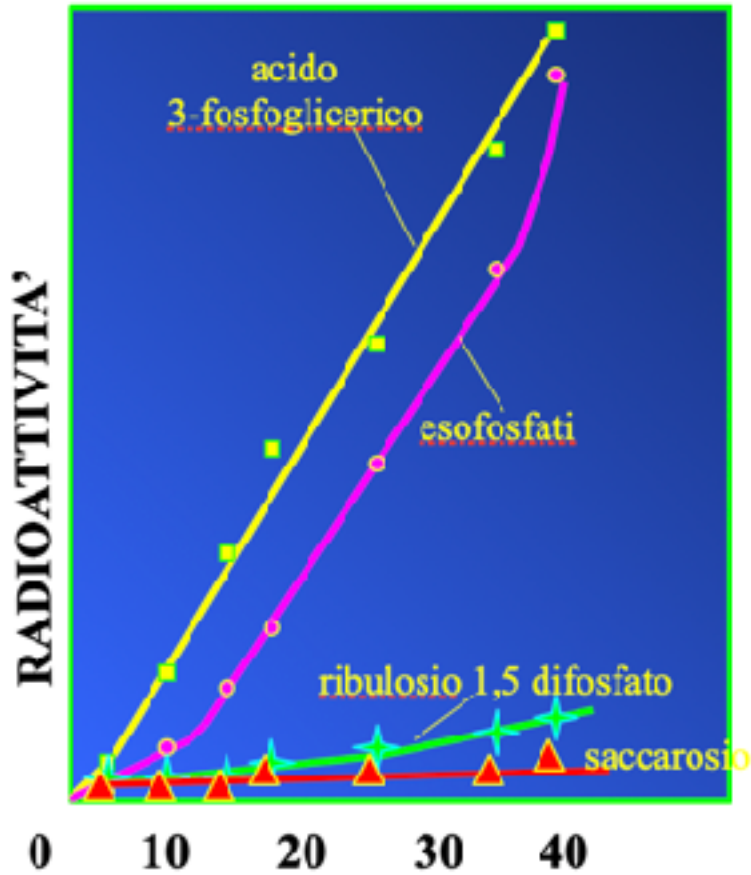


# Fotosintesi nelle piante C4





Il loro primo prodotto di fissazione (temporanea) della  $\text{CO}_2$  è un acido organico a 4 atomi di carbonio anziché acido 3-fosfoglicerico.





Se compariamo i prodotti che si formano dopo una breve esposizione a CO<sub>2</sub> radioattiva in una pianta che possiede solo il ciclo di Calvin (*Chlorella*, un'alga unicellulare) e in una pianta C<sub>4</sub> (canna da zucchero), noteremo che in *Chlorella* il primo prodotto fotosintetico che compare, già dopo un'esposizione brevissima alla CO<sub>2</sub> radioattiva è l'acido 3-fosfoglicerico.

Al contrario, nella canna da zucchero compaiono per primi gli acidi malico e aspartico.

Questi derivano dalla fissazione provvisoria della CO<sub>2</sub> ad opera della PEP carbossilasi.

Saccarosio e amido, i prodotti finali della fotosintesi compaiono notevolmente più tardi in entrambi i casi. Il comportamento di tutte le piante C<sub>3</sub> è simile a quello di *Chlorella*.









La via metabolica **C4**, o di **Hatch–Slack**, si è evoluta indipendentemente diverse volte. Le piante **C4** quindi non sono un clade monofiletico tra le piante.

Questa via metabolica si è evoluta, stando alle ultime evidenze, 62 volte diverse in 19 diverse famiglie di mono- e dicotiledoni.

Il nome di questa via metabolica deriva dal nome dei due ricercatori che nel 1966 ne chiarirono gli aspetti: Marshall Davidson Hatch, e Charles Roger Slack.

Il fatto di essersi evoluto diverse volte da piante C3, ha fatto sì che, nonostante la strategia rimanga la stessa in tutte le piante C4, vi siano diverse varianti.





## Quali sono le piante C4?

Solo un numero ridotto delle 250.000 angiosperme sono piante C4.

Si trovano ad esempio tra le Poaceae e le Chaenopodiaceae, indicando una origine polifiletica, che è relativamente recente (10 milioni di anni fa...).

