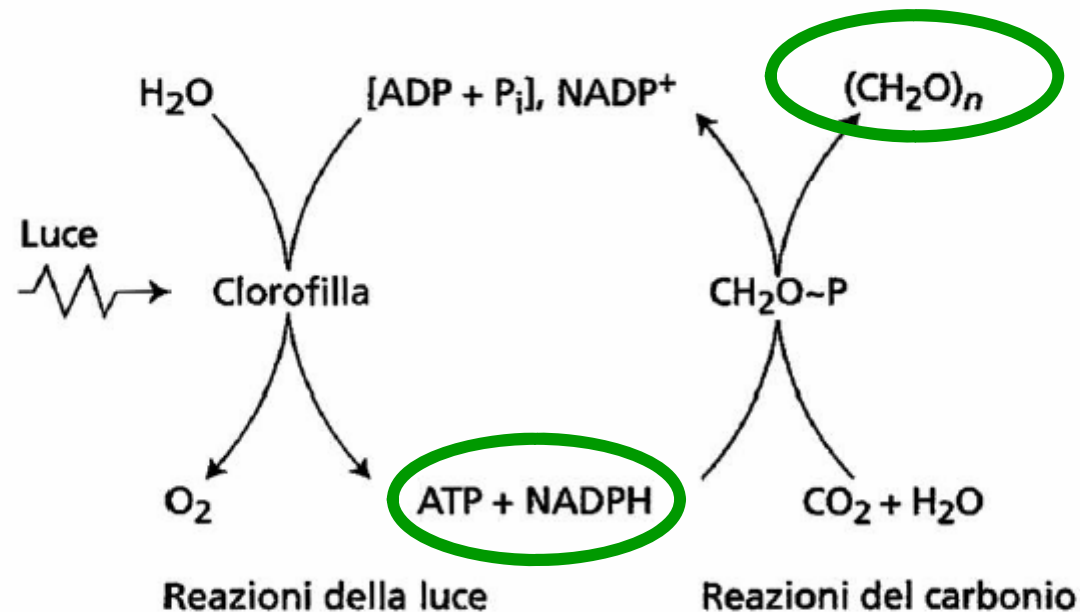


## La fase “luminosa” della fotosintesi

- **Due fotosistemi** in serie sono operanti nelle alghe fotosintetiche e nelle piante.
- Localizzati nella membrana dei tilacoidi.
- Complesso proteico transmembrana, costituito da pigmenti antenna, centro di reazione e i trasportatori di elettroni.
- L'evento fondamentale consiste nel trasferimento di un elettrone eccitato.
- Tre complessi proteici PSII, citocromo b6f e PSI, collegati da plastochinone e plastocianina.
- Ciascuno dei fotosistemi è una **catena di trasporto di elettroni**, in cui avvengono una serie di ossidoriduzioni.
- La **fonte ultima di elettroni è la molecola d'acqua, l'accettore terminale il NADP<sup>+</sup>**.
- **Protoni** vengono rilasciati nel lume del tilacoide in due punti.
- Si forma quindi un gradiente protonico, che produrrà ATP.
- **ATP e NADPH** serviranno a produrre **carboidrati** nella fase “oscura”.

# Fissazione e riduzione della CO<sub>2</sub>

L'energia assorbita e la capacità di riduzione sono utilizzate per la riduzione della CO<sub>2</sub> in carboidrato di alto valore energetico.



Questa reazione si realizza nello stroma del cloroplasto

Nelle reazioni della **fissazione del carbonio**, definita anche **organicazione del carbonio**: l'anidride carbonica viene legata ad una preesistente molecola di carboidrato e ridotta a formare un nuovo carboidrato (con un atomo di carbonio in più), grazie all'energia dall'ATP e l'idrogeno dal NADPH, prodotti dalle reazioni della cattura energetica.

*Il carbonio viene "fissato": si ha l'incorporazione di un gas (la  $CO_2$ ) in una molecola "fissa", solida.*

*Si parla invece di **organicazione** perché l'anidride carbonica viene trasformata nella materia organica dei carboidrati.*

**CICLO DI CALVIN-BENSON (1940-1950)**  
**o CICLO C-3**



Che bisogno hanno di arrivare fino alla formazione dei carboidrati?

due motivi principali:

**1. ATP e NADPH hanno una vita breve.**

Il loro alto contenuto energetico le rende estremamente instabili, devono essere "spese" rapidamente, subito dopo essere state "guadagnate"

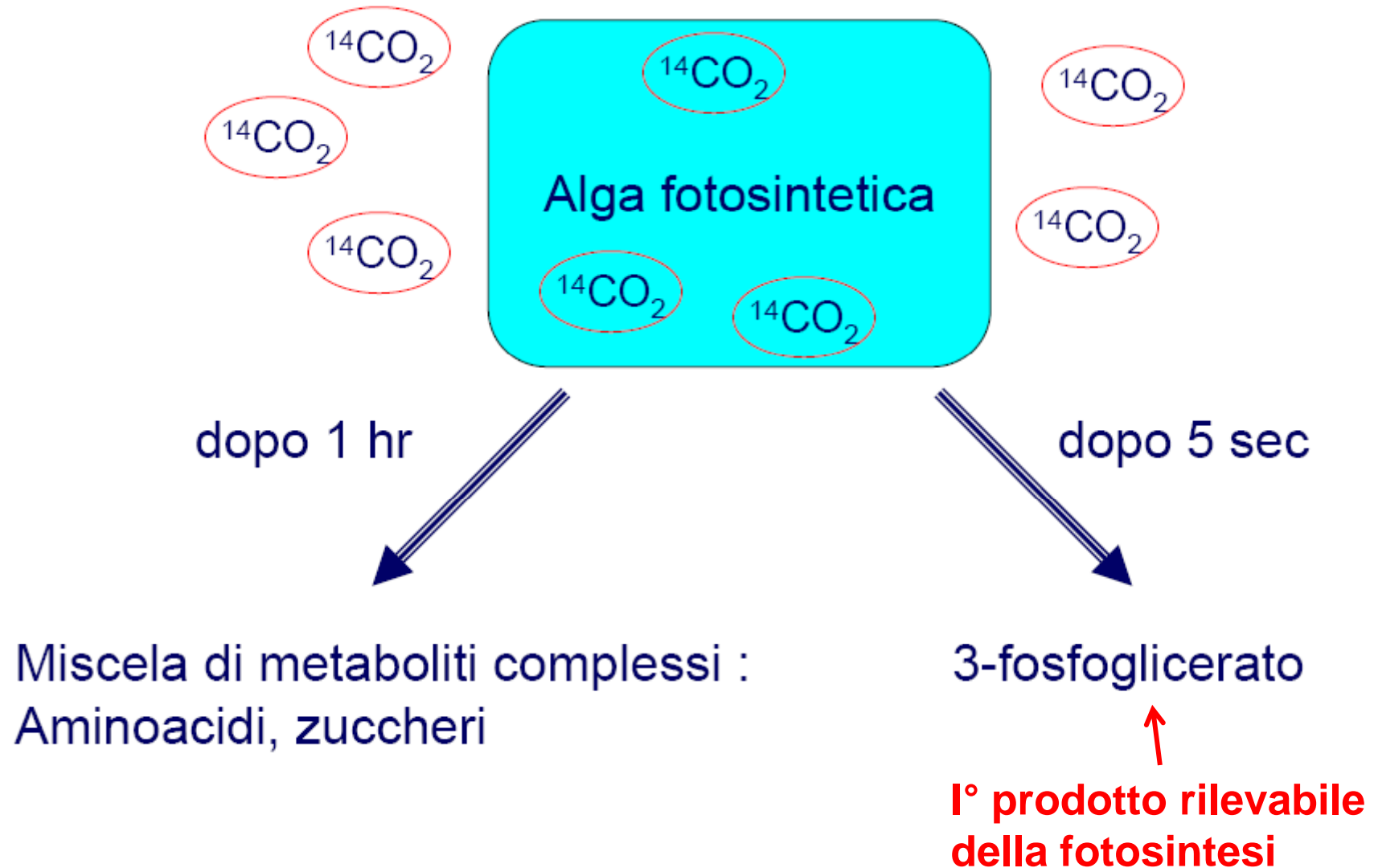
**2. I carboidrati accumulati** sono molecole stabili ,

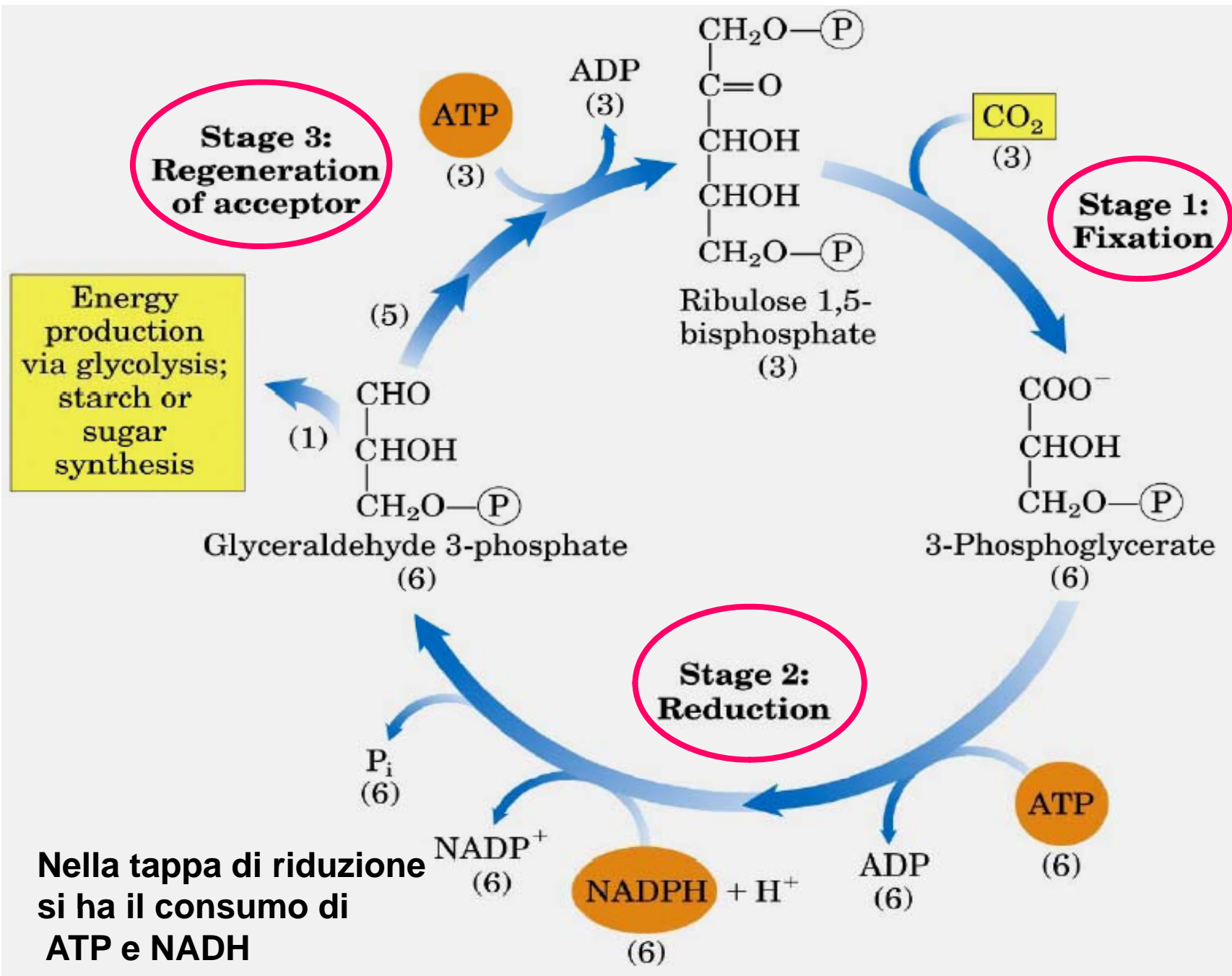
possono durare nel tempo o essere rapidamente convertiti in energia

**costituiscono gli scheletri carboniosi** di base per le le molecole organiche necessarie al metabolismo

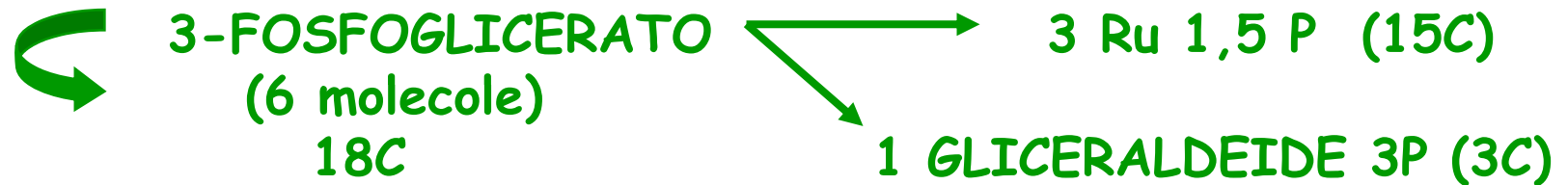
# CICLO DI CALVIN

M. Calvin, J. Bassham, A. Besson 1953





Affinchè tutte le tappe del Ciclo avvengano 1 volta: **3 carbossilazioni**



All'inizio del periodo di illuminazione la + parte dei triosi P è convogliata nel ciclo per consentire una concentrazione adeguata di metaboliti

In seguito, quando la fotosintesi raggiunge lo stato stazionario

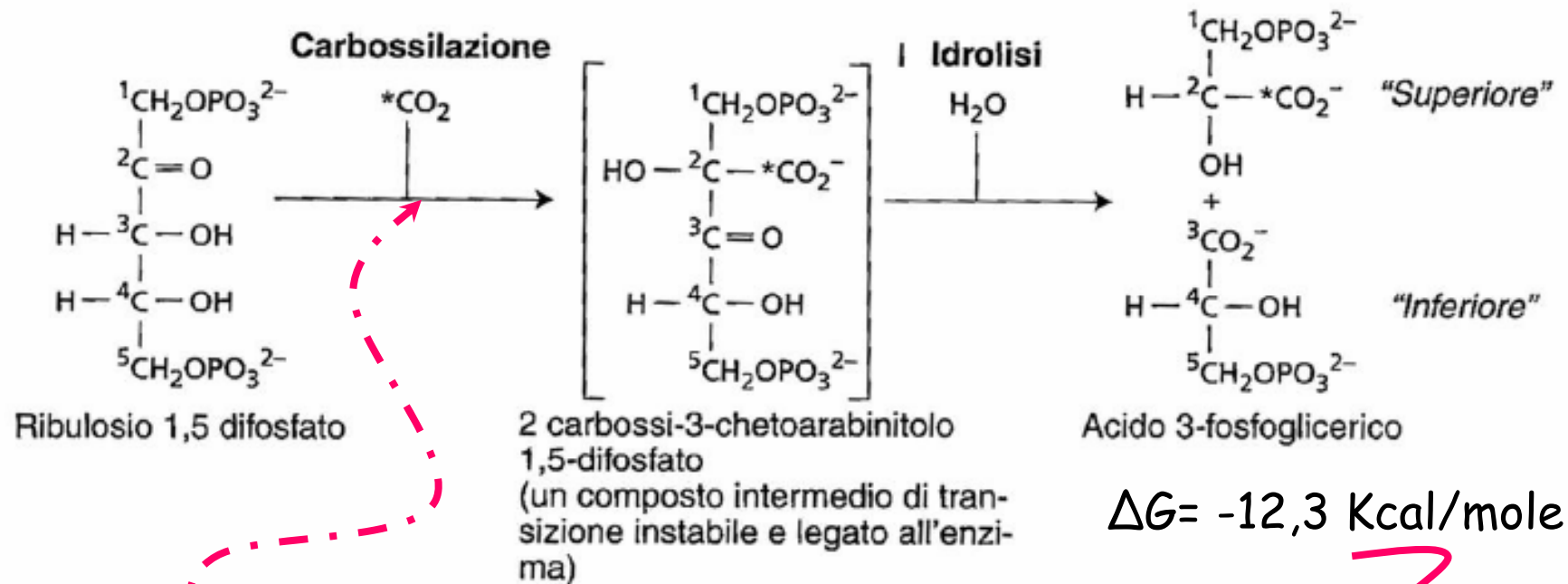
→ La 6<sup>A</sup> molecola di trioso è esportata verso il citosol per la sintesi di saccarosio, amido e altri metaboliti

