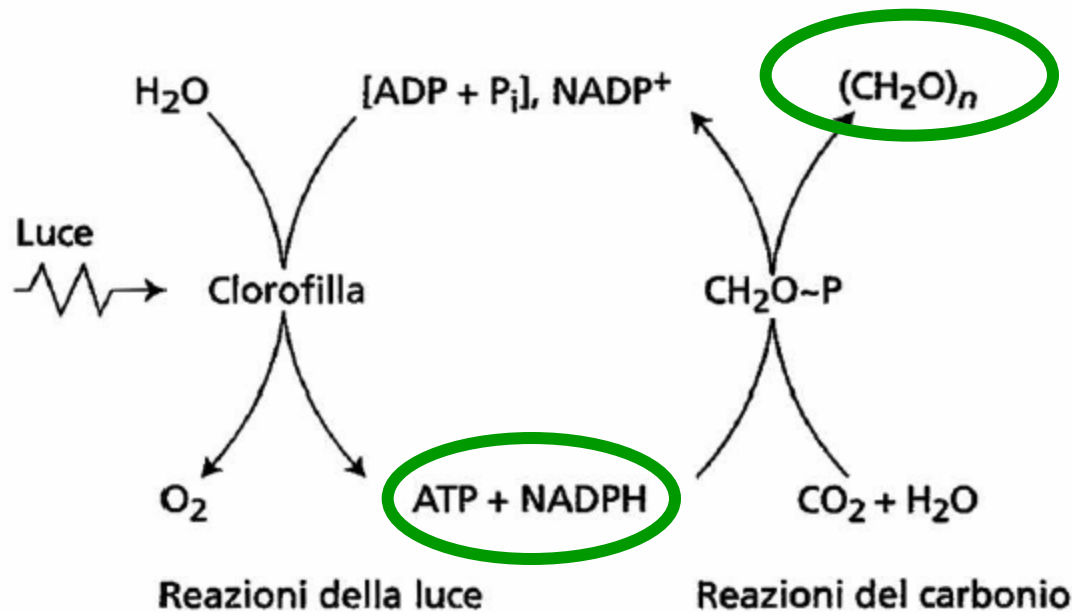


## La fase “luminosa” della fotosintesi

- **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 **organizzazione 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 **organizzazione** 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.**

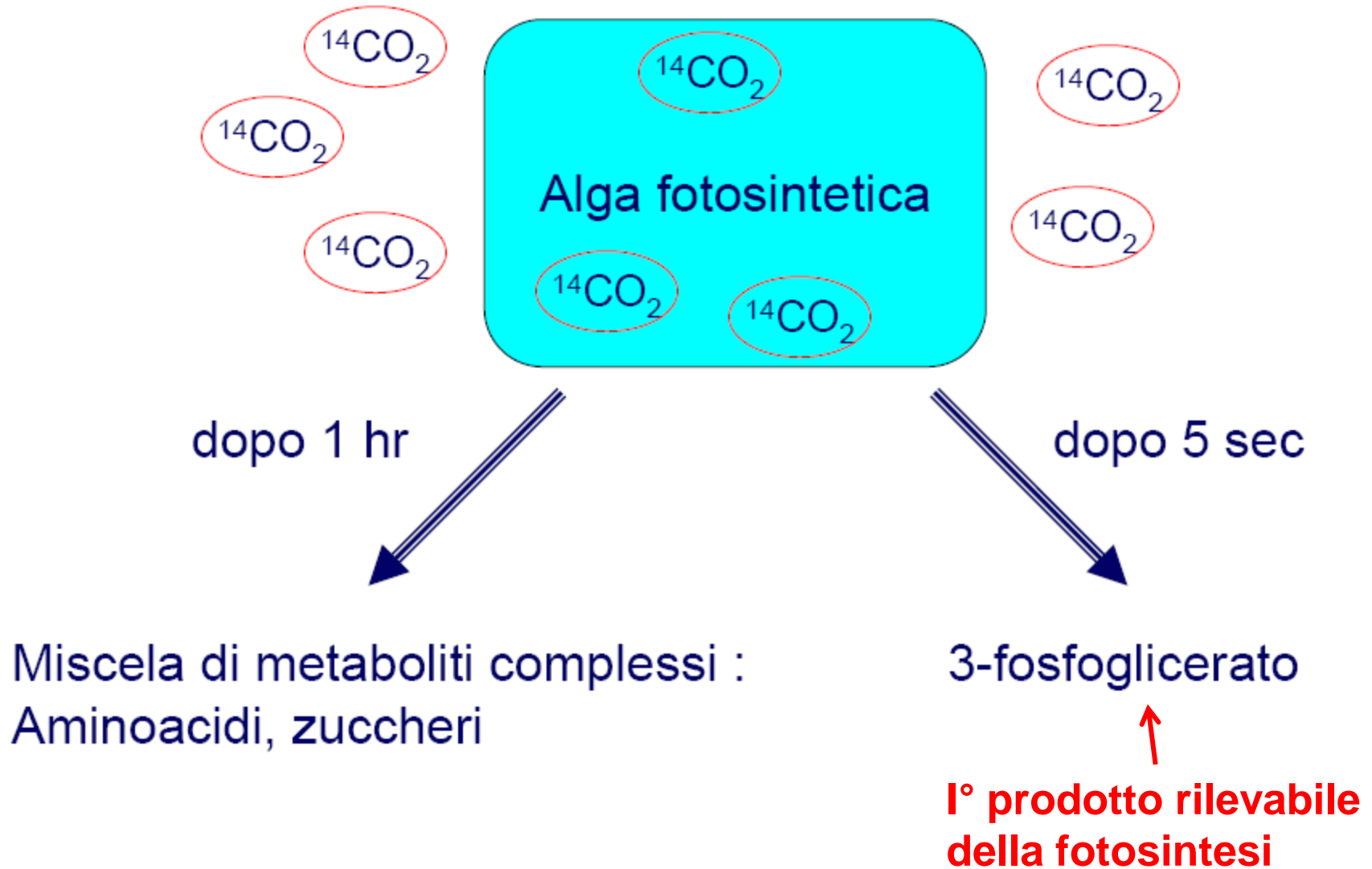
Il loro alto contenuto energetico le rende estremamente instabili, devono essere "spese" rapidamente, subito dopo essere state "guadagnate"