Le graminacee C4 sono in buona parte erbe tropicali (tra cui il “nostro” **mais**, **la canna da zucchero**, **il sorgo**, ma anche molte “malerbe” dei nostri campi...).

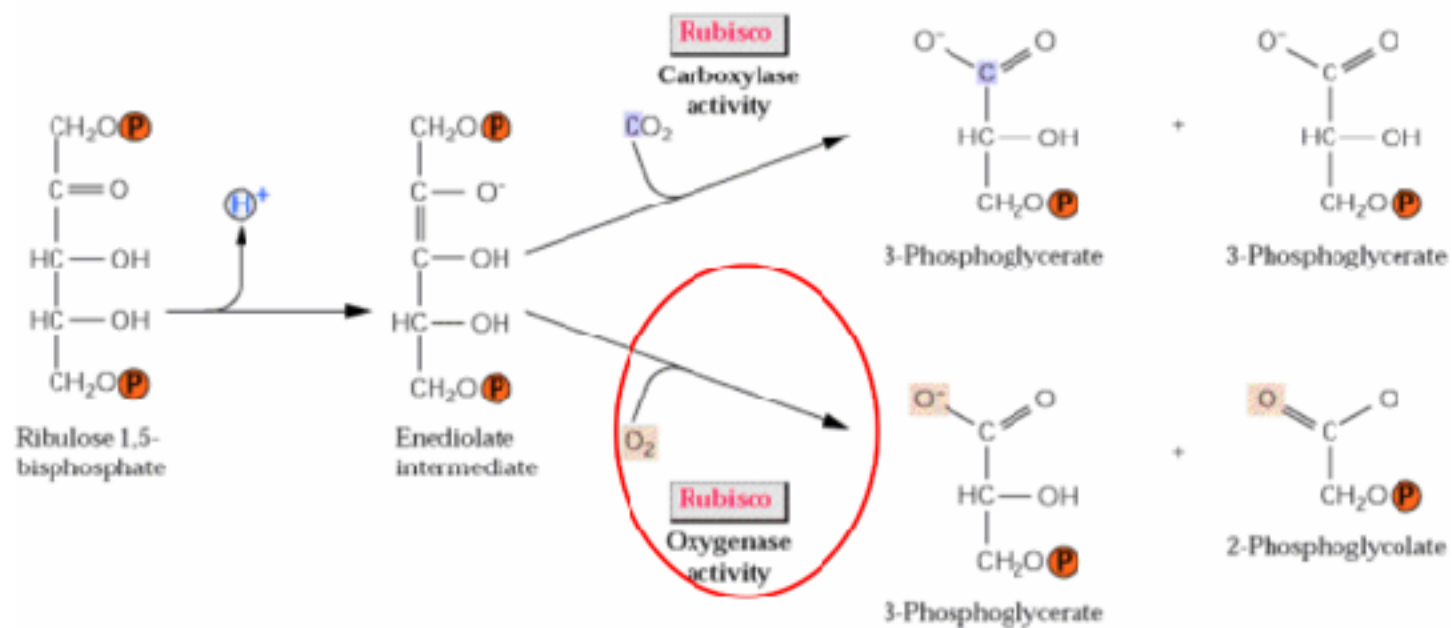
Le Chenopodiaceae C4 sono in gran parte piante che vivono sulle spiagge o nelle depressioni saline nei deserti e semideserti.





Canna da zucchero  
*Saccharum officinarum* L.