**Il Ciclo di Calvin** ha la proprietà importante di aumentare la sua velocità all'aumentare dei suoi composti intermedi  
**diventa autocatalitico**

La fissazione di CO<sub>2</sub> avviene dopo un periodo di induzione e la velocità fotosintetica aumenta:

→ *Aumento dei composti intermedi del Ciclo di Calvin*  
*Attivazione degli Enzimi ad opera della luce*

# Carbossilazione



**Enzima RUBISCO** = Ribulosio-Bifosfato-Carbossilasi

$K_m(\text{CO}_2) = 12 \mu\text{M}$

—————> elevata affinità

$K_m(\text{O}_2) = 250 \mu\text{M}$  ;  $K_m(\text{Ru1,5-DP}) = 60 \mu\text{M}$

**E' favorita  
la reazione  
irreversibile**



# RUBISCO

L'enzima che catalizza questa reazione è la **ribuloso bifosfato carbossilasi (Rubisco)**.

Le piante producono quantità enormi di questo enzima:

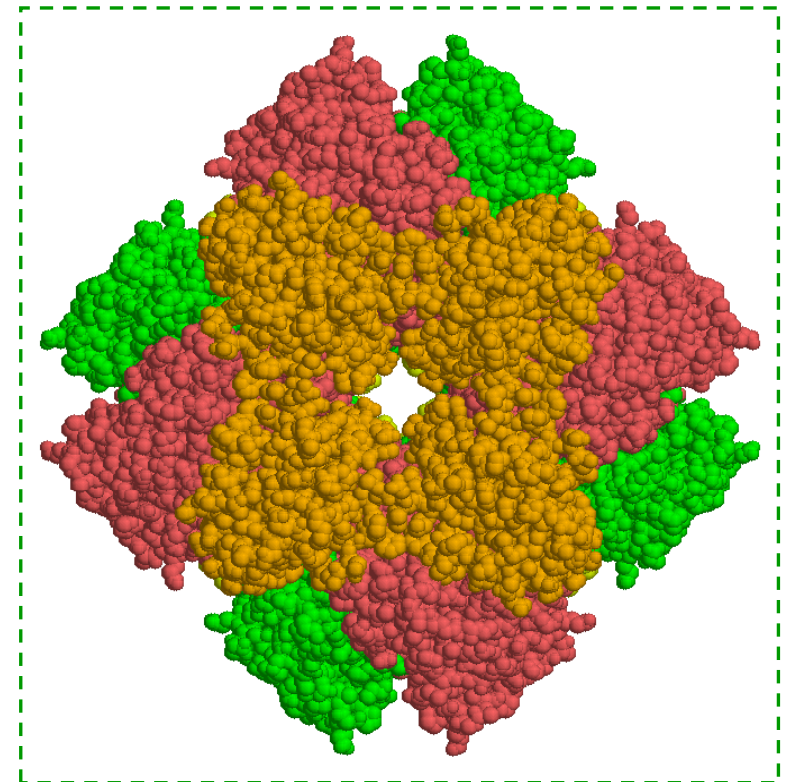
*circa il 25% di tutto il materiale proteico  
presente nei cloroplasti  
ed il 50% di quello dello stroma.*

**la Rubisco è la più abbondante  
proteina presente sulla Terra!**

**M= 660000. Nello STROMA**

**8 subunità grandi (sito attivo) = 56000**

**8 subunità piccole (???) = 14000**

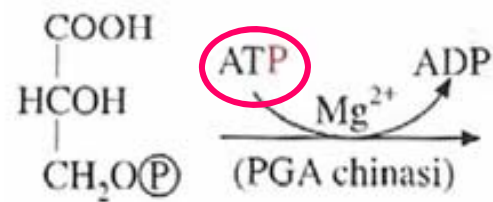


# Riduzione

L'acido carbossilico derivante dalla reazione di carbossilazione e' ridotto ad un carboidrato a 3 atomi di carbonio nella forma di gliceraldeide 3-P

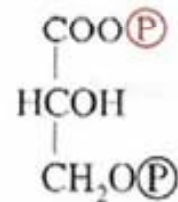
*La riduzione non è diretta.*

si libera Pi



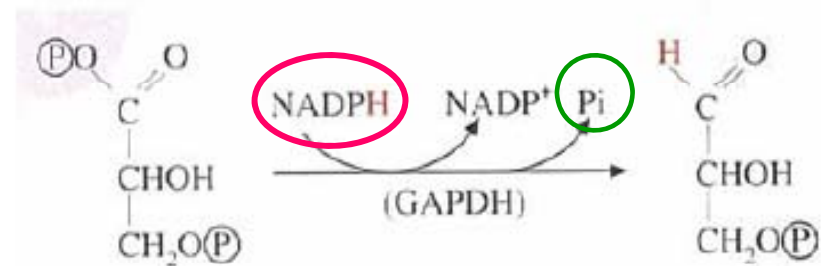
3PGA

Acido  
3PGlicerico



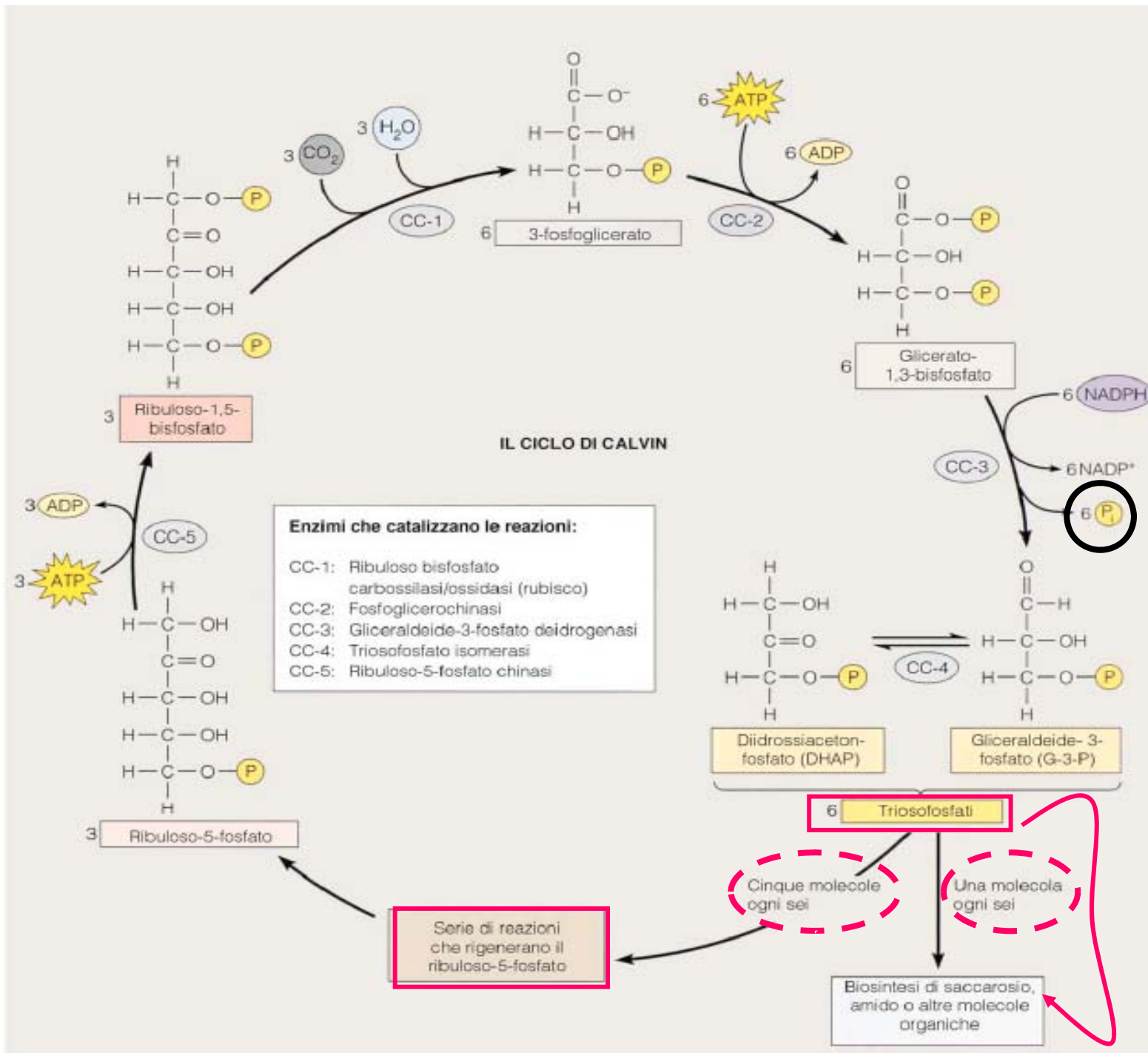
BPGA

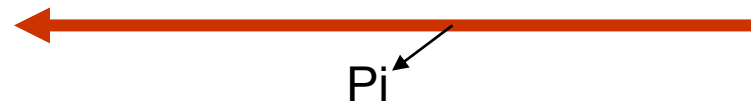
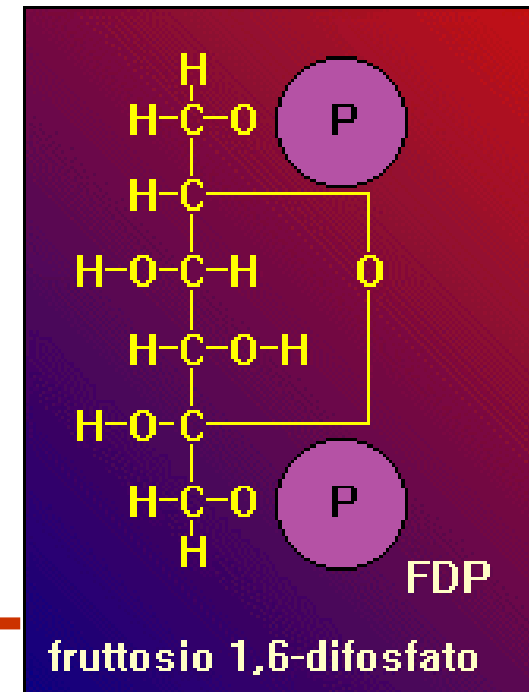
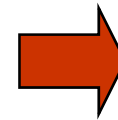
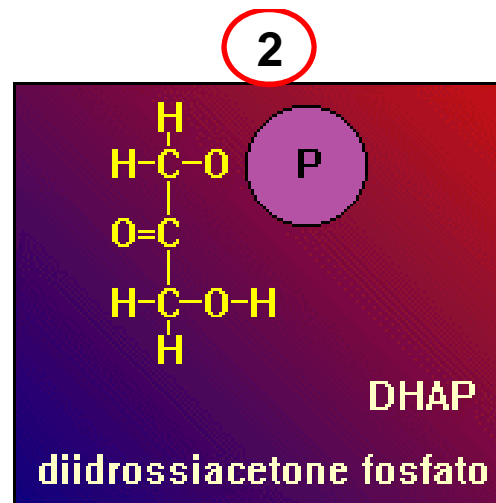
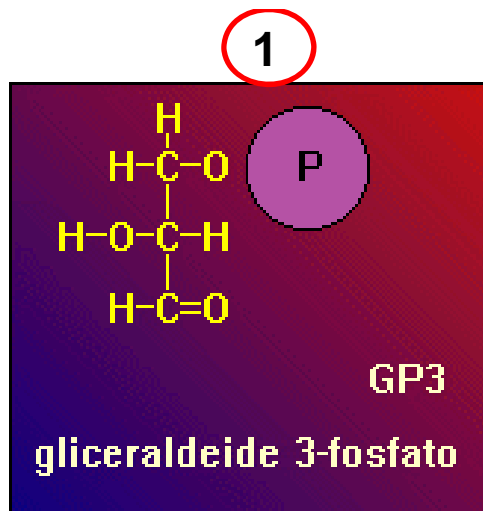
Acido  
1,3-PGlicerico



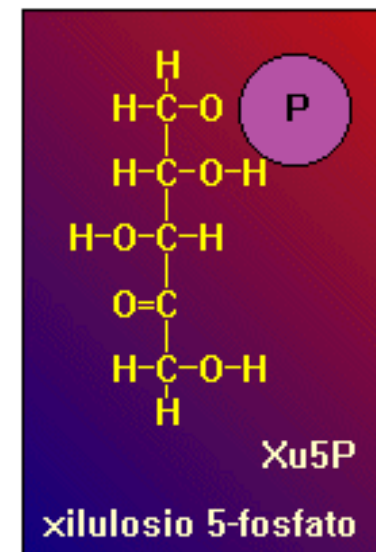
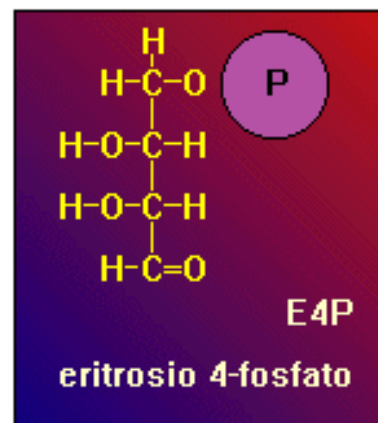
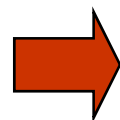
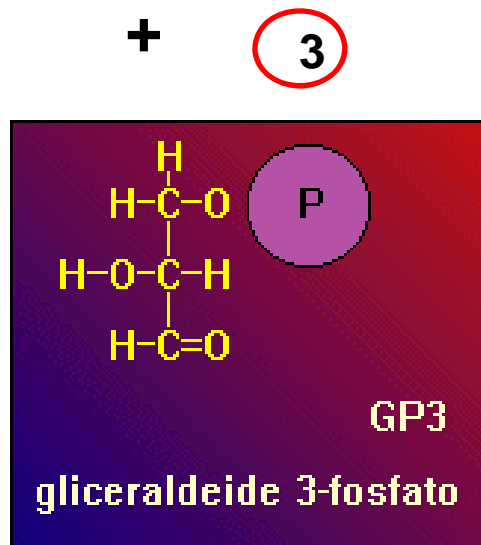
BPGA