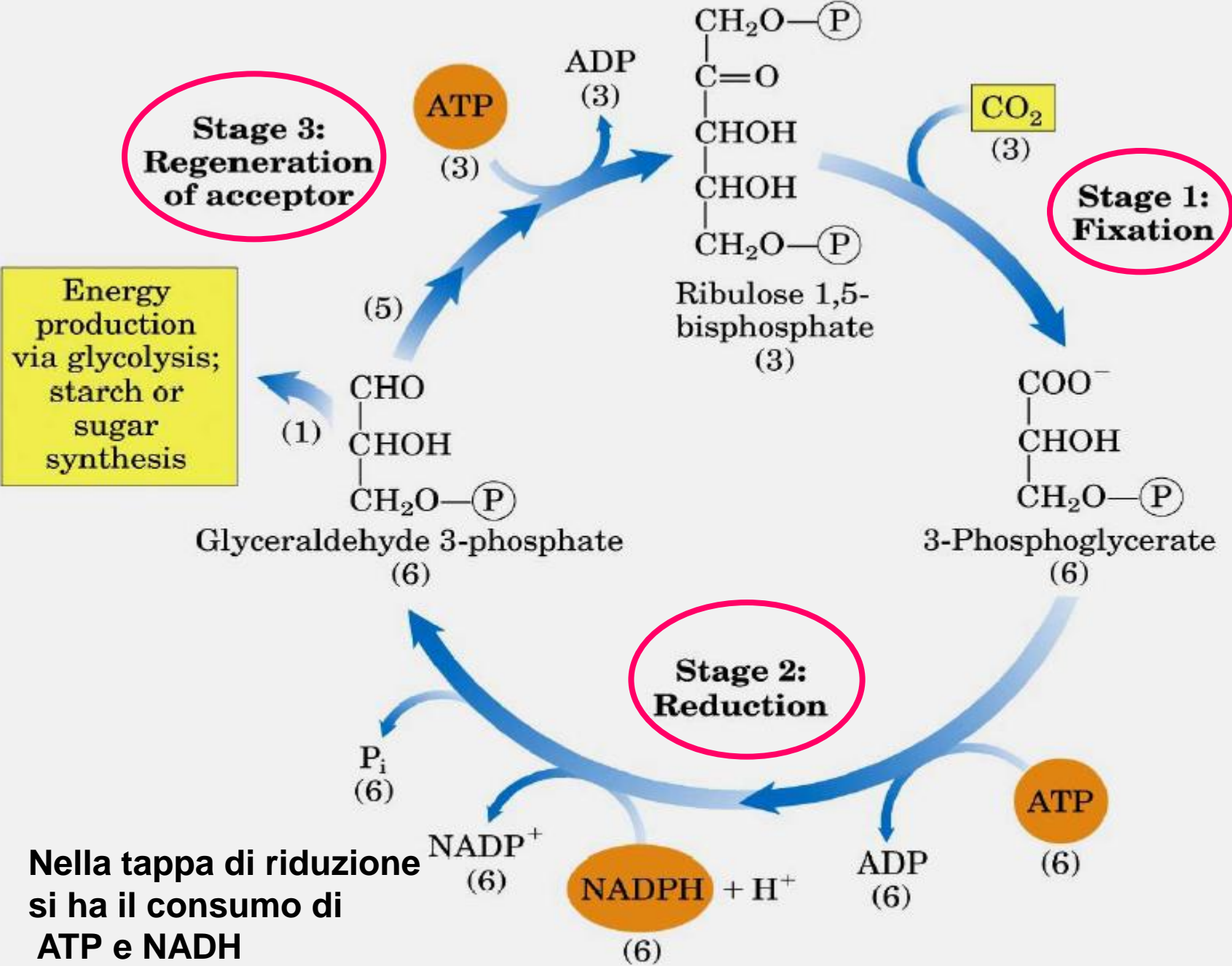
**2. I carboidrati accumulati** sono molecole stabili , possono durare nel tempo o essere rapidamente convertiti in energia

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

# CICLO DI CALVIN

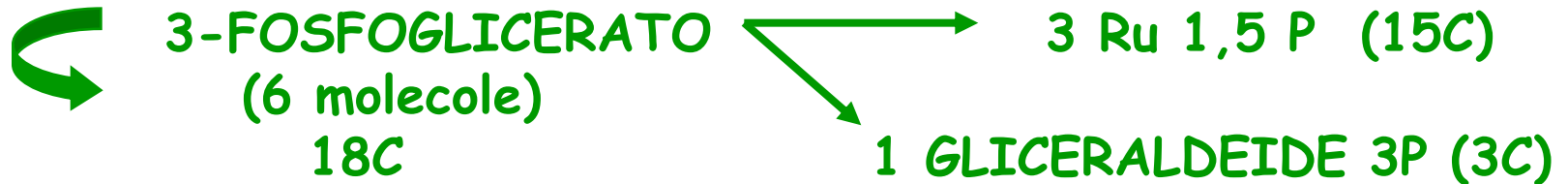
M. Calvin, J. Bassham, A. Besson 1953





Nella tappa di riduzione si ha il consumo di ATP e NADH

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



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

**diventa autocatalitico**

La fissazione di  $\text{CO}_2$  avviene dopo un periodo di induzione e la velocità fotosintetica aumenta:

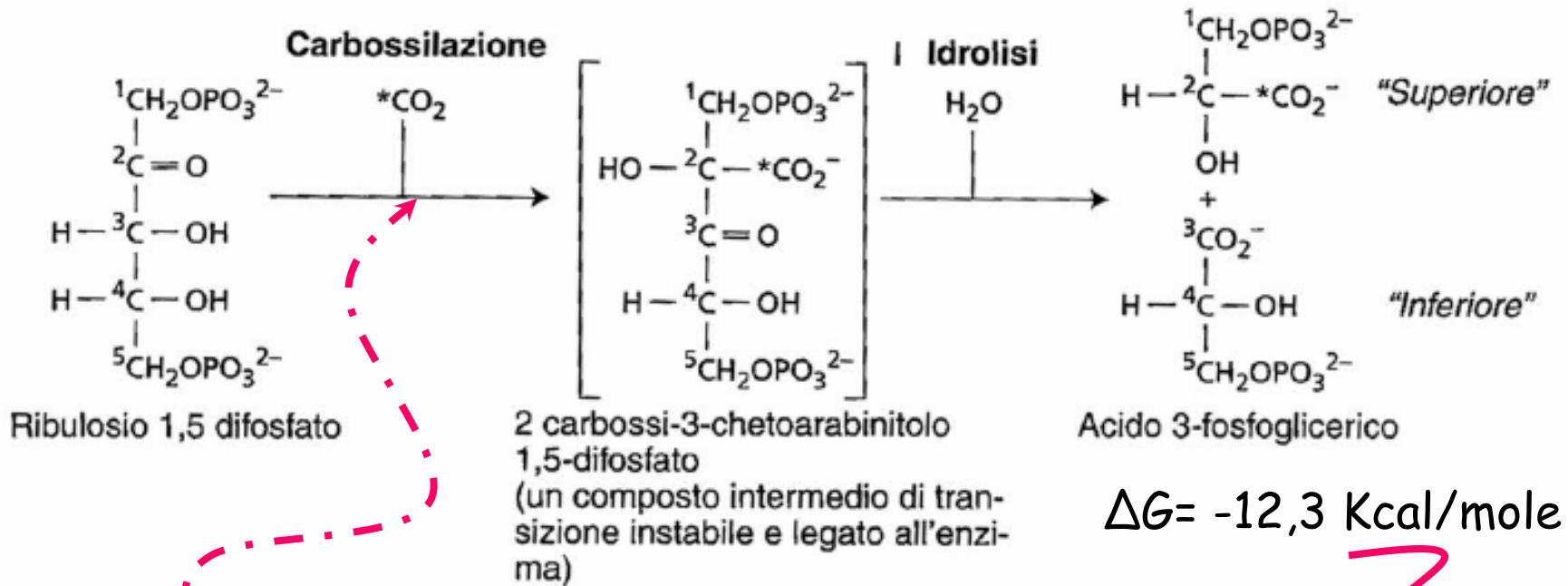
*Aumento dei composti intermedi del Ciclo di Calvin*