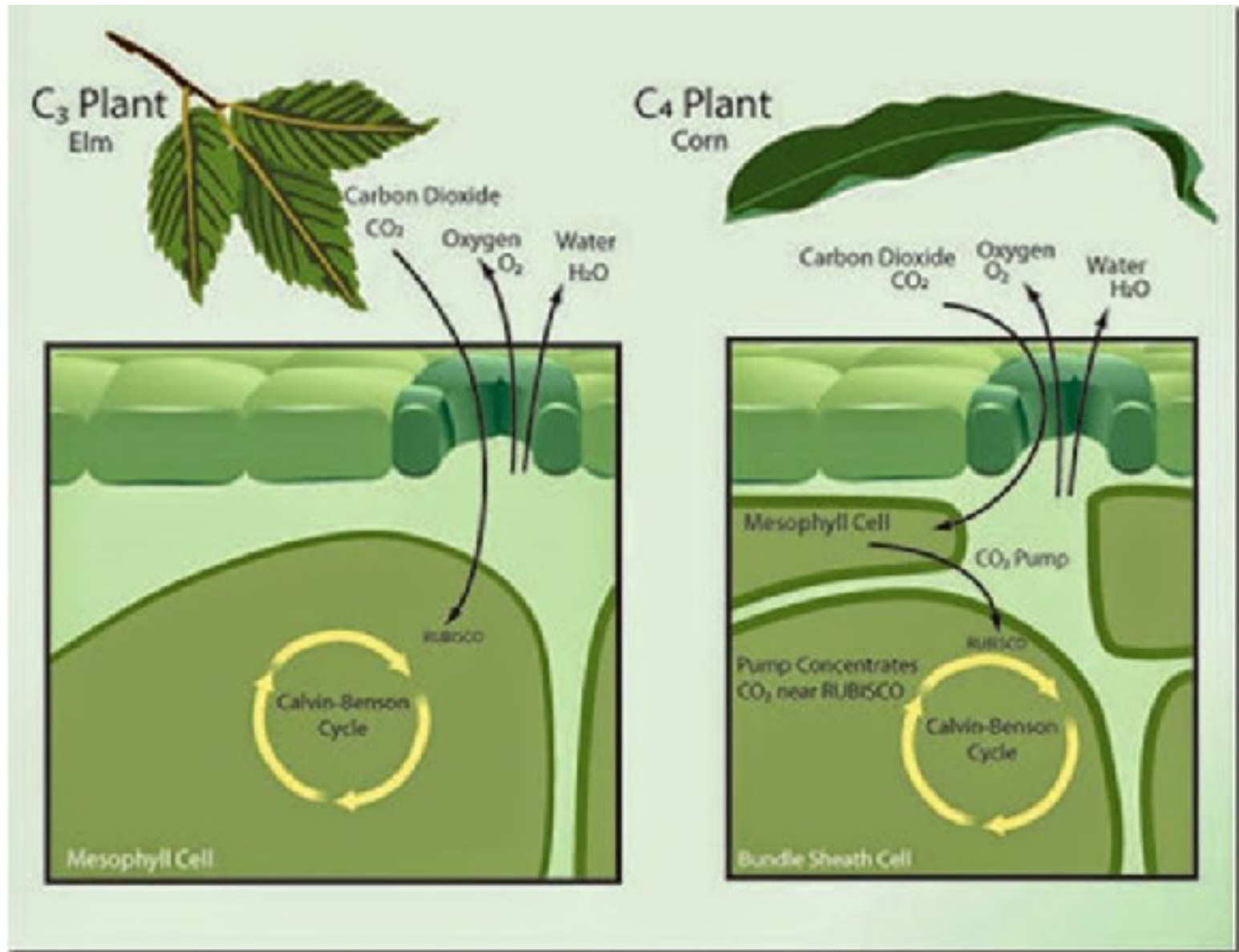
Nelle piante C4 si osserva un meccanismo che incrementa la pressione parziale della  $\text{CO}_2$  in alcune cellule specializzate, in modo da ottimizzare l'attività carbossilasica della RuBisCO.

A monte del ciclo di Calvin compare infatti una precedente fissazione provvisoria di  $\text{CO}_2$ , per opera di un enzima particolare (nelle cellule del mesofillo), cui segue (in un diverso distretto, le cellule della guaina del fascio) la fissazione definitiva di  $\text{CO}_2$ .

Il tutto avviene grazie ad una compartimentazione spaziale, in due tipi di cellule diverse, che sono anche provviste di cloroplasti con ultrastruttura diversa, e quindi con funzioni diverse.