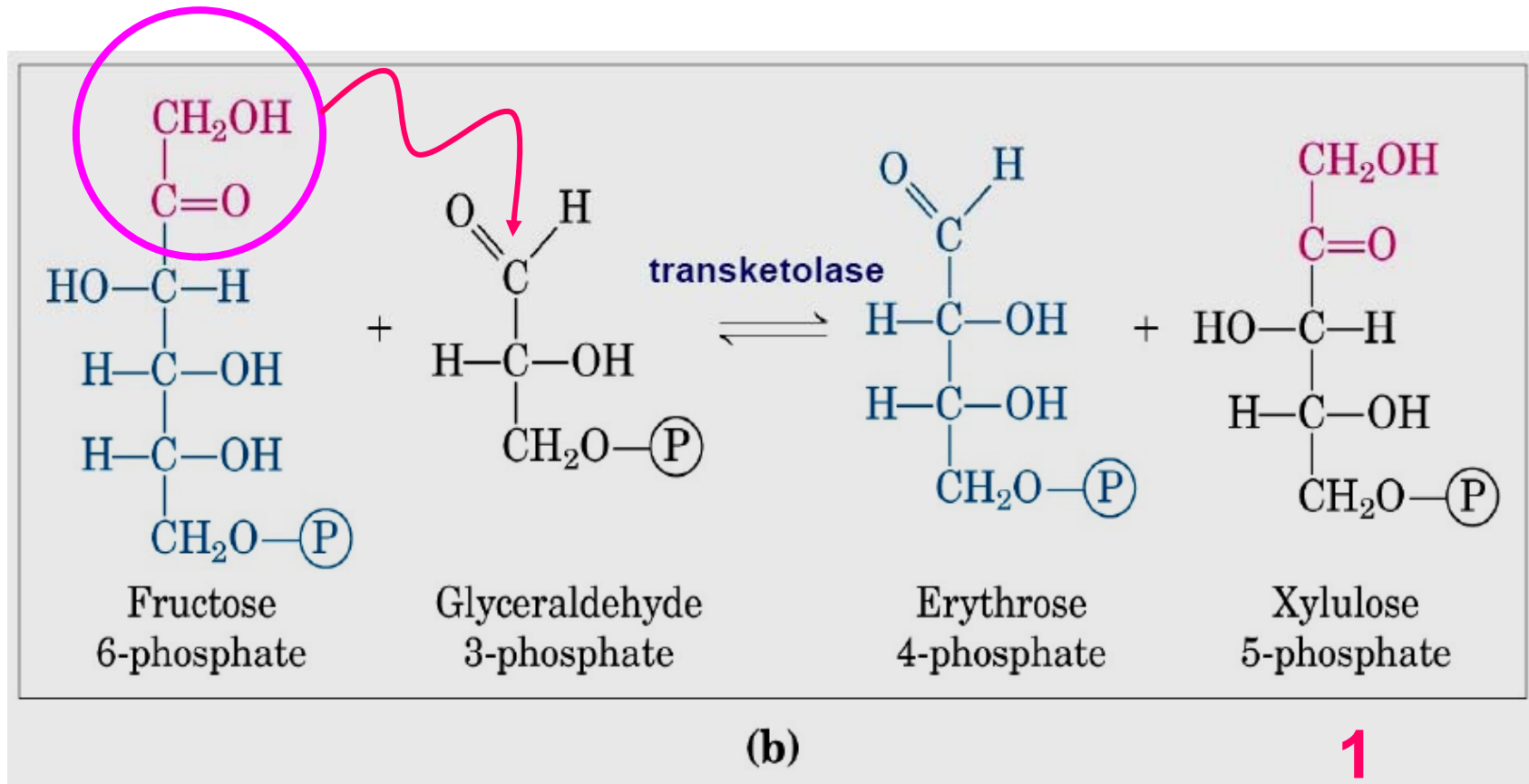
Gliceraldeide  
3 Fosfato



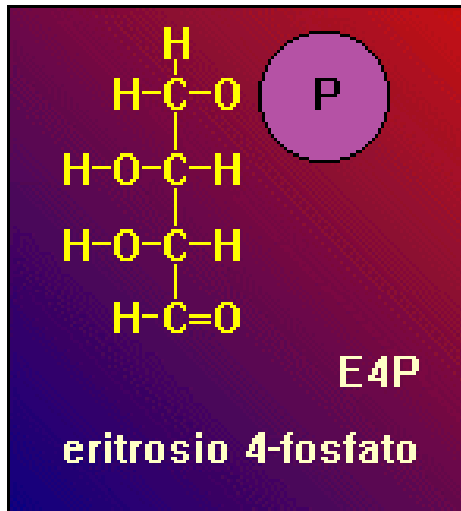


Fru 6P

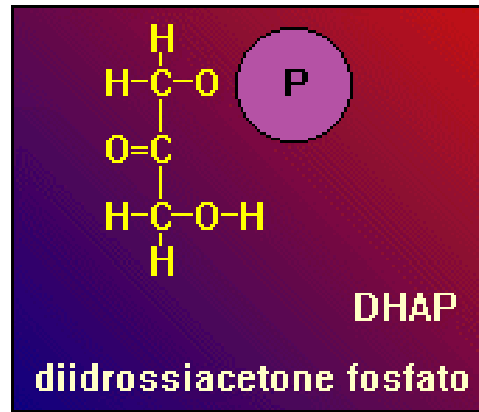




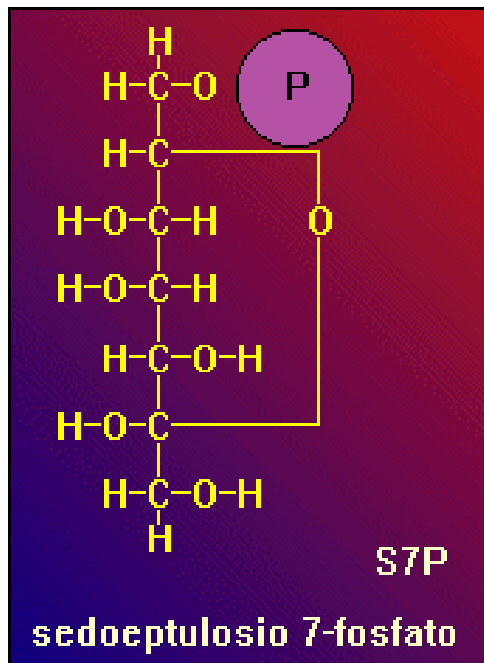
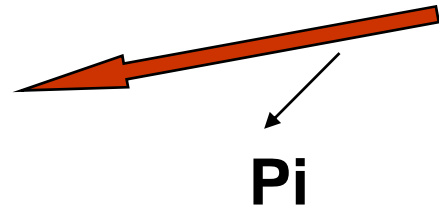
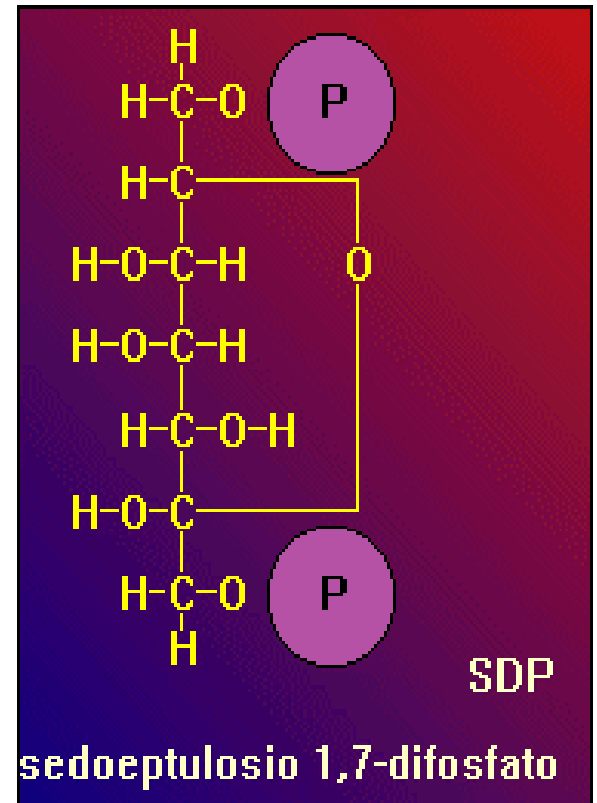
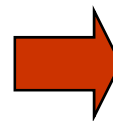
La **transchetolasi** trasferisce un gruppo a due atomi di C di un chetoso donatore al gruppo prostetico dell'enzima e poi ad un aldoso accettore.