*Attivazione degli Enzimi ad opera della luce*

All'inizio del periodo di illuminazione la + parte dei triosi P è convogliata nel ciclo per consentire una concentrazione adeguata di metaboliti quando la fotosintesi raggiunge lo stato stazionario

esportazione di triosi verso il citosol  
sintesi di saccarosio, amido e altri metaboliti

# Carbossilazione



**Enzima RUBISCO = Ribuloso-Bifosfato-Carbossilasi**

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

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

—————> elevata affinità

**E' favorita  
la reazione  
irreversibile**



# RUBISCO

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

Le piante producono quantità enormi di questo enzima:

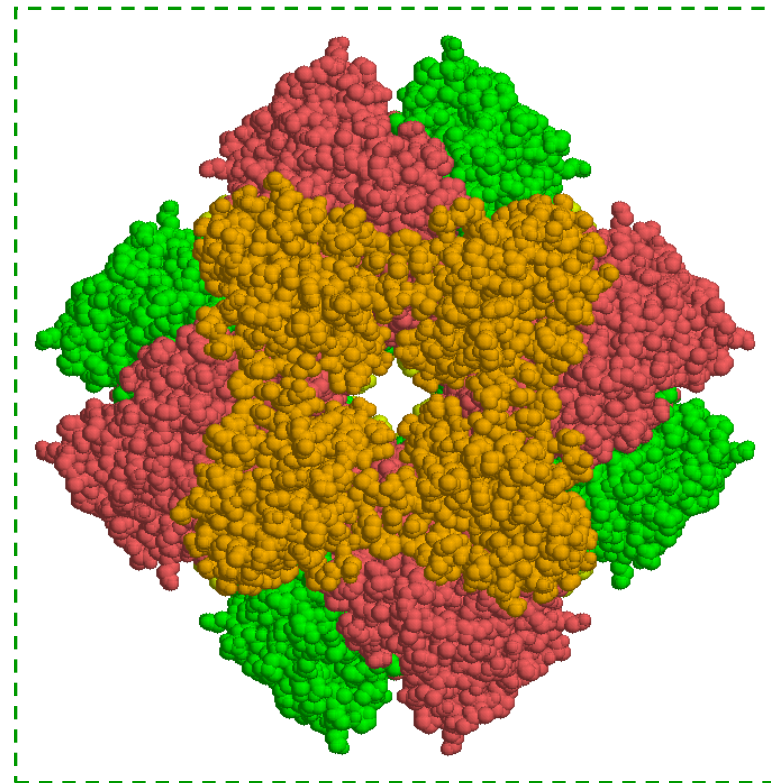
*circa il 25% di tutto il materiale proteico  
presente nei cloroplasti  
ed il 50% di quello dello stroma.*