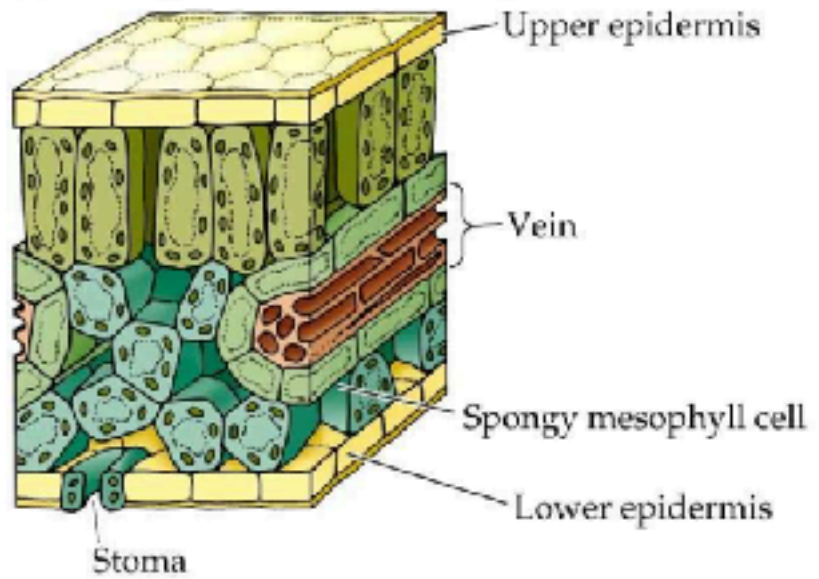




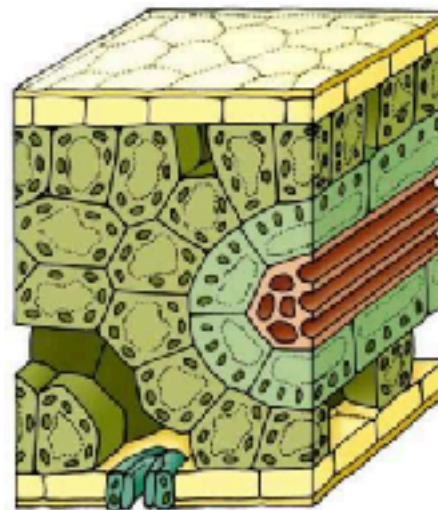




(a) Arrangement of cells in a  $C_3$  leaf



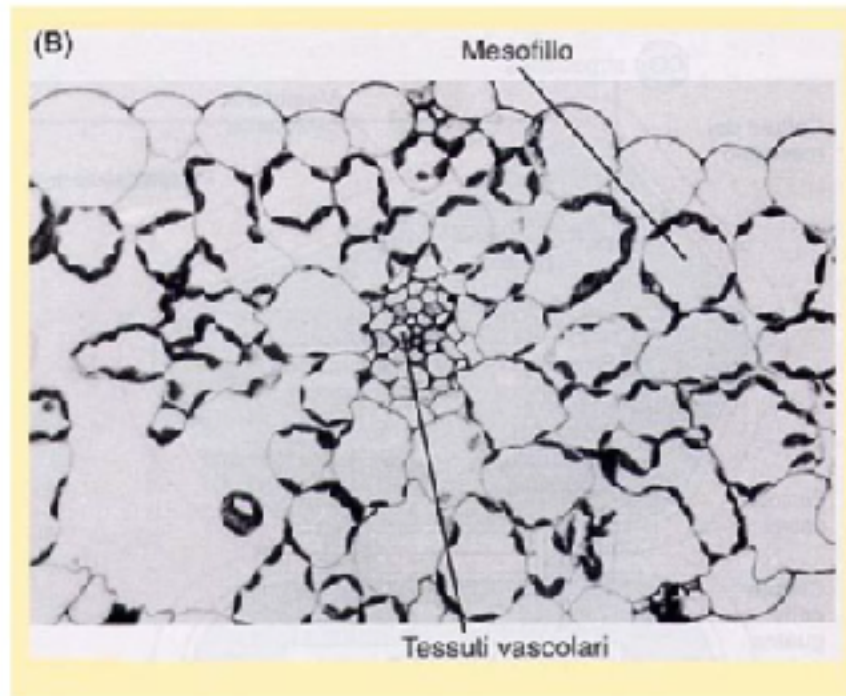
(b) Arrangement of cells in a  $C_4$  leaf