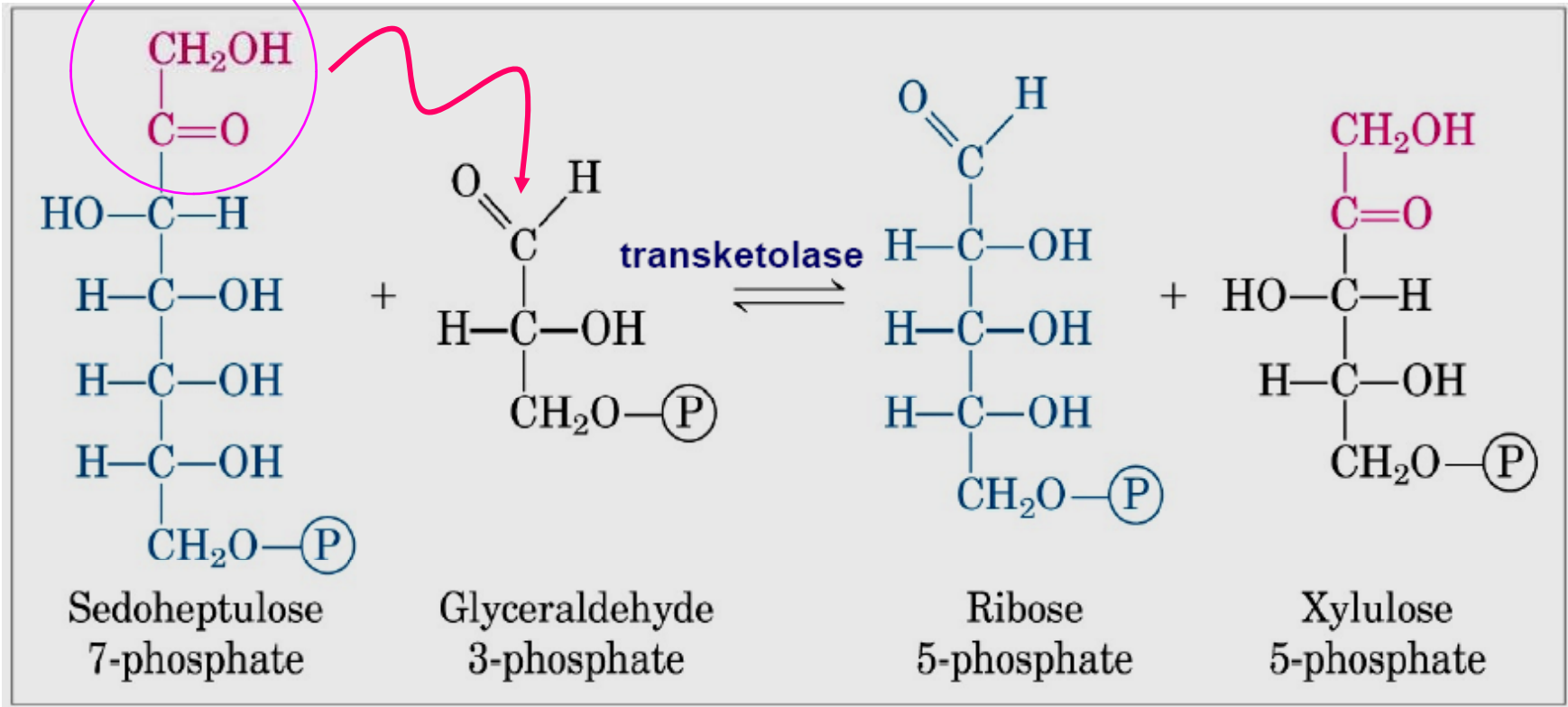


+



4

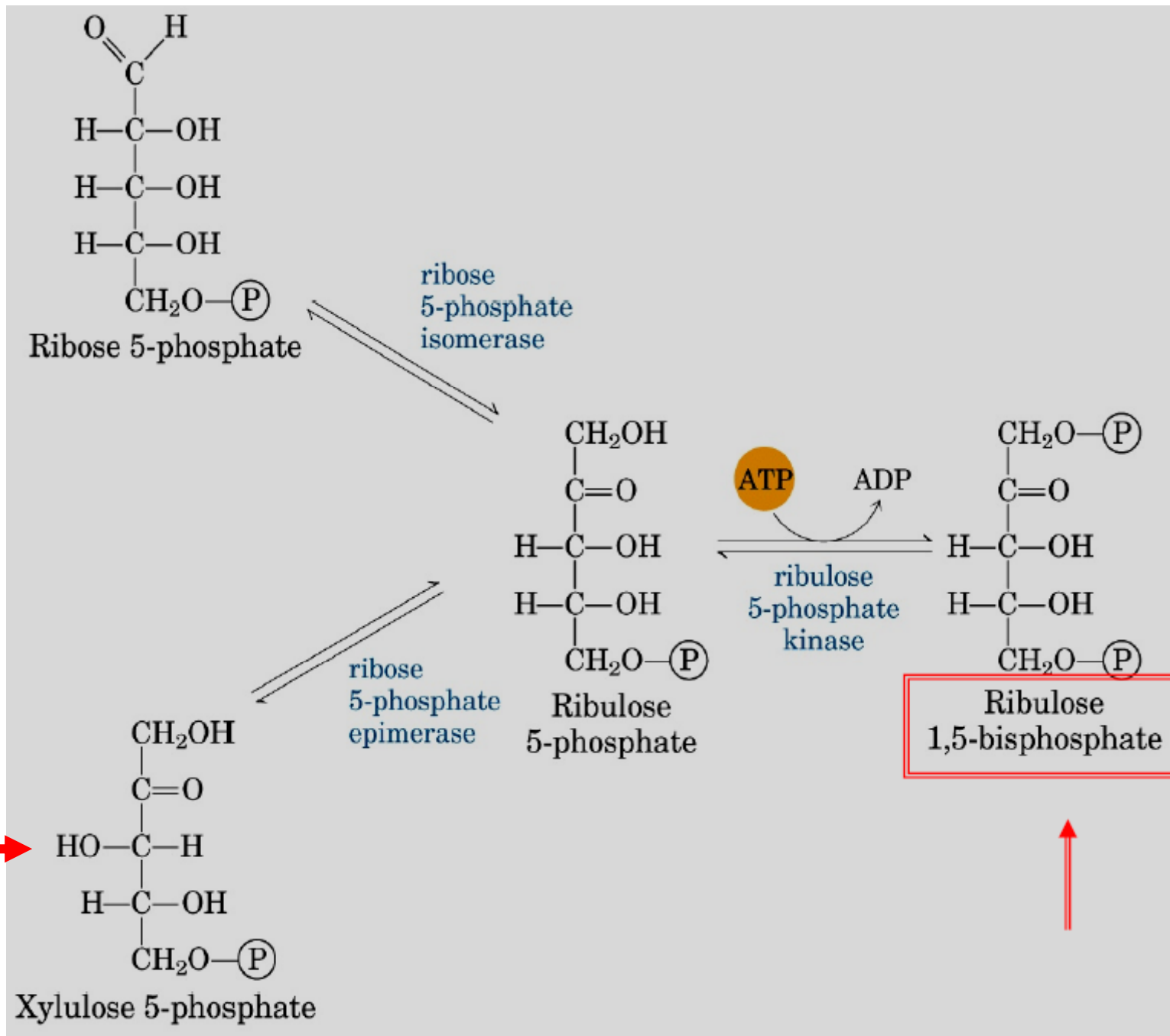




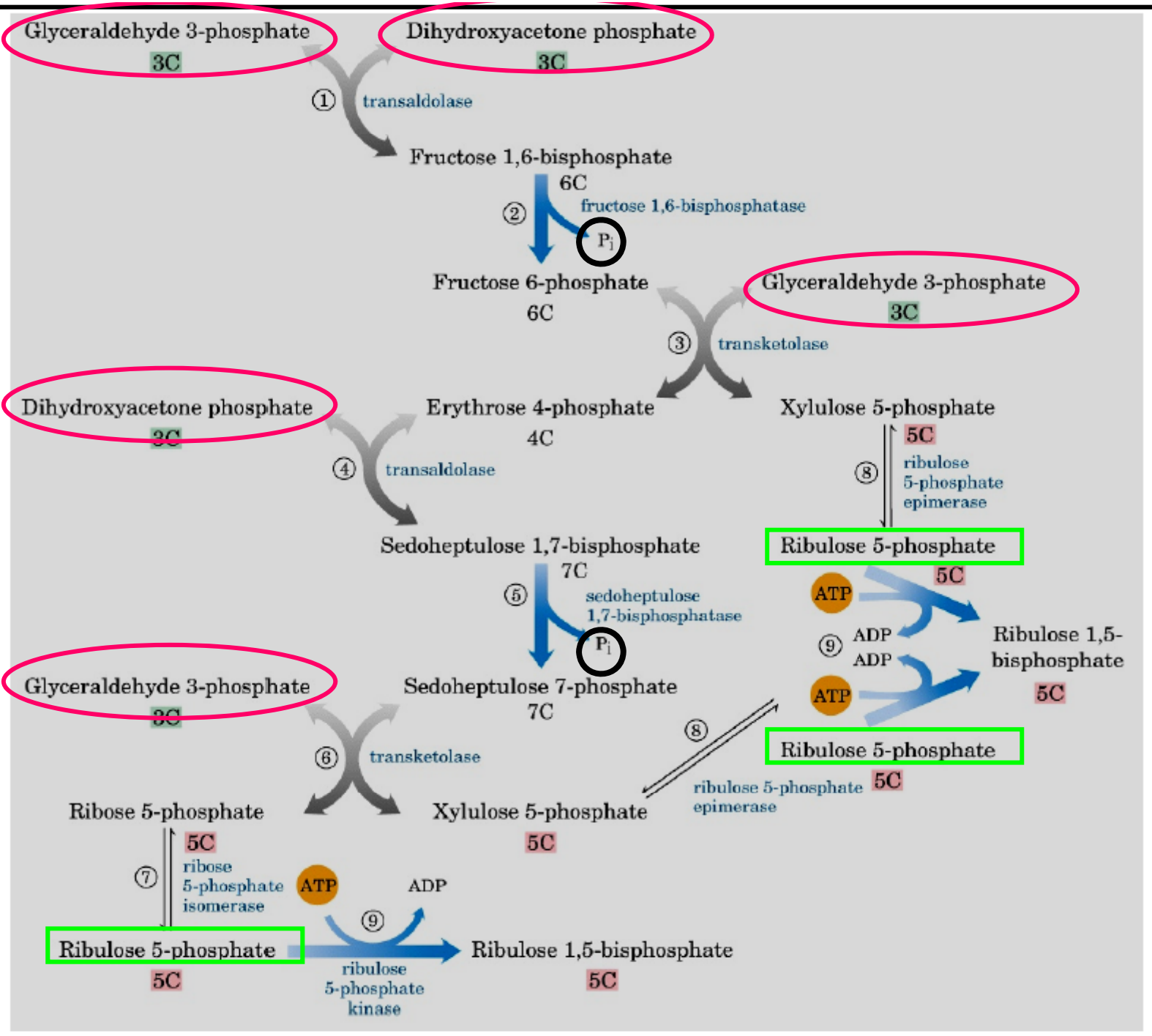
5

2

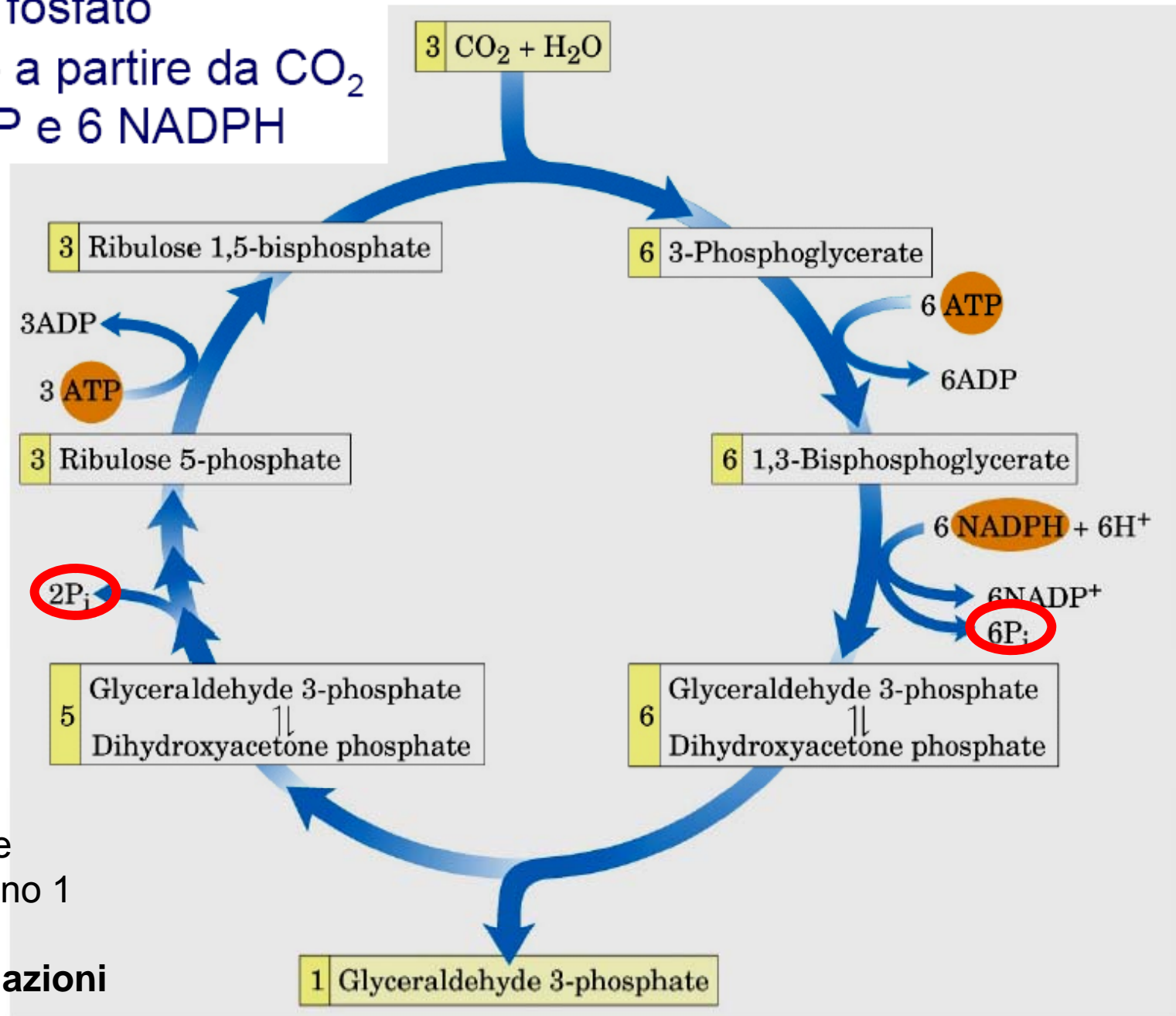
3





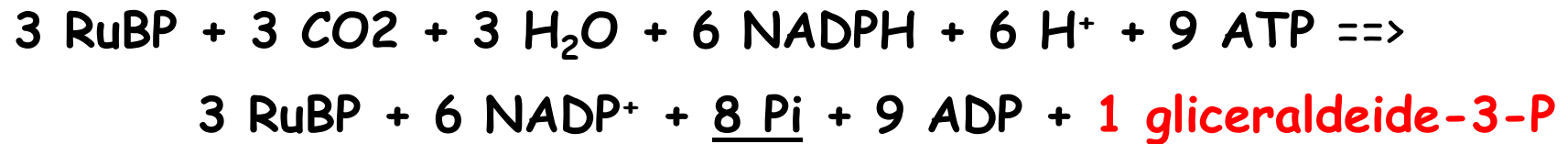


Ogni trioso fosfato  
 sintetizzato a partire da  $\text{CO}_2$   
 costa 9 ATP e 6 NADPH



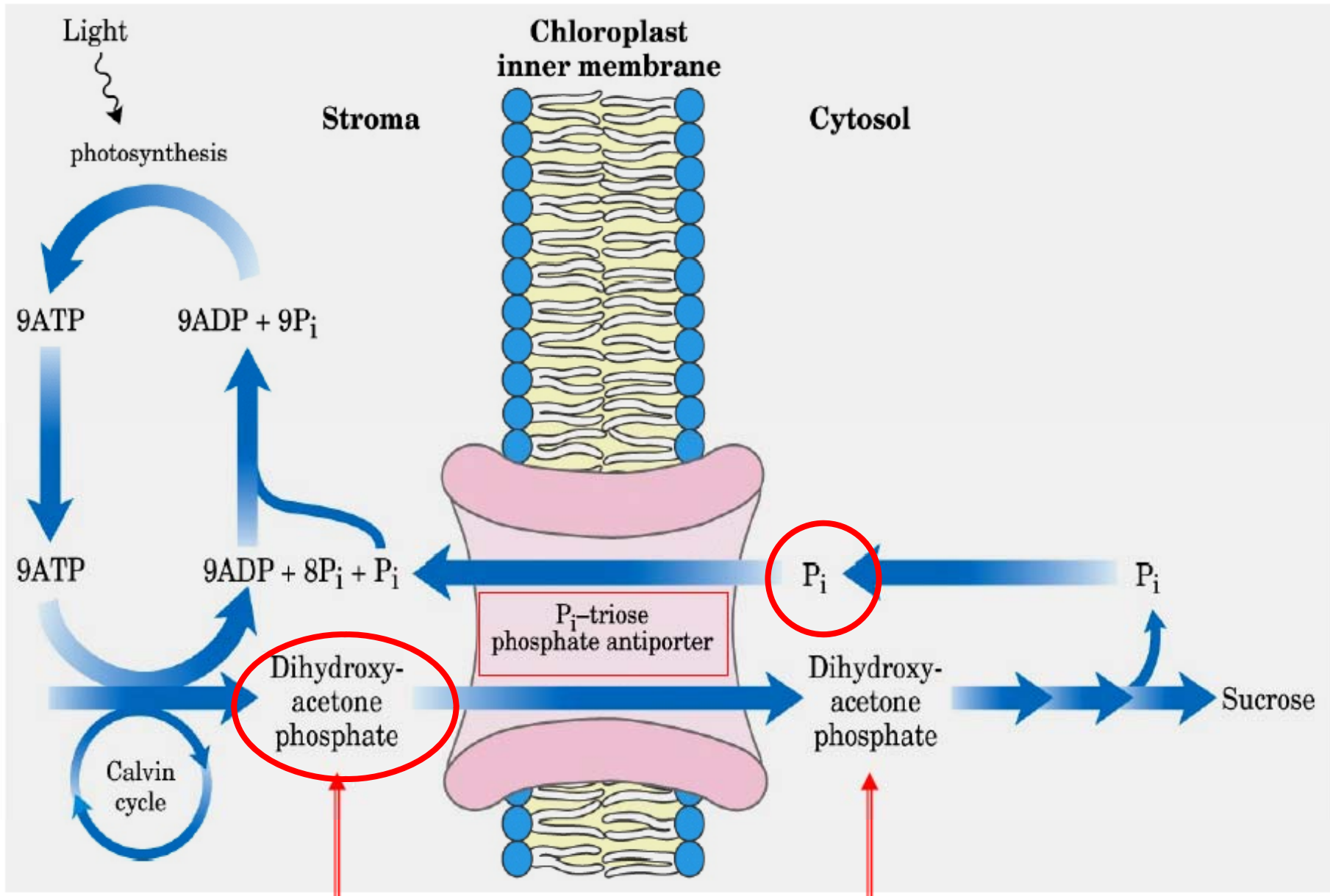
Affinchè tutte le  
 tappe avvengano 1  
 volta:

**3 carbossilazioni**



Per rigenerare 9 ATP (con soli 8 Pi) c'è bisogno di importare dal citosol nello stroma un gruppo fosfato (ANTIPORTO P<sub>i</sub>-trioso fosfato (DHAP)) sulla membrana interna dei cloroplasti, impermeabile agli altri composti.