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

**M= 660000. Nello STROMA**

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

**8 subunità piccole (???) = 14000**

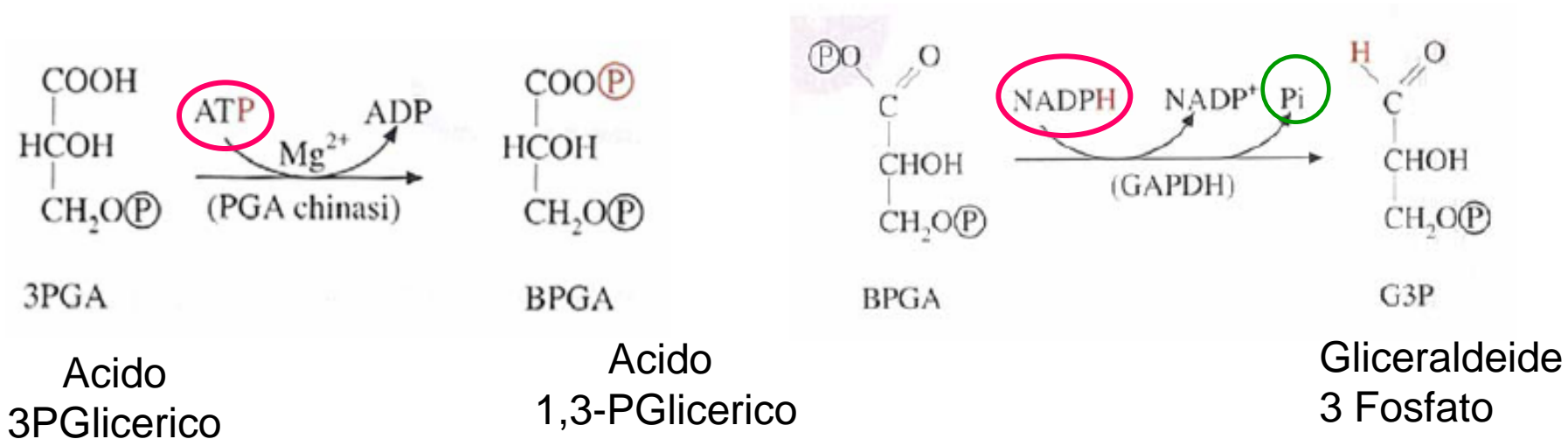


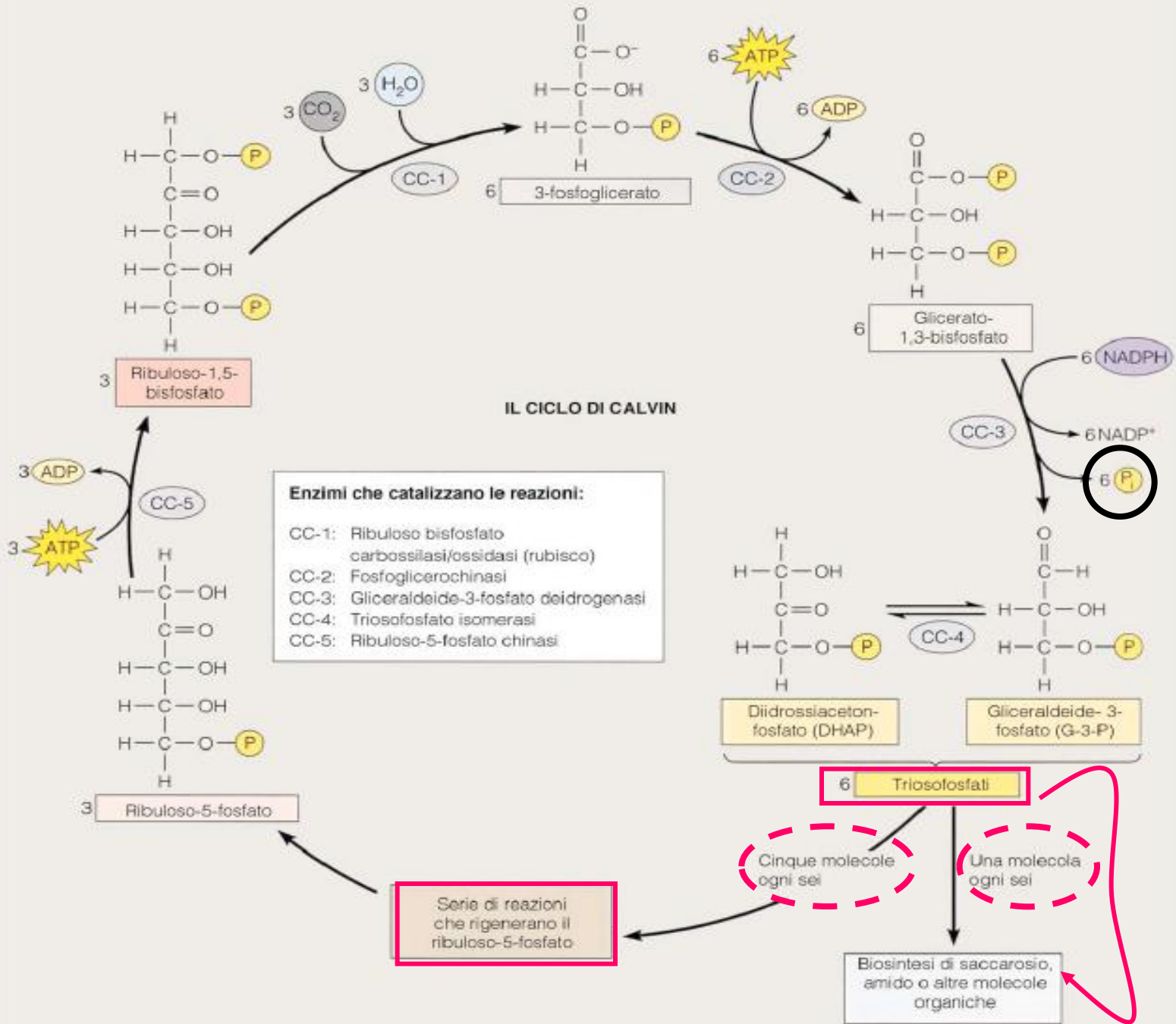
# Riduzione

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

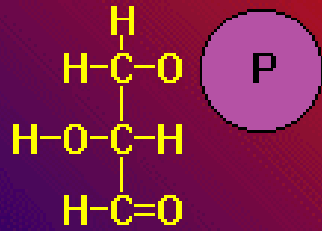
*La riduzione non è diretta.*

si libera Pi





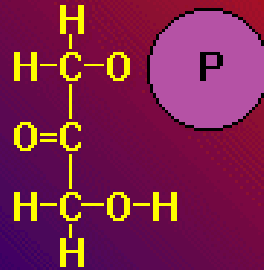
1



GP3

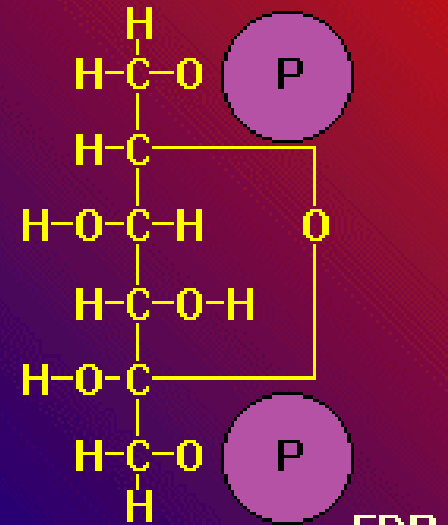
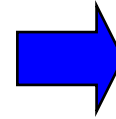
gliceraldeide 3-fosfato

2



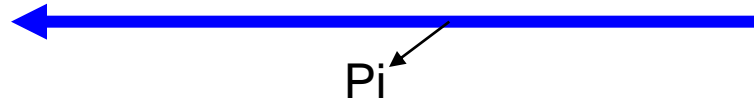
DHAP

diidrossiacetone fosfato



FDP

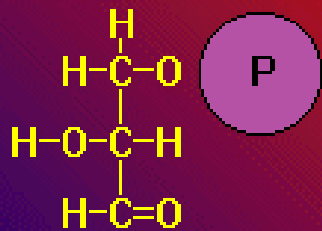
fruttosio 1,6-difosfato



Fru 6P

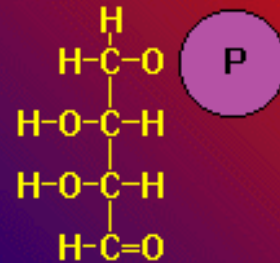
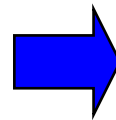
+