## Anatomia Kranz



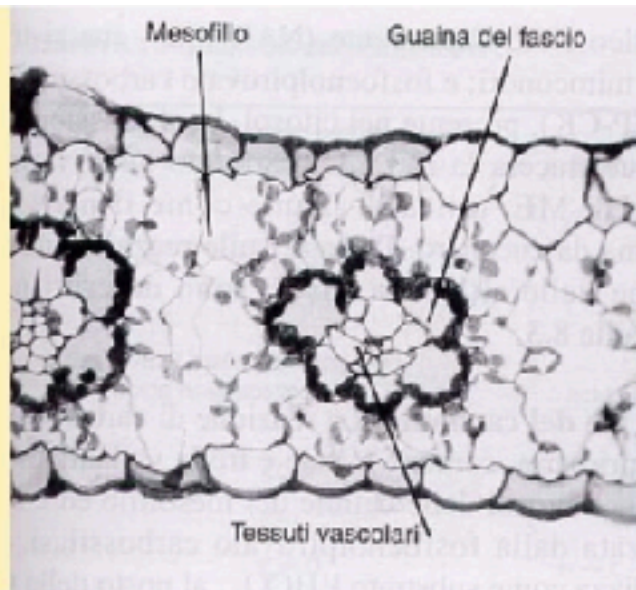




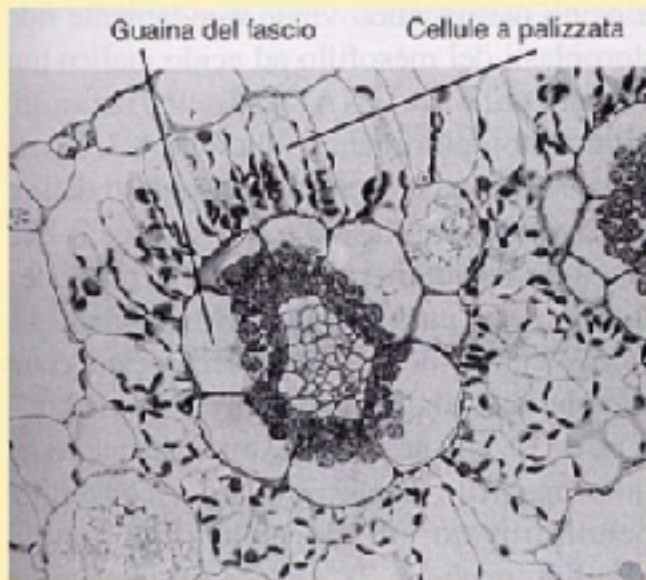
## ***Avena sativa* (C3)**







*Zea mays* (C4)  
monocotiledone

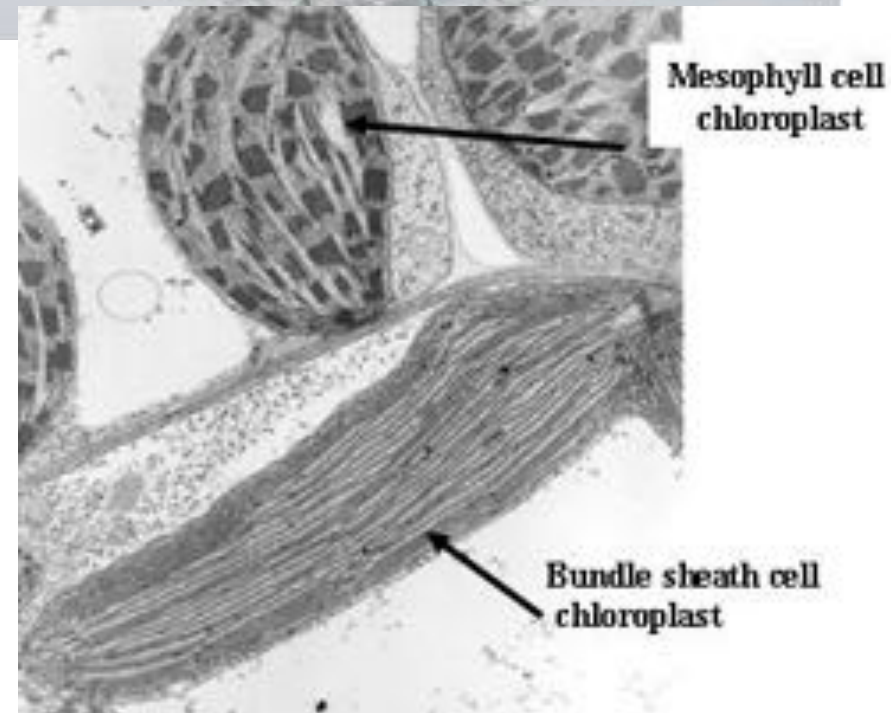


*Gomphrena* (C4)  
dicotiledone





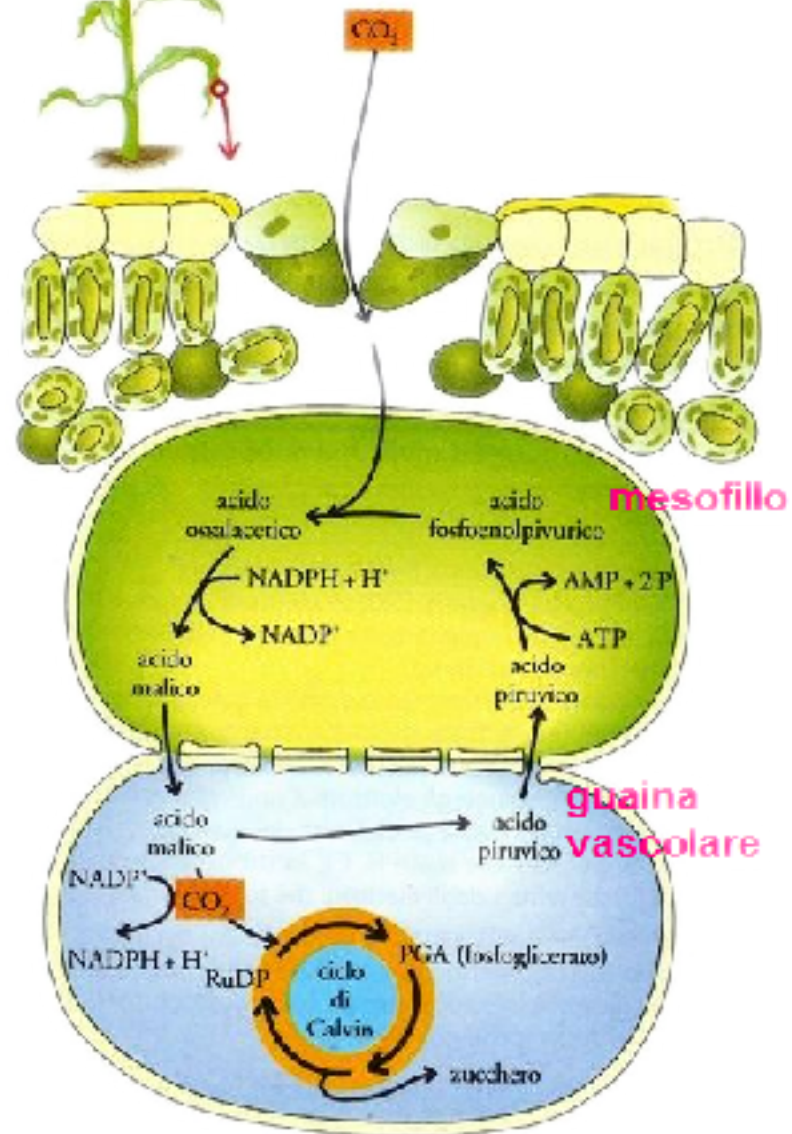
Le cellule della guaina del fascio contengono (spesso) cloroplasti senza grana e pieni di granuli d'amido. Questi cloroplasti non contengono il PS II (questo fotosistema è localizzato nei tilacoidi dei grana che qui mancano).







## Serie di reazioni per la fissazione del carbonio nelle piante C4







**Il bello del mondo reale:  
é QUASI sempre così, ma....**





*Flaveria brownii*  
Asteraceae

Questa pianta è sia una C3 che una C4. A seconda della quantità di luce, si comporta più come una C3 o più come un C4. Questo dimostra che il passaggio da C3 a C4 non è troppo complesso, motivo per cui è avvenuto diverse volte nella storia evolutiva delle piante.