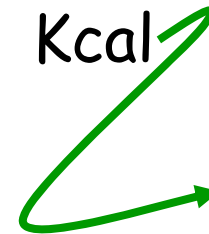
*L'ADP, il P<sub>i</sub> e il NADP<sup>+</sup> ottenuti dal ciclo C3 sono di nuovo disponibili per le reazioni della fase luminosa e vengono quindi riciclati per formare nuovi ATP e NADPH.*



Consumo energetico complessivo:

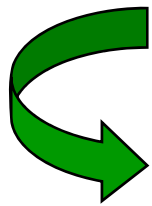
9 ATP                      9 x 7 Kcal = 63 Kcal

6 NADPH                 6 x 52 Kcal = 312 Kcal



**375 Kcal Totali**

Per sintetizzare l'equivalente di 1 mol di *zucchero esoso*  
(*Fruttosio o Glucosio*)



Fissazione di 6 molecole di CO<sub>2</sub>

Consumo:                 **18 ATP**

**12 NADPH**

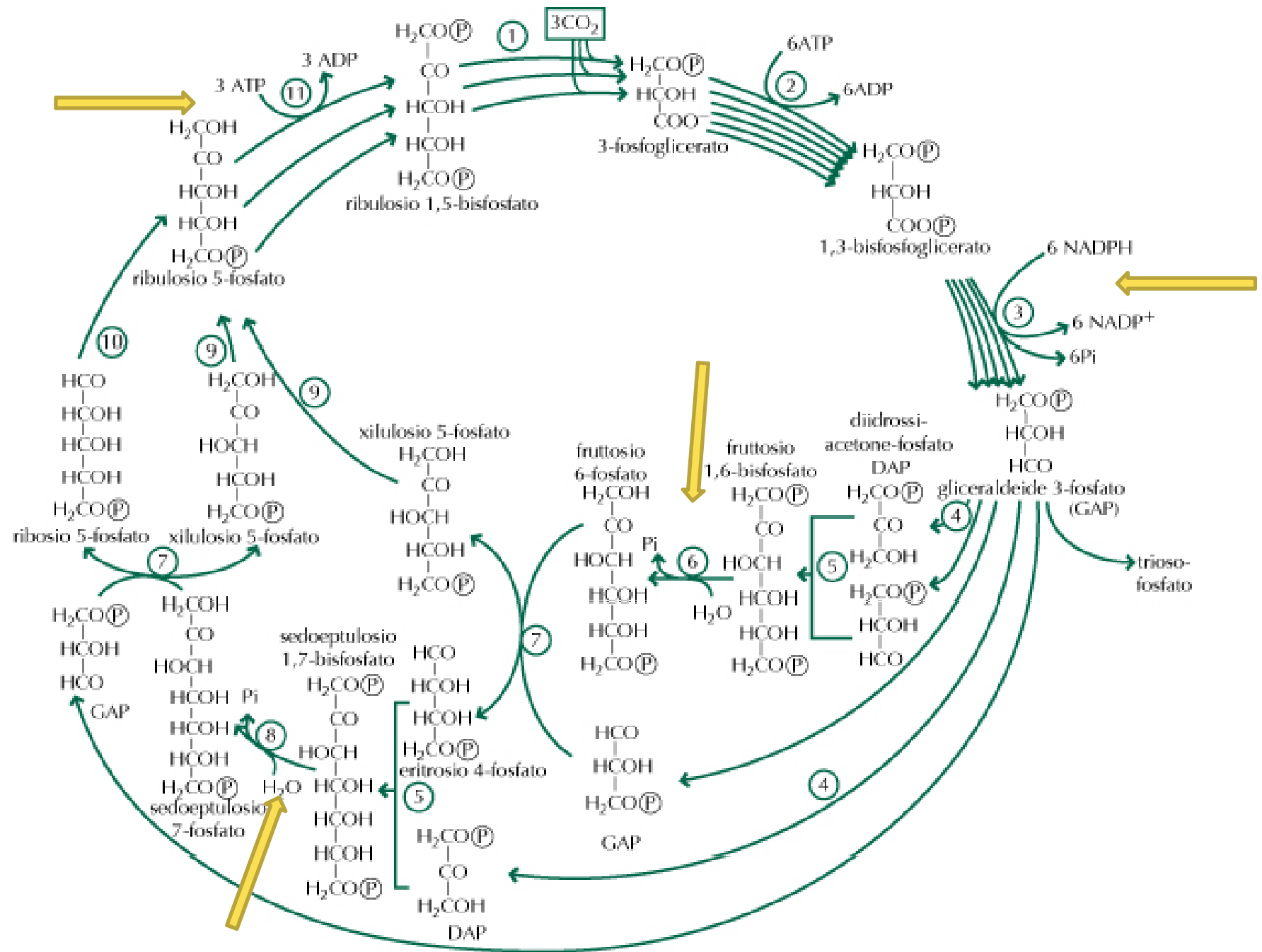
**750 kcal Totali**

## REGOLAZIONE DEL CICLO DI CALVIN:

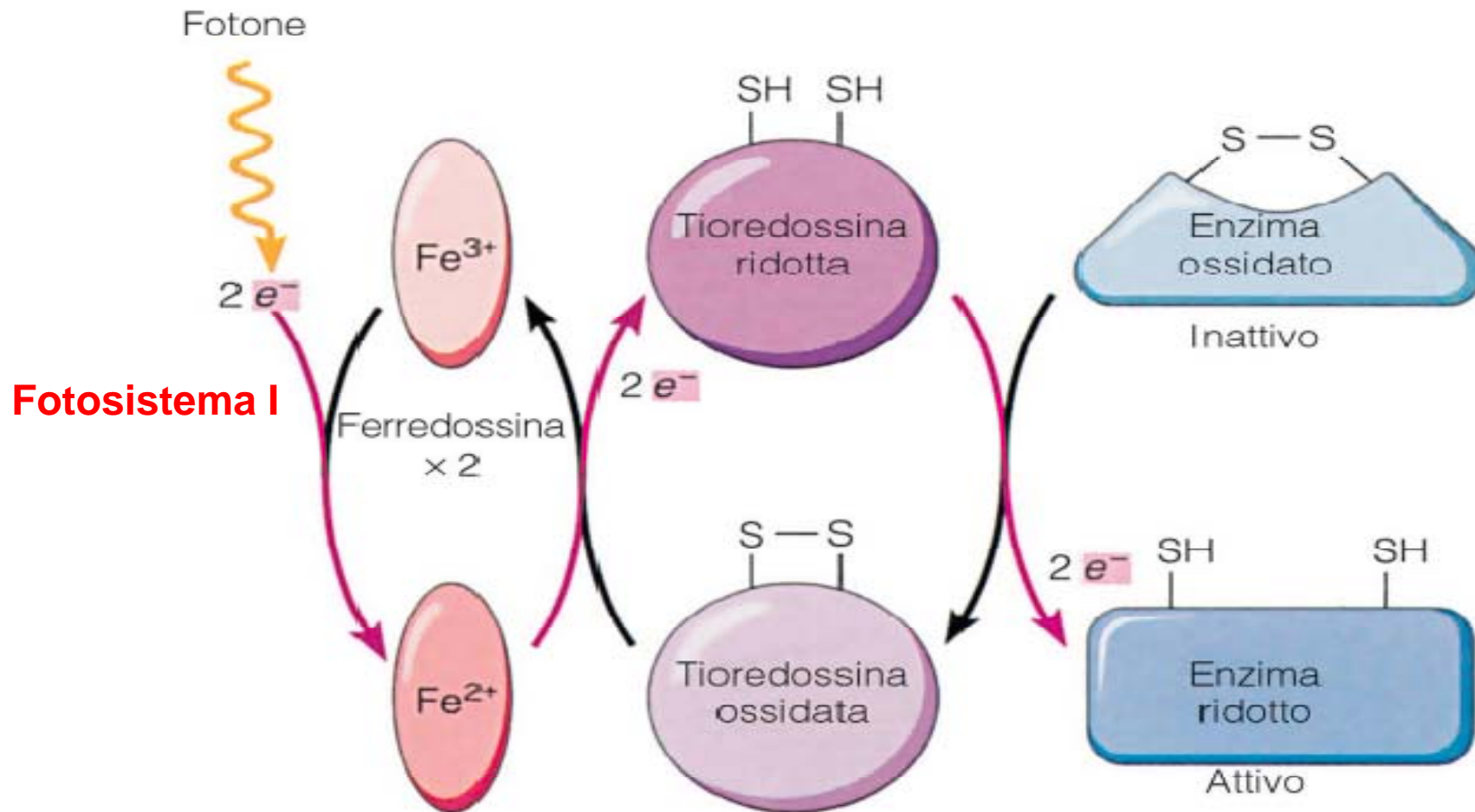
### 5 enzimi regolati dalla luce

1. Rubisco;
2. NADP:gligeraldeide-3-P deidrogenasi;
3. Fruttosio 1,6-bisfosfato fosfatasi;
4. Sedeptuloso-1,7-bisfosfato fosfatasi;
5. Ribulosio-5-fosfato chinasi

La luce controlla gli enzimi 2→5 tramite il sistema **ferredossina-tioredoxina** (che attiva anche altri enzimi cloroplastici es.  $C_4$  e traduzione di mRNA specifici)

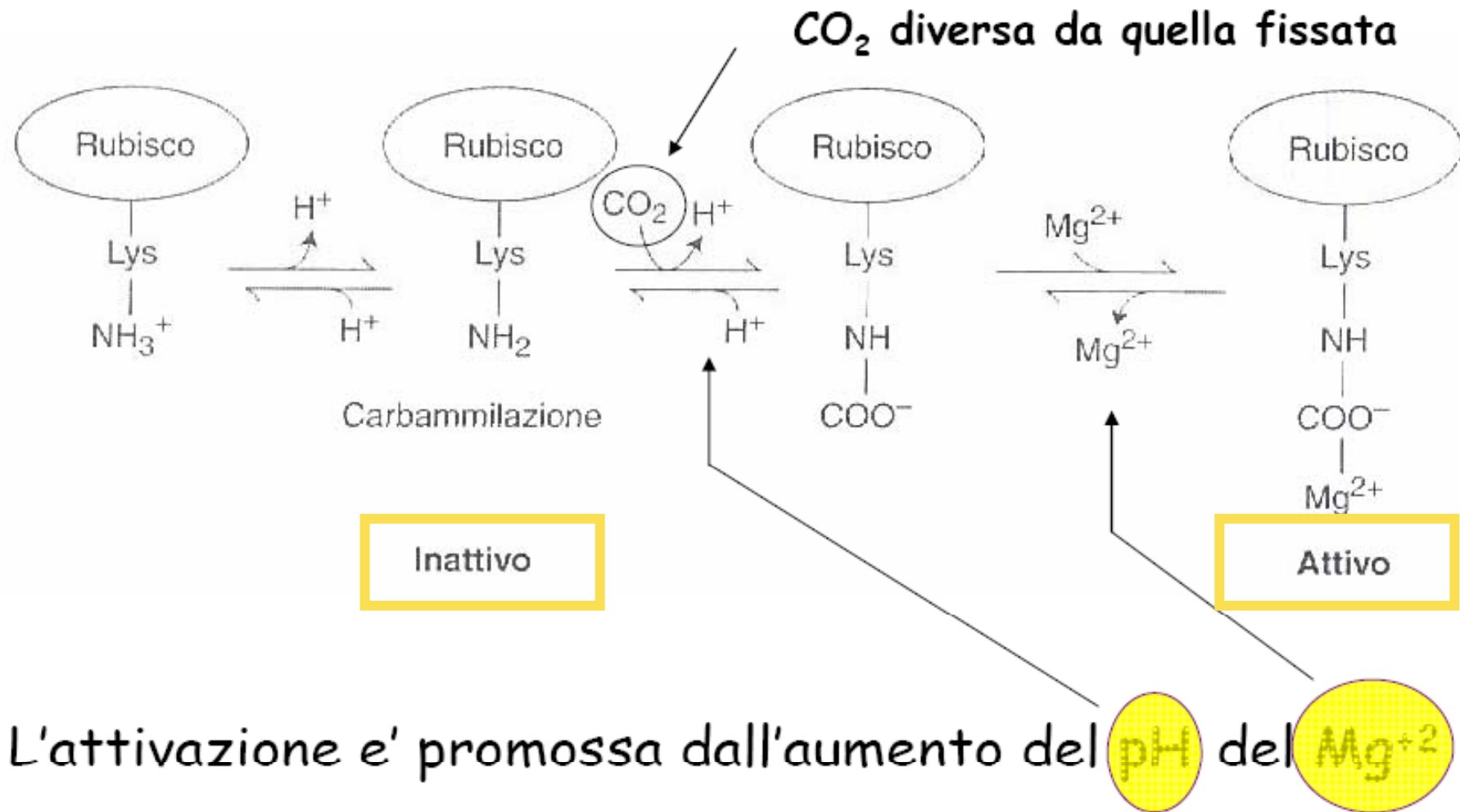






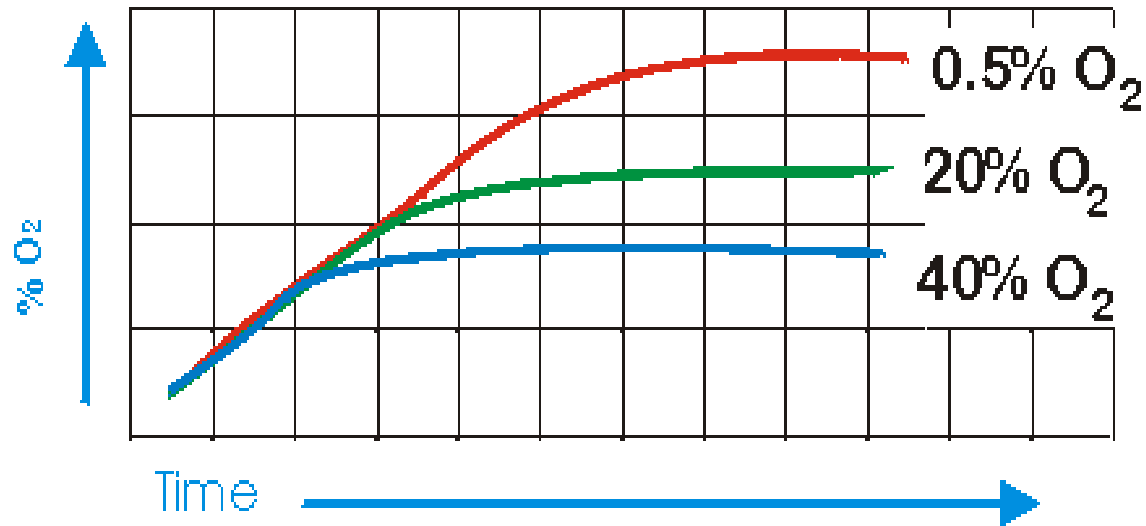


# ATTIVAZIONE DELLA RUBISCO



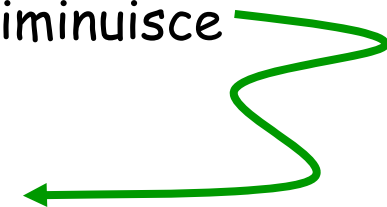
LA RUBISCO funziona anche da **OSSIGENASI** nella