3



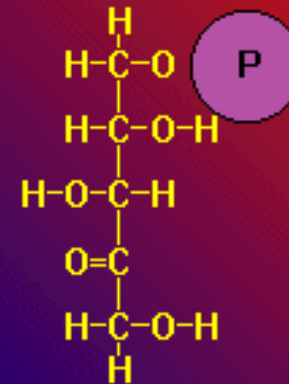
GP3

gliceraldeide 3-fosfato



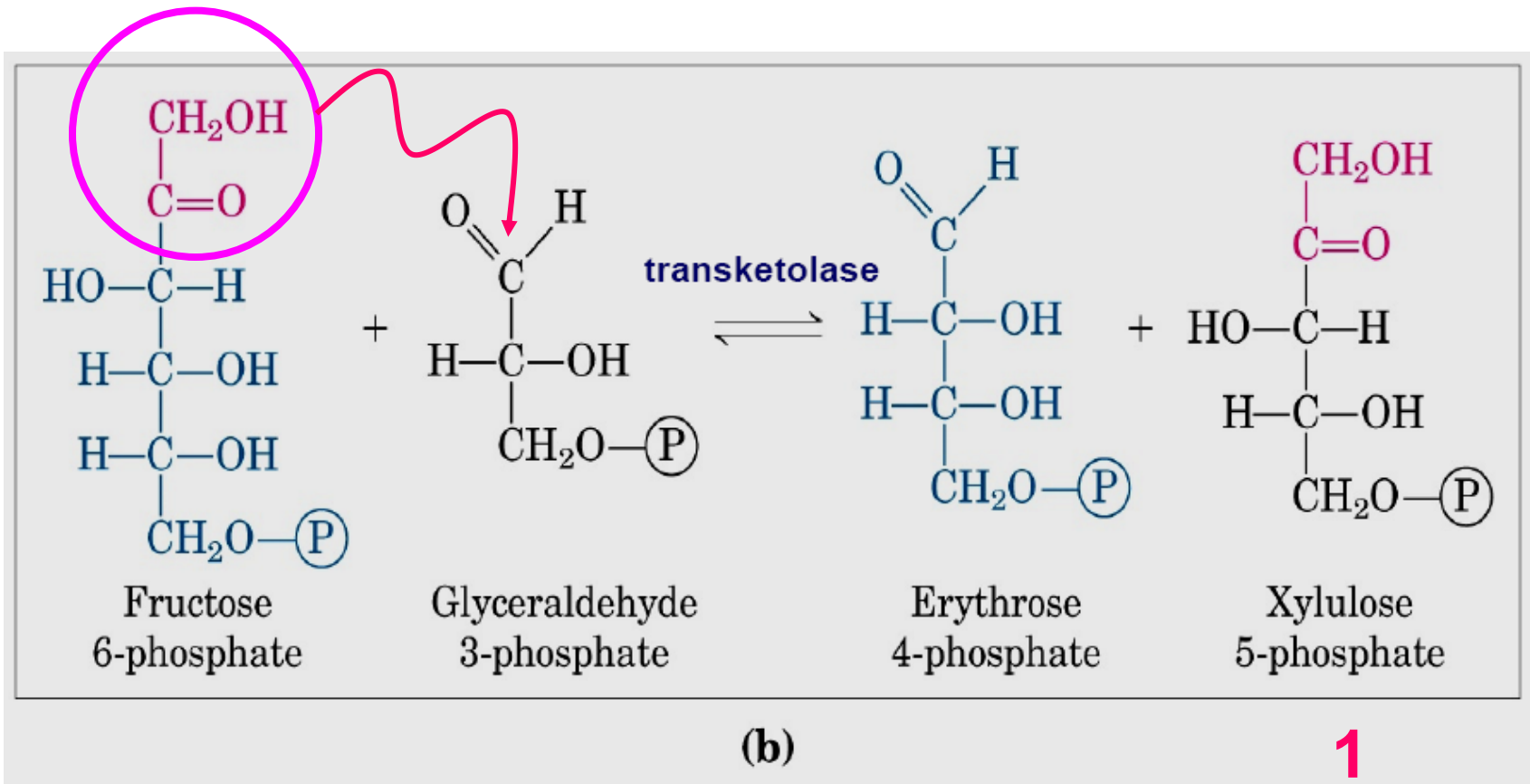
E4P

eritrosio 4-fosfato

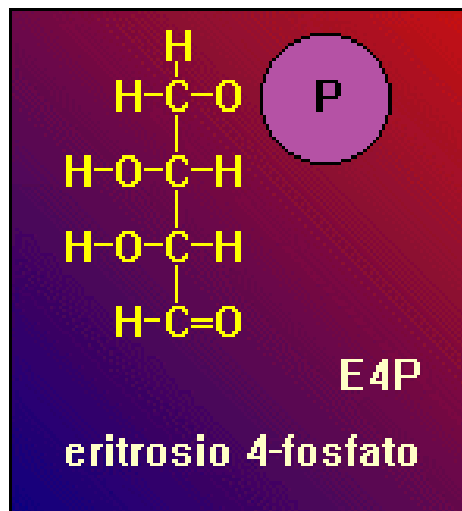


Xu5P

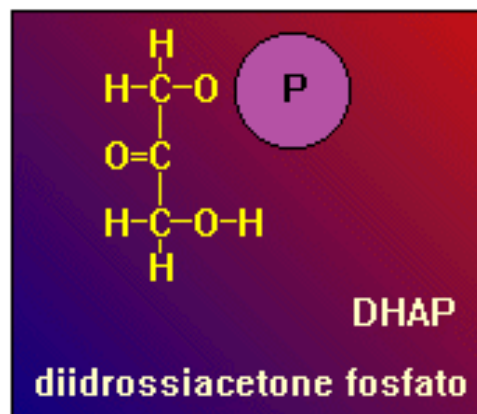
xilulosio 5-fosfato



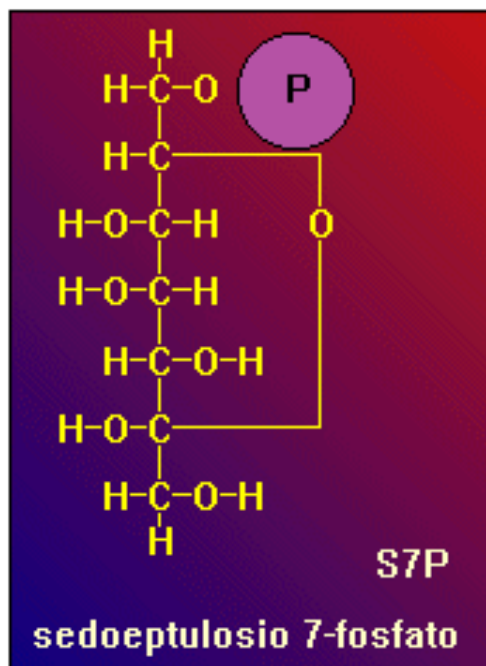
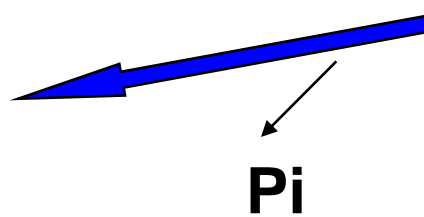
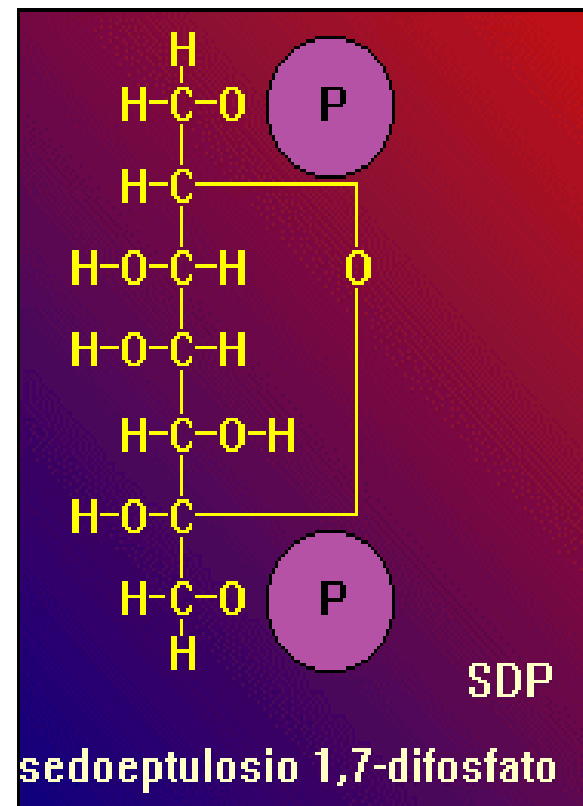
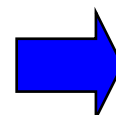
La **transchetolasi** trasferisce un gruppo a due atomi di C di un chetoso donatore al gruppo prostetico dell'enzima e poi ad un aldoso accettore.