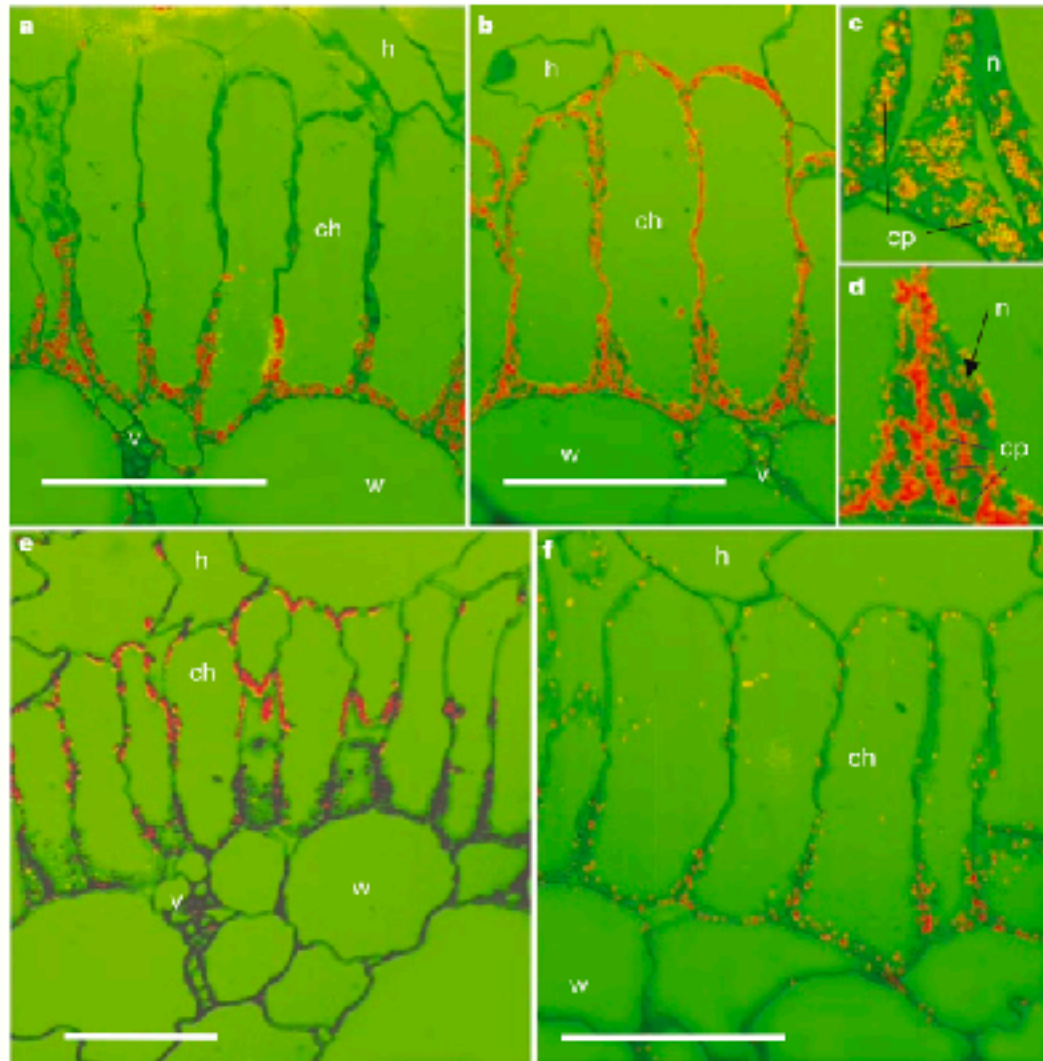
Un altro caso interessante è quello di *Suaeda* (*Borszczowia*) *aralocaspica*, una Amaranthacea che è nota per i deserti dell'Asia centrale.

In questa piante abbiamo fotosintesi C4 senza anatomia Kranz. Questo è un caso affascinante, in cui assistiamo a una compartimentazione all'interno della stessa cellula, anziché in cellule diverse.

Uno studio ha infatti evidenziato come i diversi enzimi coinvolti nella fotosintesi si distribuiscano in modo ineguale all'interno della stessa cellula. Inoltre, vi sono due diversi tipi di cloroplasti, e diversi organuli seguono la compartimentazione all'interno della cellula.







**Figure 2** Immunolocalization of photosynthetic enzymes in leaves of *Berceaeae arefocaspica* by confocal laser scanning microscopy. Immunolocalization of Rubisco (a), PEP carboxylase (b), higher magnification showing Rubisco in chloroplasts in proximal end of cell (c), higher magnification showing PEP carboxylase in cytosol (d), pyruvate, Pi

dikinase (e) and NAD-malic enzyme (f). Red dots indicate where the enzyme is present. cp, chloroplast; ch, chlorenchyma cell; h, hypodermal cell; n, nucleus; v, vascular tissue; w, water storage cell. Scale bars, 50 μm.