## FOTORESPIRAZIONE

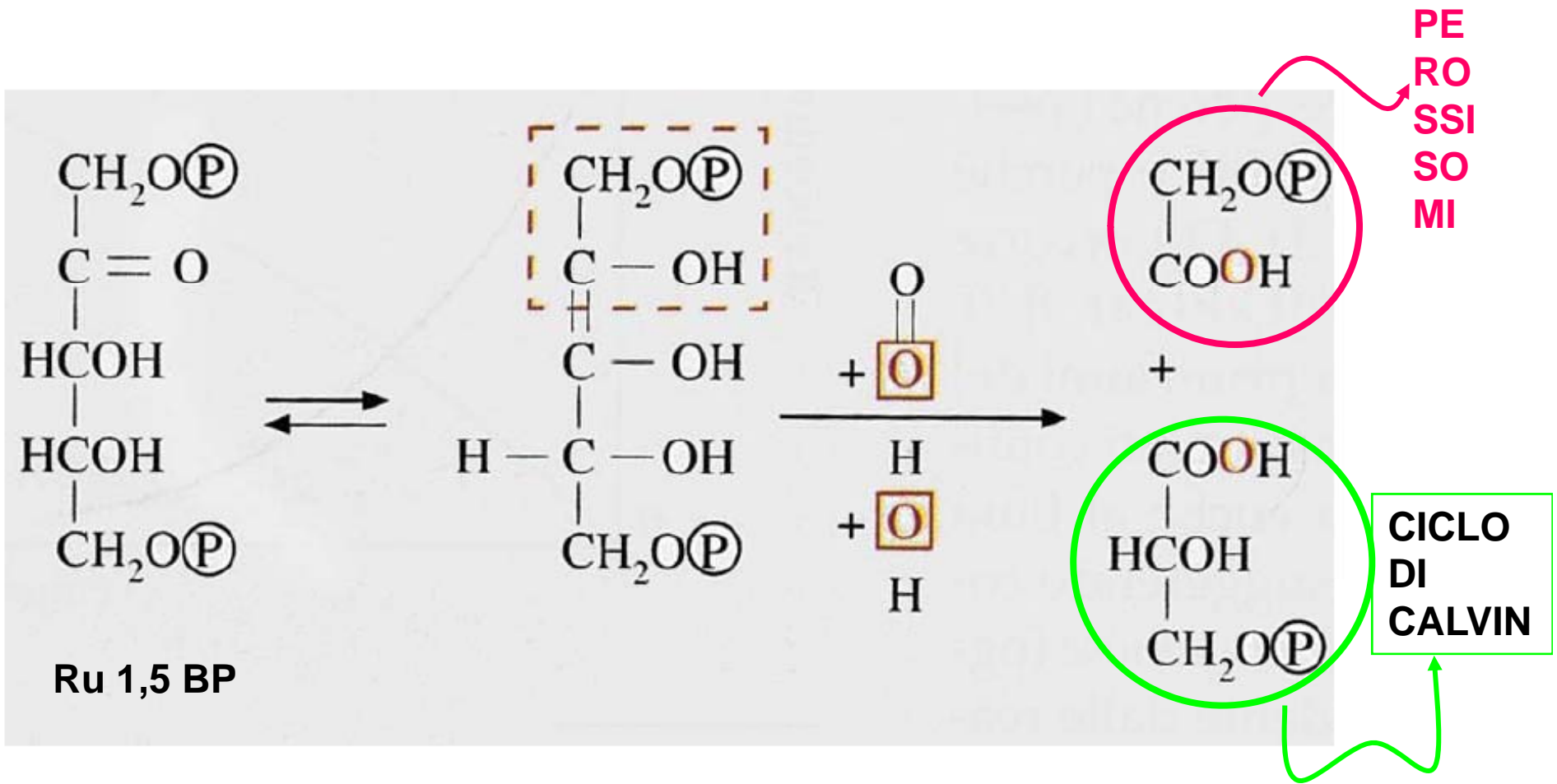


In presenza di maggiori [O<sub>2</sub>] il tasso fotosintetico diminuisce

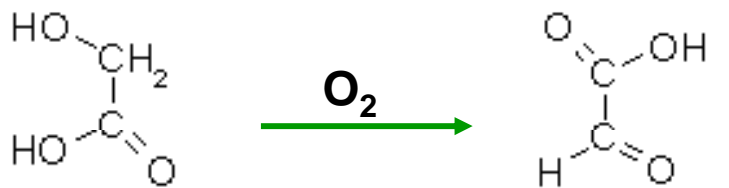
**INIBIZIONE DELLA FOTOSINTESI**



- Il sito attivo della rubisco è incapace di discriminare tra  $O_2$  ( $K_m = 200 \mu\text{m}$ ) e  $CO_2$  ( $K_m = 20 \mu\text{m}$ )  
probabilmente perché l'evoluzione dell'enzima è avvenuta prima che la  $[O_2]$  raggiungesse gli alti livelli attuali
- Ogni variazione nel sito attivo per ridurre l'accesso di  $O_2$  diminuiva anche l'accesso di  $CO_2$   
 Le piante si sono quindi adattate aumentando la quantità di rubisco
- L'affinità della rubisco per la  $CO_2$  diminuisce con le alte temperature, favorendo così la fotorespirazione
- La fotorespirazione può inibire la fissazione del carbonio  
fino al 50% !



I prodotti della reazione con l'ossigeno sono: acido 3-fosfoglicerico e 2-fosfoglicolico

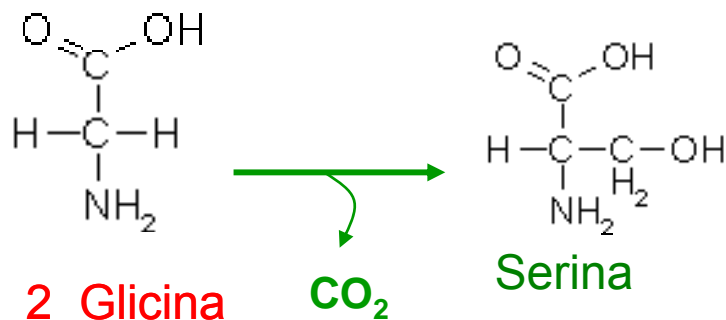


Glicolato

Gliossilato

Il fosfoglicolato è convertito in glicolato dalla fosfoglicolato fosfatasi nel cloroplasto.

Il glicolato entra nei **perossisomi** ed è convertito in gliossilato dalla glicolato ossidasi.



2 Glicina

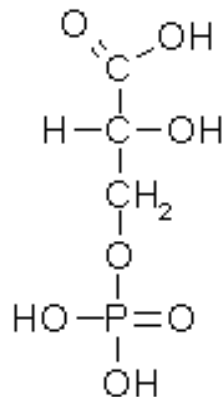
CO<sub>2</sub>

Serina

Il gliossilato è transamminato a **Glicina**  
**2 mol. Glicina** nei **mitocondri** condensano con metilene e si forma **serina + CO<sub>2</sub>**



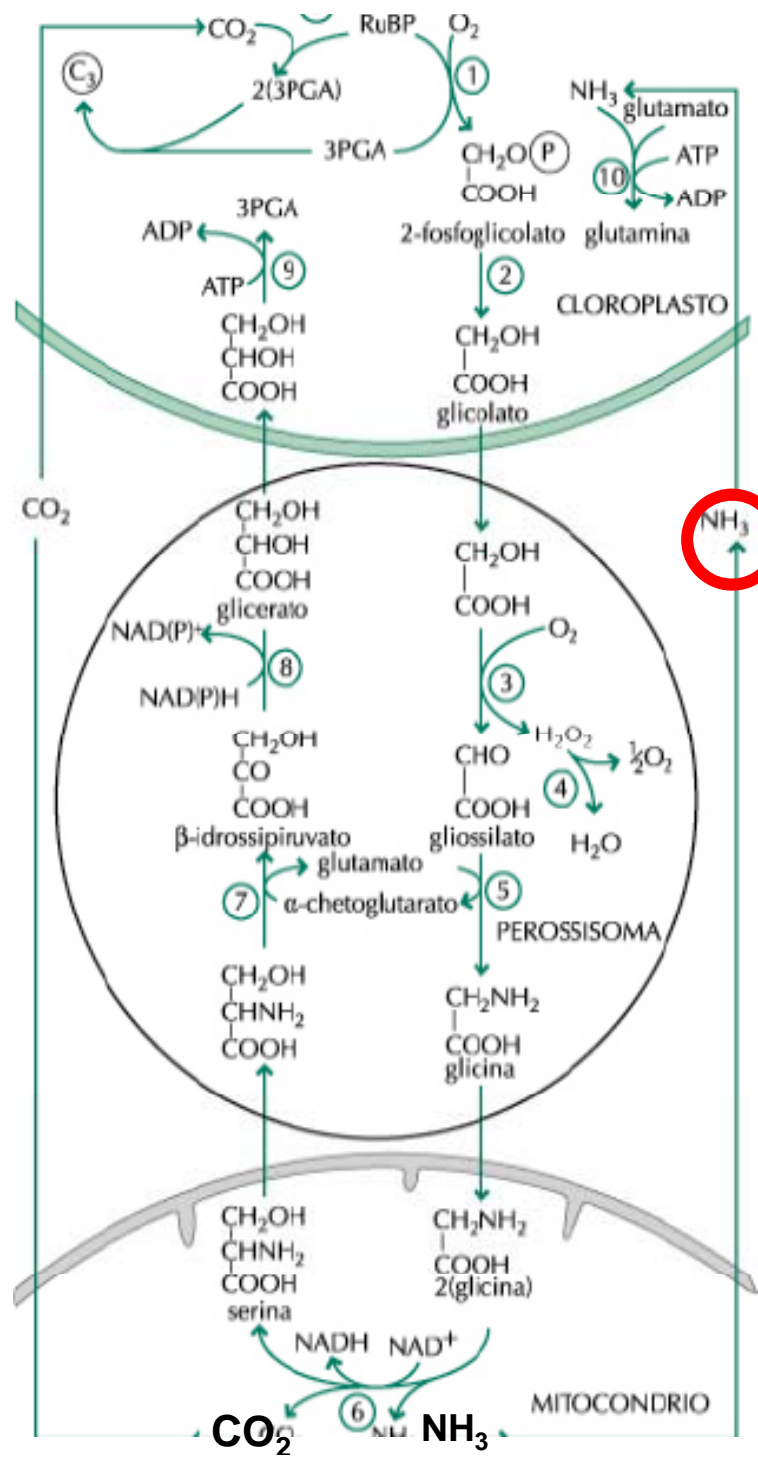
Idrossipiruvato



La Serina entra nei **perossisomi** ed è **deaminata a idrossipiruvato**, che è ridotto a **glicerato**

Il glicerato entra nei **cloroplasti** ed è fosforilato a

**PGA** Ac 3-PGlicerico che entra nel ciclo C3.



**NH<sub>3</sub> rilasciata** è usata con α-chetoglutarato per riformare glutammato (Glu). consumando 1 ATP e 1 NADPH per mole di NH<sub>3</sub> fissata.

La serina rientra nel perossisoma

**CO<sub>2</sub> e NH<sub>3</sub>** vengono recuperate e riorganicate

Un carrier trasferisce α-Ketoglu e Glu attraverso la membrana cloroplastica nei perossisomi

- Il Ciclo C2 è incanalato irreversibilmente fino alla formazione di serina.
- La conversione di serina in glicerato avviene attraverso reazioni reversibili che avvengono sia alla luce che al buio

## TOTALE



- ❖ La  $\text{CO}_2$  entra nel Ciclo di Calvin (C3)
- ❖ L'Ac 3PGlic entra nel Ciclo C3
- ❖ L' $\text{NH}_3$  dalla deaminazione della serina a idrossipiruvato viene utilizzata per formare il glutammato dall'  $\alpha$  chetoglutarato

velocità di riassimilazione molto elevata



via importante del metabolismo azotato nelle foglie delle piante C3

*Fotosintesi e Fotorespirazione funzionano in direzioni opposte:*

Nella fotorespirazione vien persa  $\text{CO}_2$  che contemporaneamente viene fissata nel ciclo di Calvin

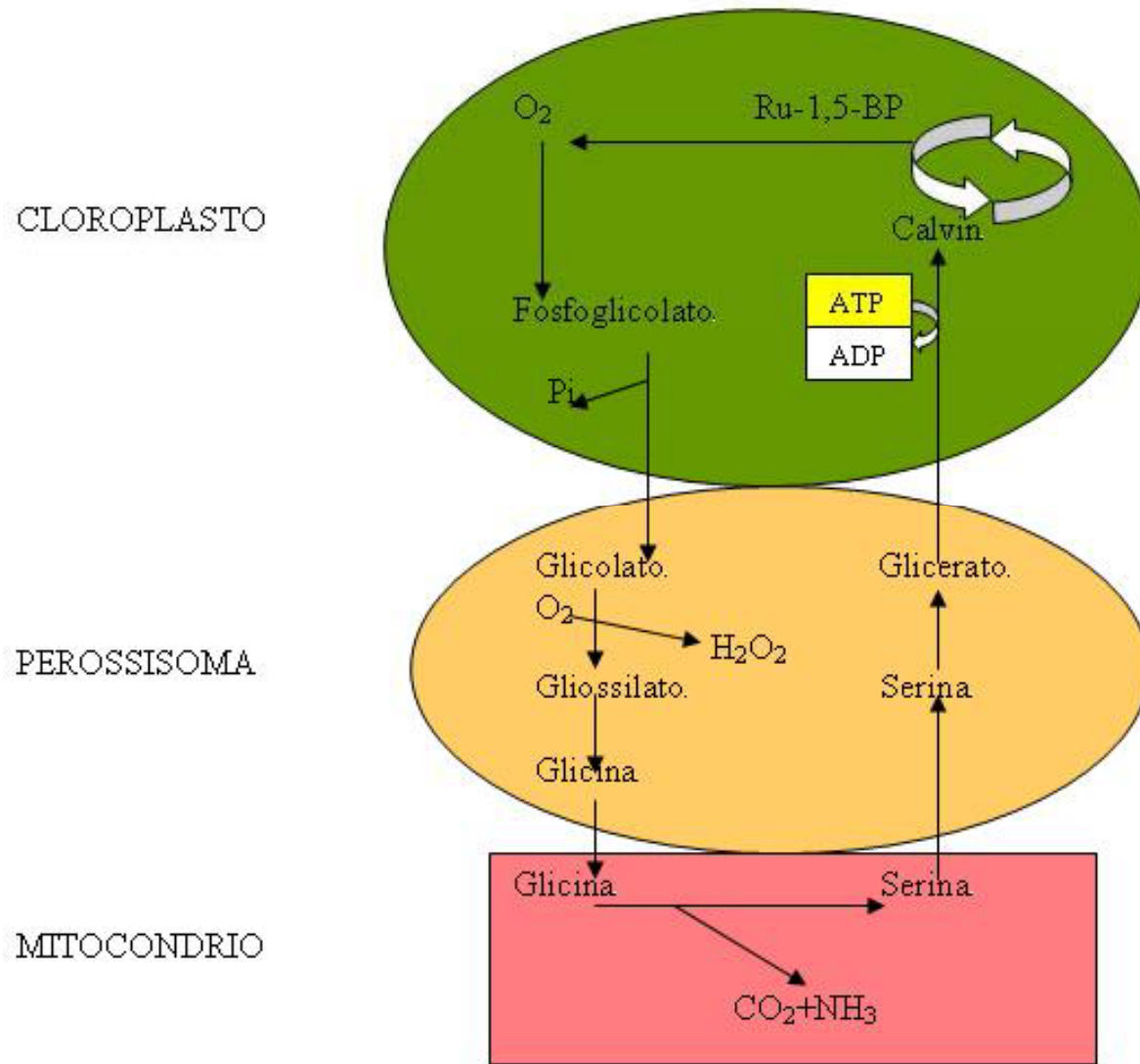
La fotorespirazione **non provoca la fissazione di  $\text{CO}_2$**  e quindi non sembra portare vantaggi alla cellula, anche perché il recupero degli atomi di C dal fosfoglicolato richiede energia

Circa ***1/3 di RuBP è utilizzato senza fissare  $\text{CO}_2$ .***

**Non viene conservata energia**, anche se in parte avviene nei mitocondri.

Al contrario, il ciclo **è molto più costoso energeticamente** rispetto alla fissazione del carbonio