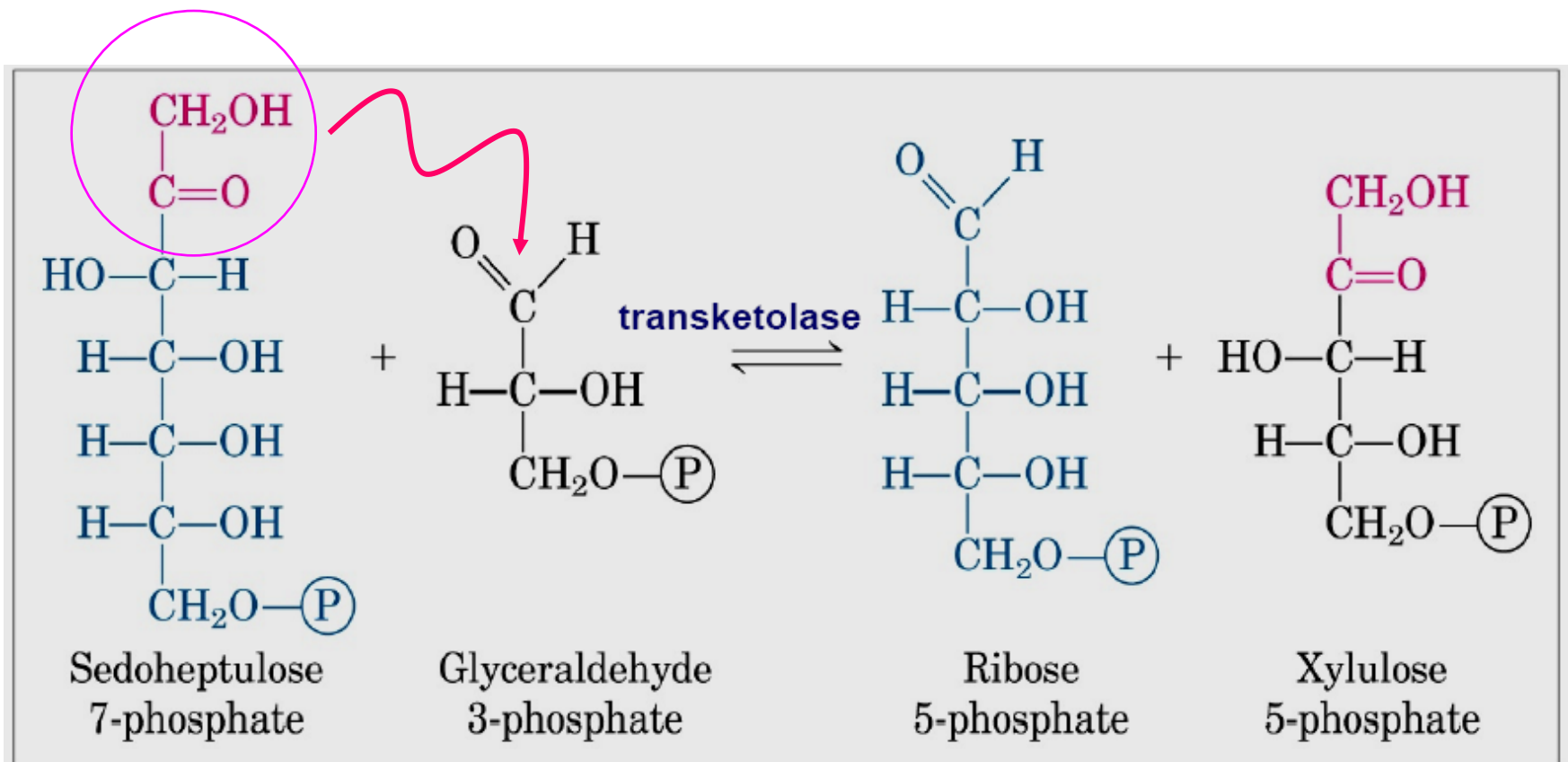


+



4

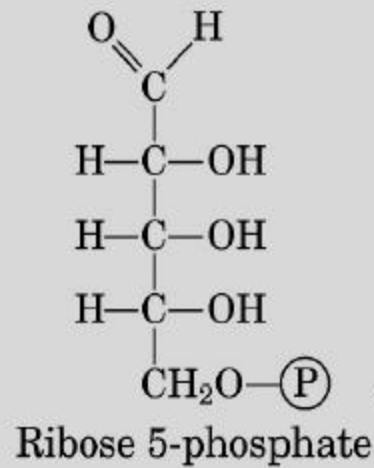




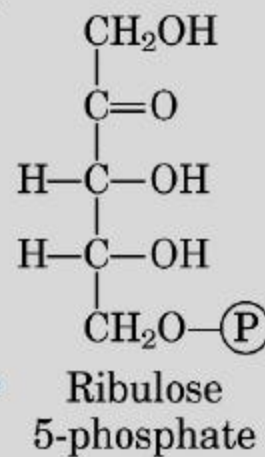
5

2

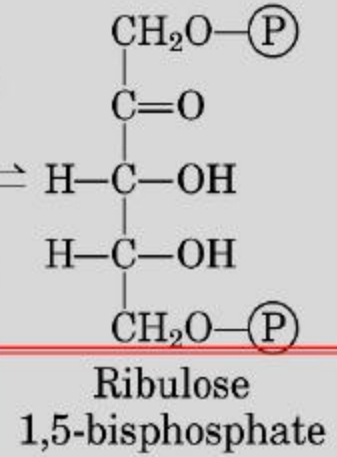
3



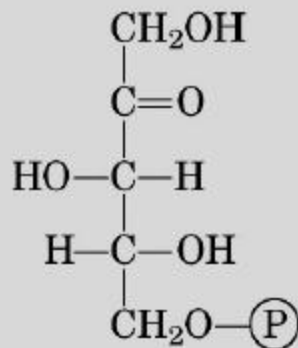
ribose  
5-phosphate  
isomerase



ATP → ADP  
ribose  
5-phosphate  
kinase



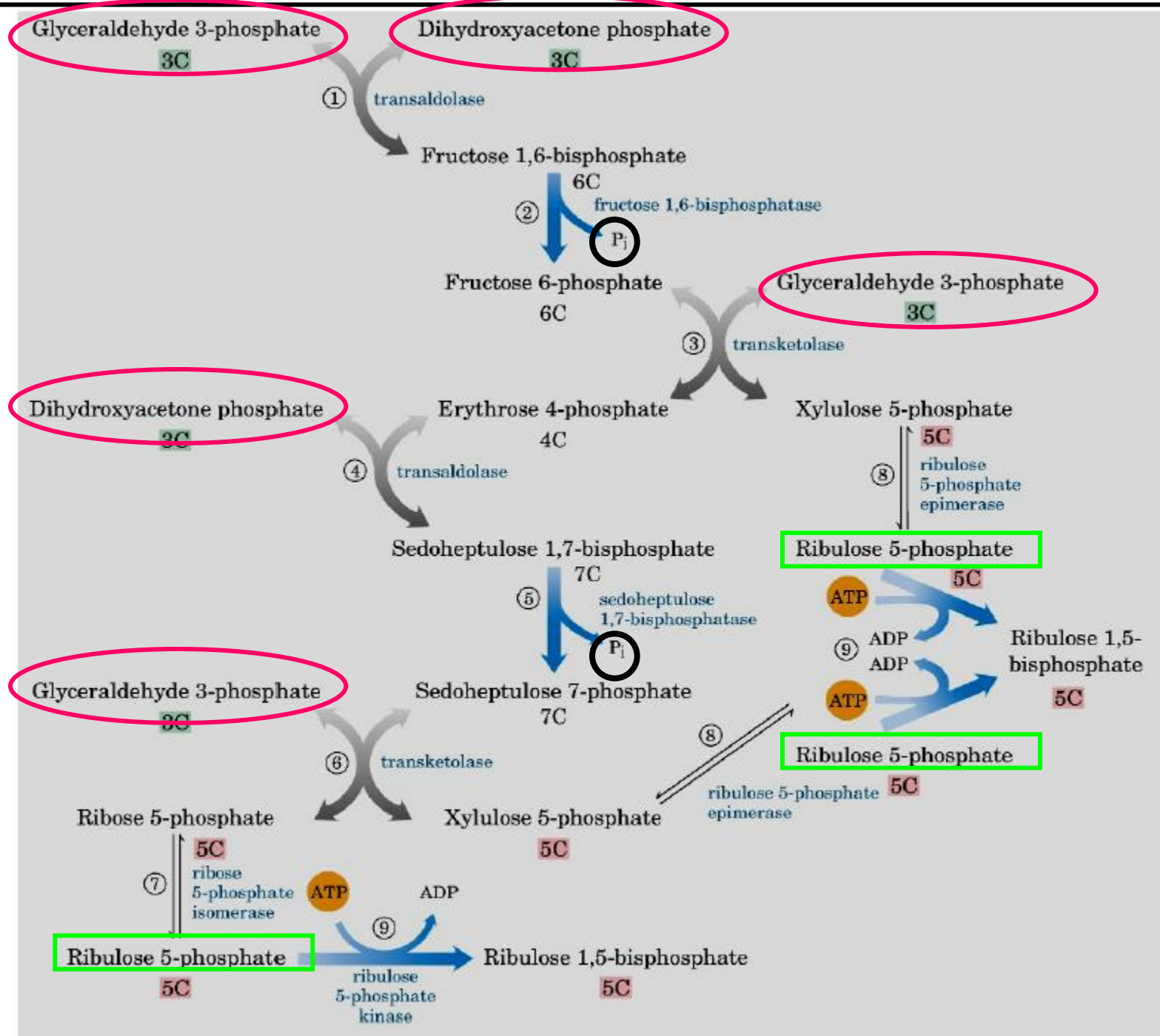
ribose  
5-phosphate  
epimerase



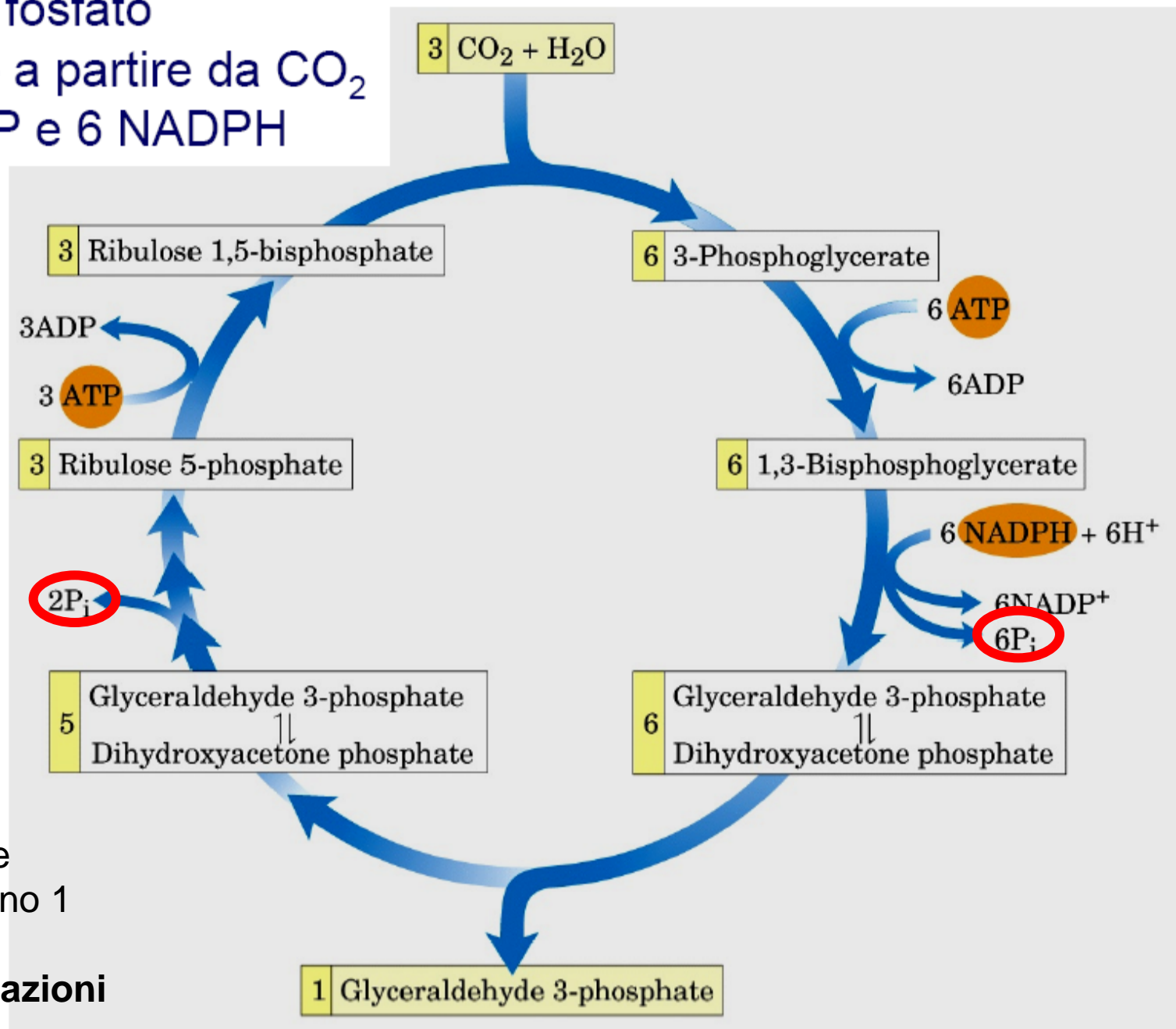
Xylulose 5-phosphate