Nel **CICLO DI CALVIN** :  
**ATP (3) e NADPH (2)**  
 per 1 CO<sub>2</sub>

Nella  
**FOTORESPIRAZIONE**  
 La spesa energetica è +  
 del doppio



**SPESA ENERGETICA: per 1 CO<sub>2</sub> prodotta 6,8 ATP e 7 NADPH**

considerando il costo energetico per il riciclo della CO<sub>2</sub> nel Ciclo C<sub>3</sub> e la spesa per la riorganizzazione della NH<sub>3</sub>

Il metabolismo fotosintetico del C è il risultato fra  
2 cicli opposti e interconnessi:

Il **Ciclo di Calvin** funziona autonomamente,  
La **Fotorespirazione** funge da “parassita” del Ciclo di Calvin per il  
rifornimento di Ru1,5DP

**Il bilancio fra questi 2 cicli dipende da 3 fattori:**

1. Proprietà cinetiche della RUBISCO
2. Concentrazione dei substrati CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub>
3. Temperatura

**Le condizioni normali sono CO<sub>2</sub> < 0,03% e O<sub>2</sub> ~ 21%**

**La fissazione di CO<sub>2</sub> 3 volte > produzione di CO<sub>2</sub>**  
**Ciclo C3 > Ciclo C2**

Fissazione netta di CO<sub>2</sub>  
Liberazione di O<sub>2</sub>

**La fotorespirazione abbassa l'efficienza fotosintetica della fissazione del C dal 90% al 50%**

**PUNTO DI COMPENSAZIONE per la CO<sub>2</sub> =**

è la concentrazione di CO<sub>2</sub> alla quale la quantità di CO<sub>2</sub> fissata con il Ciclo di Calvin (C3) = CO<sub>2</sub> liberata dal C2



**L'attività fotosintetica è pari a quella respiratoria:**

**Per le piante C3 il punto di compensazione è 50 ppm di CO<sub>2</sub>**



$A[CO_2] < 50 \text{ ppm}$        $\longrightarrow$       **Senescenza della foglia**

$\longrightarrow$       **Fotossidazione**

per il mantenimento del ciclo C2      **degli zuccheri di riserva**  
(attività ossigenasica della Rubisco)

Temperatura (°C)	$\alpha(\text{CO}_2)$	$[\text{CO}_2]$ ( $\mu\text{M}$ in soluzione)	$\alpha(\text{O}_2)$	$[\text{O}_2]$ ( $\mu\text{M}$ in soluzione)	$[\text{CO}_2]$ $[\text{O}_2]$
5	1,424	21,93	0,0429	401,2	0,0515
15	1,019	15,69	0,0342	319,8	0,0462
25	0,769	11,68	0,0283	264,6	0,0418
35	0,592	9,11	0,0244	228,2	0,0376

## La fotorespirazione previene la fotoinibizione

In situazioni di bassa  $\text{CO}_2$  (chiusura di stomi, stress idrico)

l'energia luminosa non viene utilizzata per fissare  $\text{CO}_2$

➔ Riduzione dell'  $\text{O}_2$  e della produzione di specie radicaliche  
dell'O e fotodistruzione dei pigmenti

**La fotorespirazione consumando  $\text{O}_2$**

➔ *dissipazione innocua dell'energia luminosa*

*Alcune piante hanno ridotto la fotorespirazione,  
mediante meccanismi di concentrazione della CO<sub>2</sub>*

## Piante C4

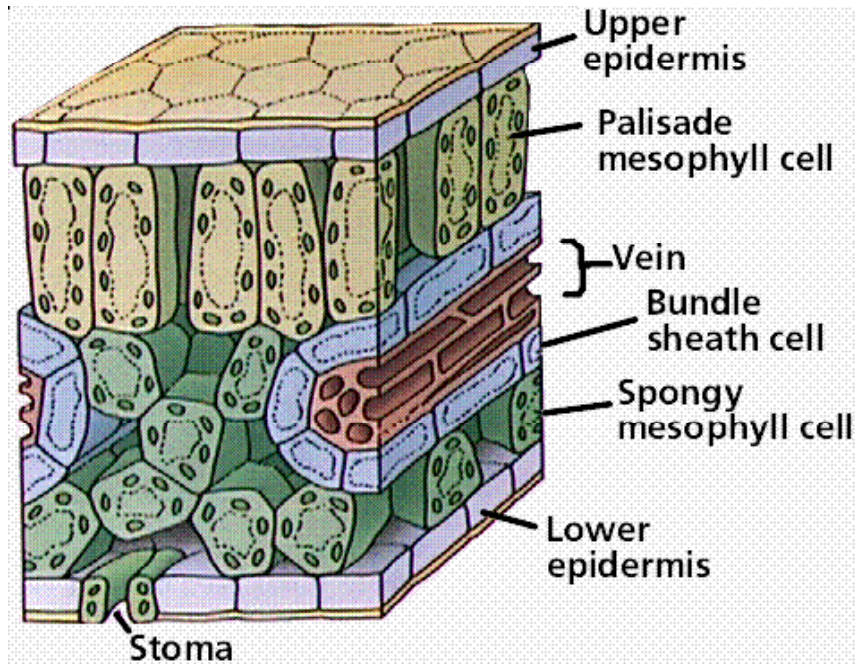
Via scoperta da Hatch e Shack nel 1960

- Piante **originarie dei tropici** (grano, canna da zucchero, sorgo, mais)
- Le C4 appartengono a **specie filogeneticamente non correlate**.  
Anche alcune alghe, come *Anacystis nidulans*, e alcuni dinoflagellati hanno un metabolismo C4.
- Crescono in **condizioni di illuminazione intensa e temperature elevate**
- Hanno **alta velocità di fotosintesi e di crescita**,  
**bassa fotorespirazione, limitate perdite di acqua**,  
**morfologia fogliare diversa**

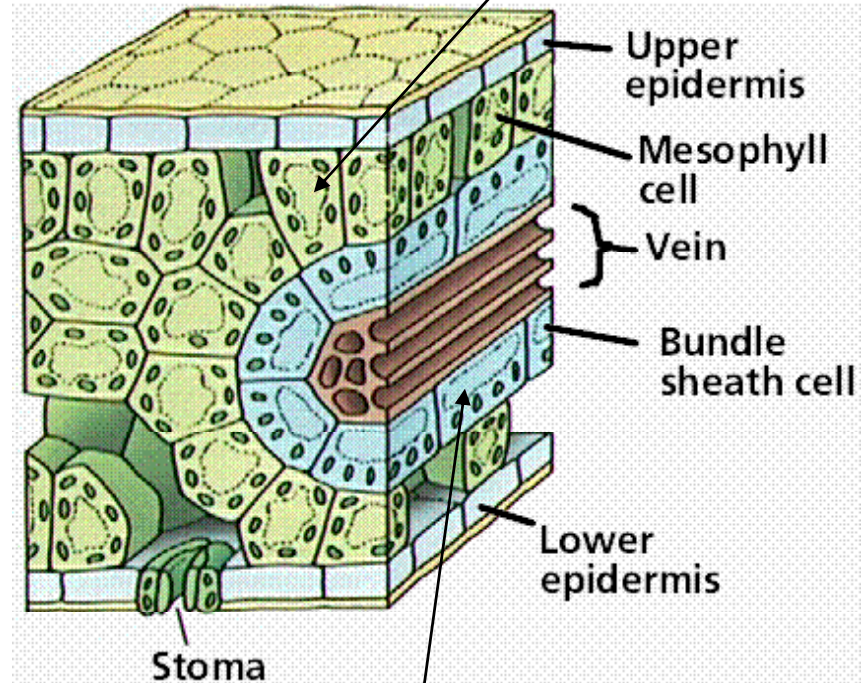
# C3

# and

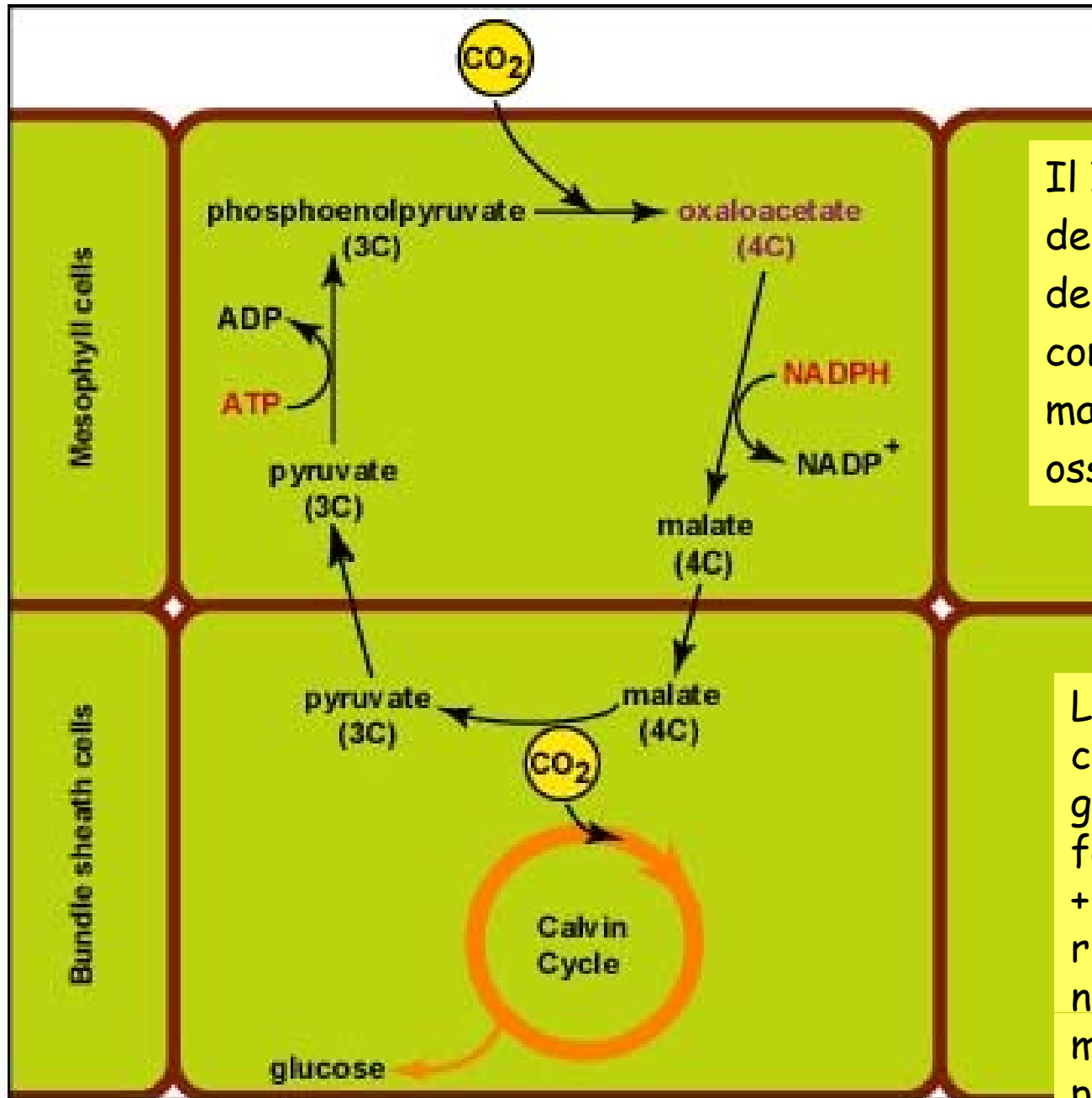
# C4



CELLULE MESOFILLICHE



CELLULE DELLA GUAINA  
DEL FASCIO VASCOLARE



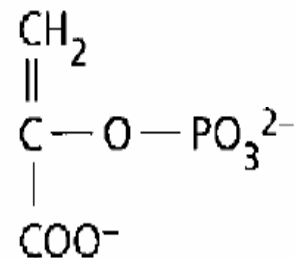
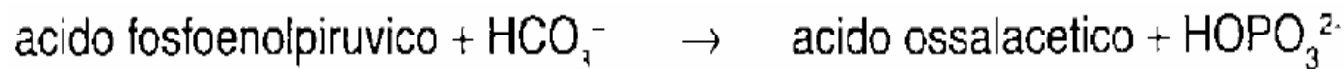
Il 1° prodotto della fissazione della  $\text{CO}_2$  non è un composto a 3 C, ma l'acido ossalacetico, a 4 C

La  $\text{CO}_2$  nelle cellule della guaina del fascio è 10 volte + elevata rispetto a quella nelle cellule del mesofillo delle piante C3

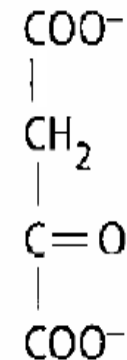


La reazione di carbossilazione primaria che comune a tutte le varianti avviene nel citosol delle cellule del mesofillo.

L'enzima carbossilante e' la **fosfoenolpiruvato carbossilasi**.



**PEP**



**OAA**



La  $K_m$  della PEP carbossilasi verso l' $\text{HCO}_3^-$  e' molto bassa.

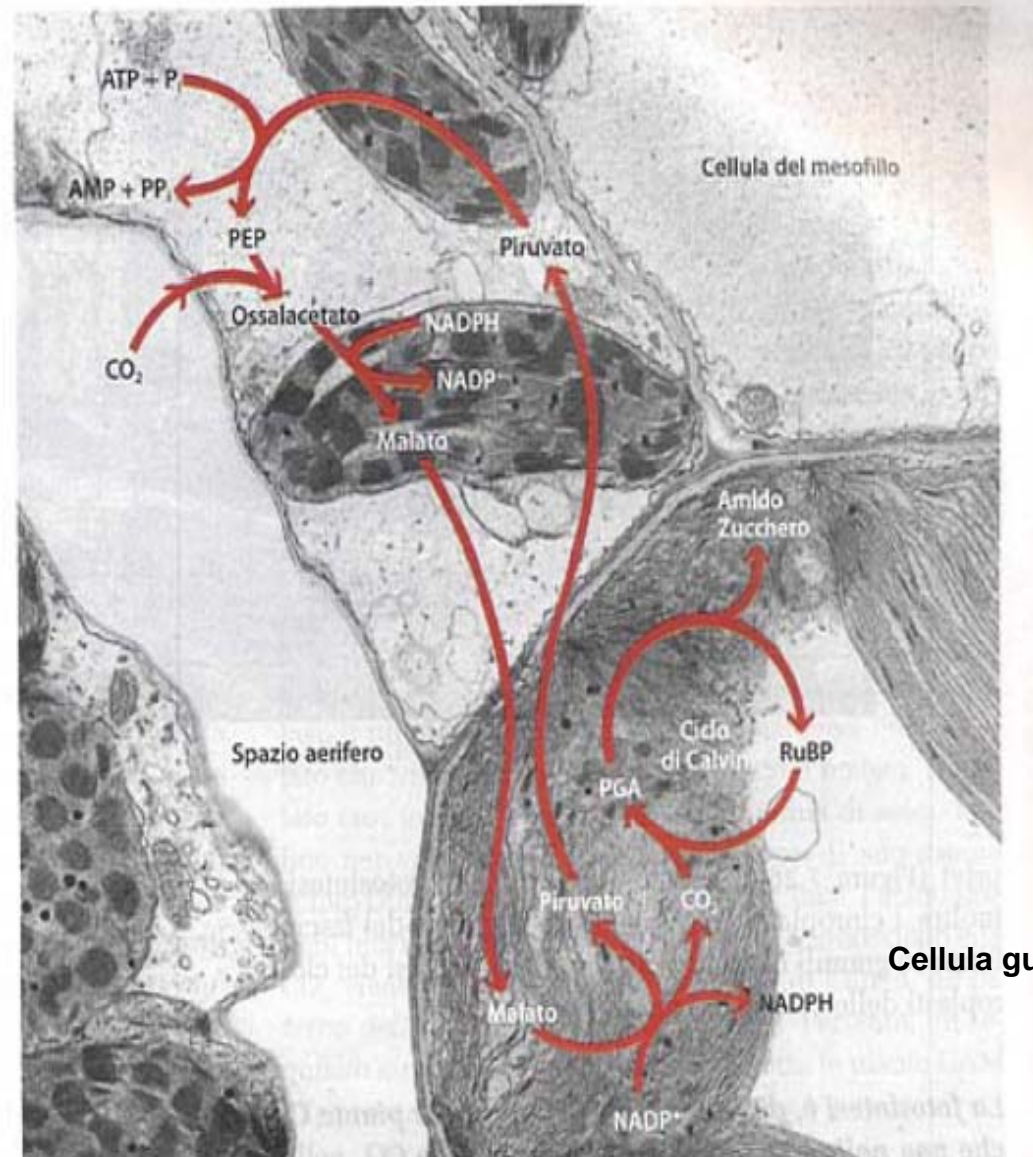
L' $\text{O}_2$  non e' un competitore della reazione.

## Vantaggi

Nelle piante C4 l'apertura stomatica e' minore (tempo), quindi conservano piu' acqua.

Fotorespirazione soppressa dall'accumulo di  $\text{CO}_2$  nelle cellule della guaina del fascio

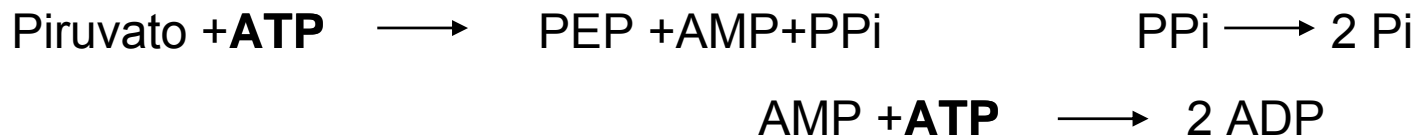
**Figura 7.24** Via metabolica per la fissazione dell'anidride carbonica nel mais (*Zea mays*), una pianta C<sub>4</sub>. L'anidride carbonica viene inizialmente fissata nelle cellule del mesofillo in ossalacetato che, a sua volta, viene convertito rapidamente in malato. Il malato è trasportato alle cellule della guaina del fascio, dove si libera CO<sub>2</sub> che entra nel ciclo di Calvin, per dare, infine, saccarosio e amido. Il piruvato ritorna alle cellule del mesofillo per rigenerare il fosfoenolpiruvato (PEP). Vi è, quindi, una separazione spaziale tra la via metabolica C<sub>4</sub>, che avviene nelle cellule del mesofillo e il ciclo di Calvin, che si svolge nelle cellule della guaina del fascio.



**Cellula guaina del Fascio**

# Svantaggi delle piante C4

- Il processo ha un **costo energetico superiore**:  
per ogni molecola di CO<sub>2</sub> fissata bisogna rigenerare una molecola di PEP a spese di **due legami** ad alta energia dell'ATP



Per ogni molecola di CO<sub>2</sub> fissata si consumano

**5 ATP (contro i 3 ATP del C3)**

- Tale costo viene ricompensato **dall'efficienza delle piante C4 alle alte temperature** (> 28°C – 30°C), quando l'affinità della rubisco per la CO<sub>2</sub> diventa più bassa

## C3 vs C4

- Le piante C3 possono perdere fino al 20% del carbonio fissato nel ciclo di Calvin in condizioni di forte irraggiamento, quando la fotorespirazione è 1,5 – 3,5 volte più alta di quella al buio.

Il tasso netto di fotosintesi nelle C4 invece è molto più alto di quello delle C3 in condizioni di forte irraggiamento.

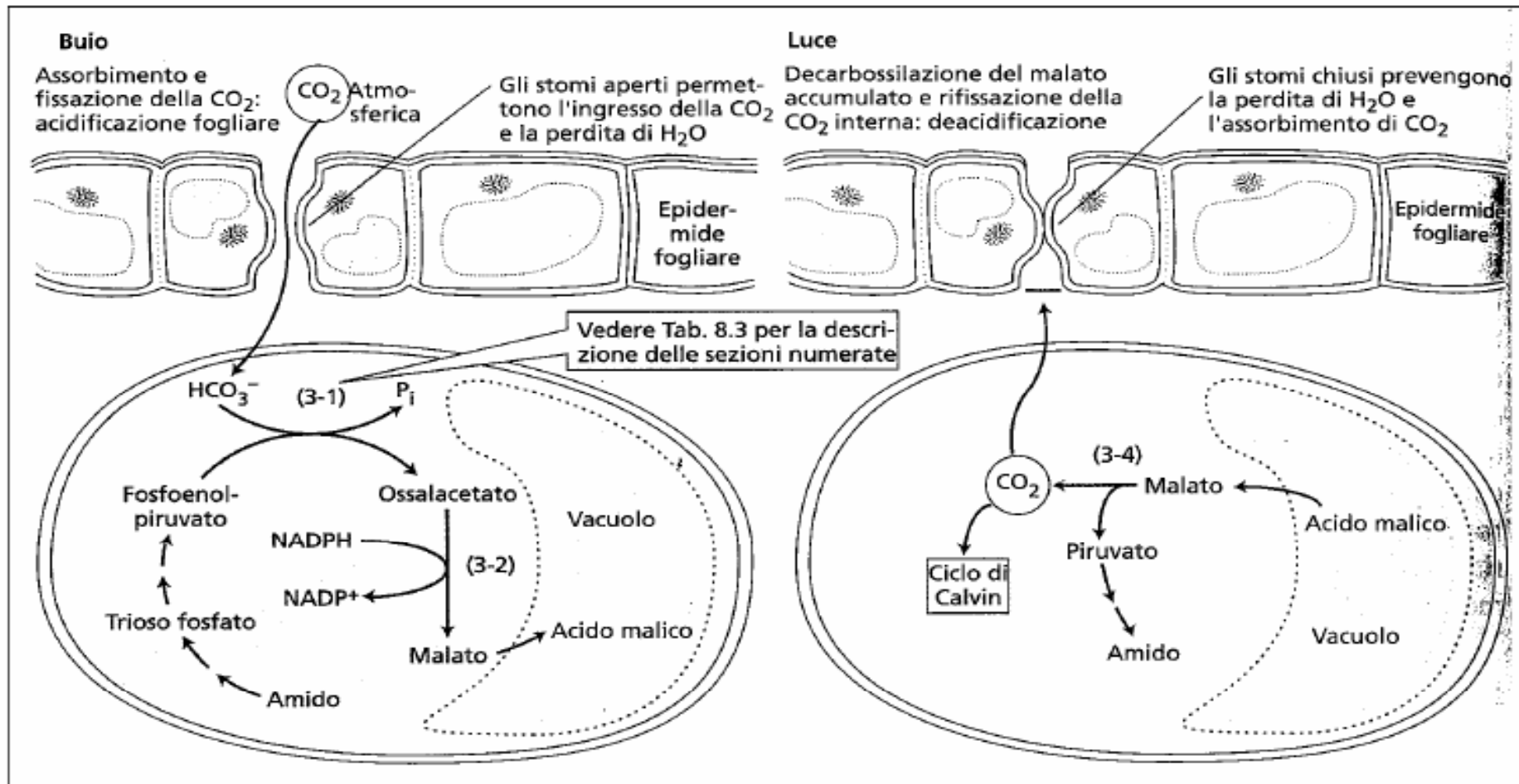
- Dove la luce è un fattore dominante e le temperature più basse (ad es. zone temperate) sono le C3 ad avere vantaggio, mentre le C4 sono quasi tutte specie erbacee o arbusti presenti in zone aperte o in microclimi più caldi.

# Curiosità

- Molti autori ipotizzano che **la via C4 si è evoluta molte volte in maniera indipendente**, in risposta a condizioni ambientali simili (convergenza adattativa o coevoluzione).
- In molte piante dei generi ***Zea, Mollugo, Moricandia e Flaveria***, avvengono entrambi i tipi di fissazione della CO<sub>2</sub>: nelle piante giovani c'è la C3, mentre nelle adulte la C4.  
In altre piante, il metabolismo cambia a seconda della differenti condizioni ambientali.

# Metabolismo CAM

- E' stato identificato **in più di 1000 angiosperme di 17 famiglie.** E' solitamente accompagnato dalla succulenza, sebbene non tutte le Crassulacee hanno un metabolismo CAM e la succulenza non sia una condizione sufficiente per il metabolismo CAM.
- **Le piante CAM vivono in ambienti ad elevata aridità e, al contrario delle altre piante, aprono i loro stomi solo durante la notte.**
  - **Le piante CAM hanno quindi un ciclo C4 non separato nello spazio, ma nel tempo.**



- Come le piante C<sub>4</sub>, usano la PEP carbossilasi per fissare CO<sub>2</sub>, formando OAA. OAA è poi convertito in malato, che è conservato nei vacuoli.
- Durante il giorno, quando gli stomi sono chiusi, CO<sub>2</sub> è rimossa dal malato ed entra nel ciclo di Calvin.

# Metabolismo CAM

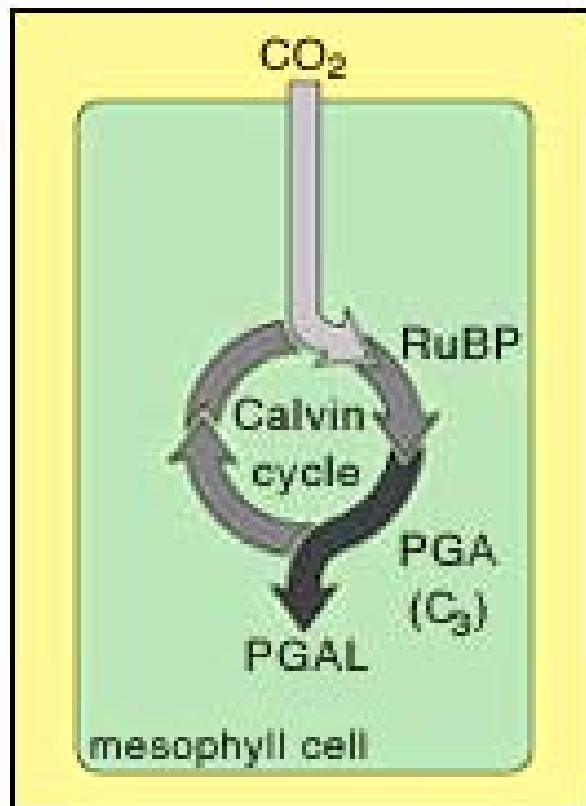
- **Le piante CAM conservano molto malato e, per evitare alti potenziali osmotici, devono assorbire molta acqua.**
- **Sono meno resistenti al freddo delle piante C3.**
- **il metabolismo C4 e CAM si escludono a vicenda.**



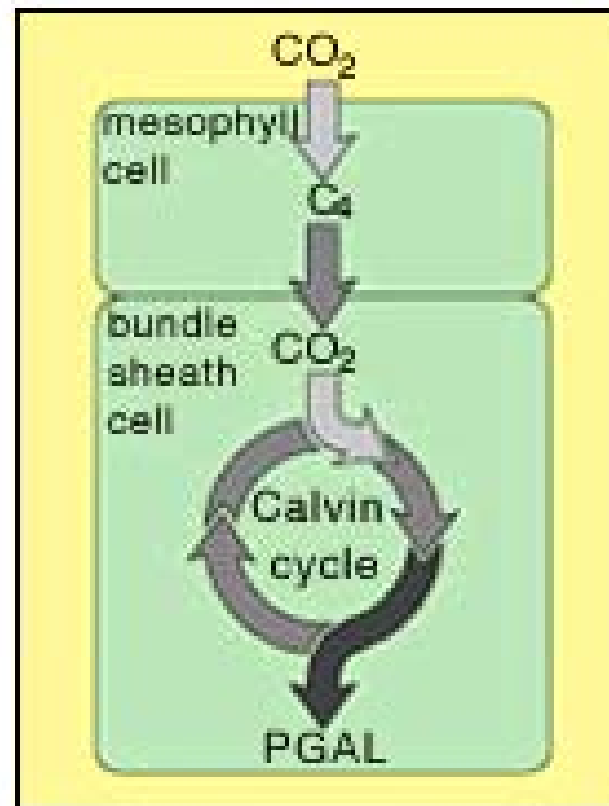
Un'eccezione è la dicotiledone succulenta C4 *Portulaca oleracea*, capace di scegliere la migliore via biosintetica ( C4 o CAM) a seconda delle condizioni ambientali.



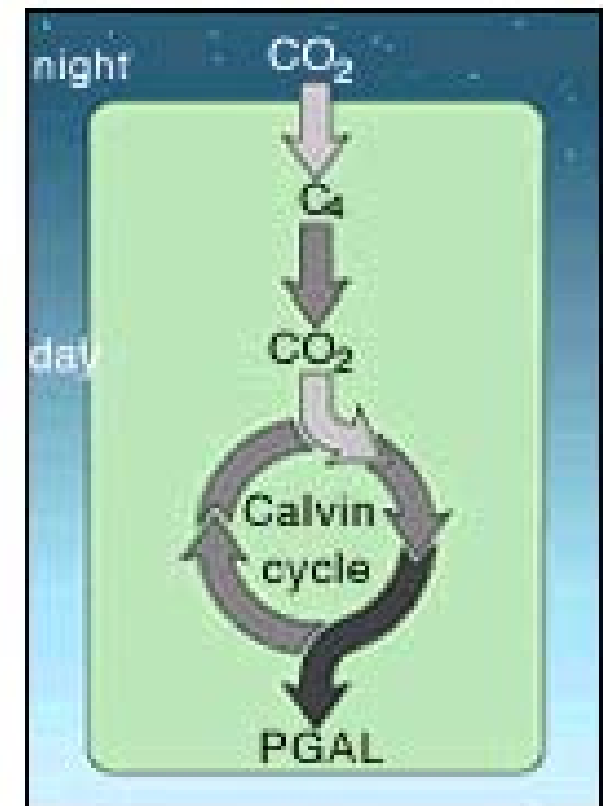
## C3, C4 e CAM: un riassunto



CO<sub>2</sub> fixation in a C<sub>3</sub> plant



CO<sub>2</sub> fixation in a C<sub>4</sub> plant



CO<sub>2</sub> fixation in a CAM plant