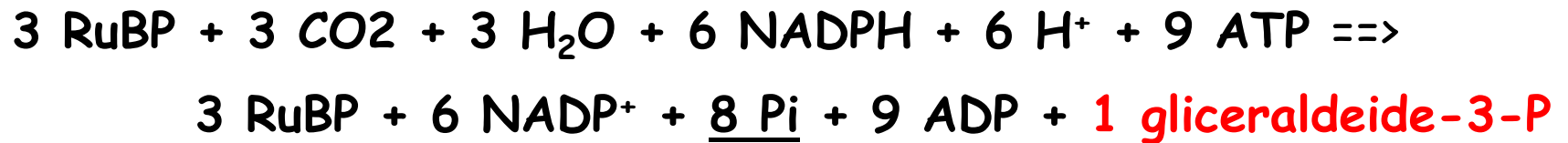


Ogni trioso fosfato sintetizzato a partire da  $\text{CO}_2$  costa 9 ATP e 6 NADPH



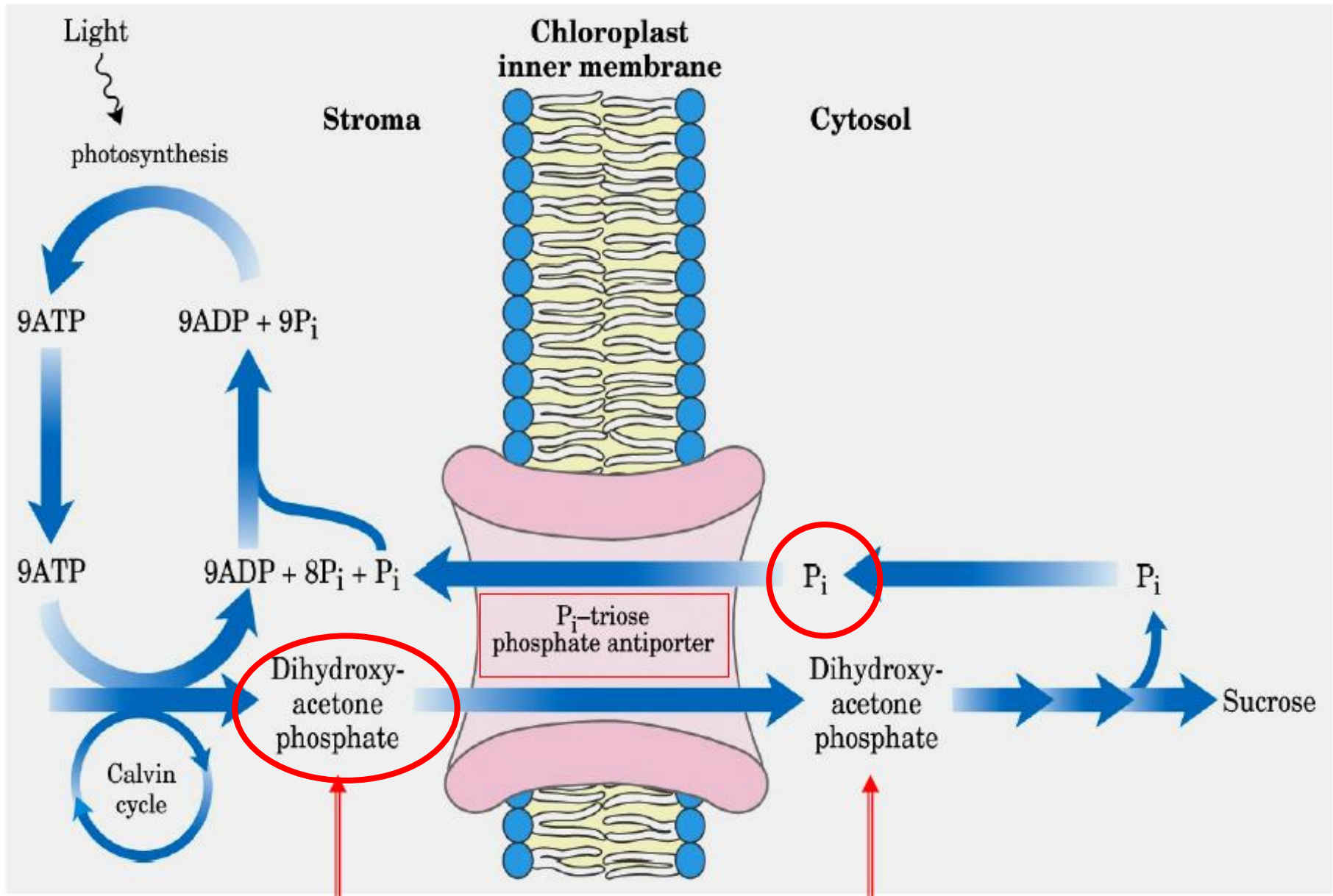
Affinchè tutte le tappe avvengano 1 volta:

**3 carbossilazioni**



Per rigenerare 9 ATP (con soli 8  $\text{P}_i$ ) c'è bisogno di importare dal citosol nello stroma un gruppo fosfato (ANTIPORTO  $\text{P}_i$ -triosio fosfato (DHAP)) sulla membrana interna dei cloroplasti, impermeabile agli altri composti.

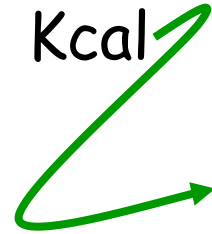
*L'ADP, il  $\text{P}_i$  e il  $\text{NADP}^+$  ottenuti dal ciclo C3 sono di nuovo disponibili per le reazioni della fase luminosa e vengono quindi riciclati per formare nuovi ATP e NADPH.*



Consumo energetico complessivo:

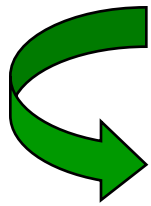
9 ATP                      9 x 7 Kcal = 63 Kcal

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**

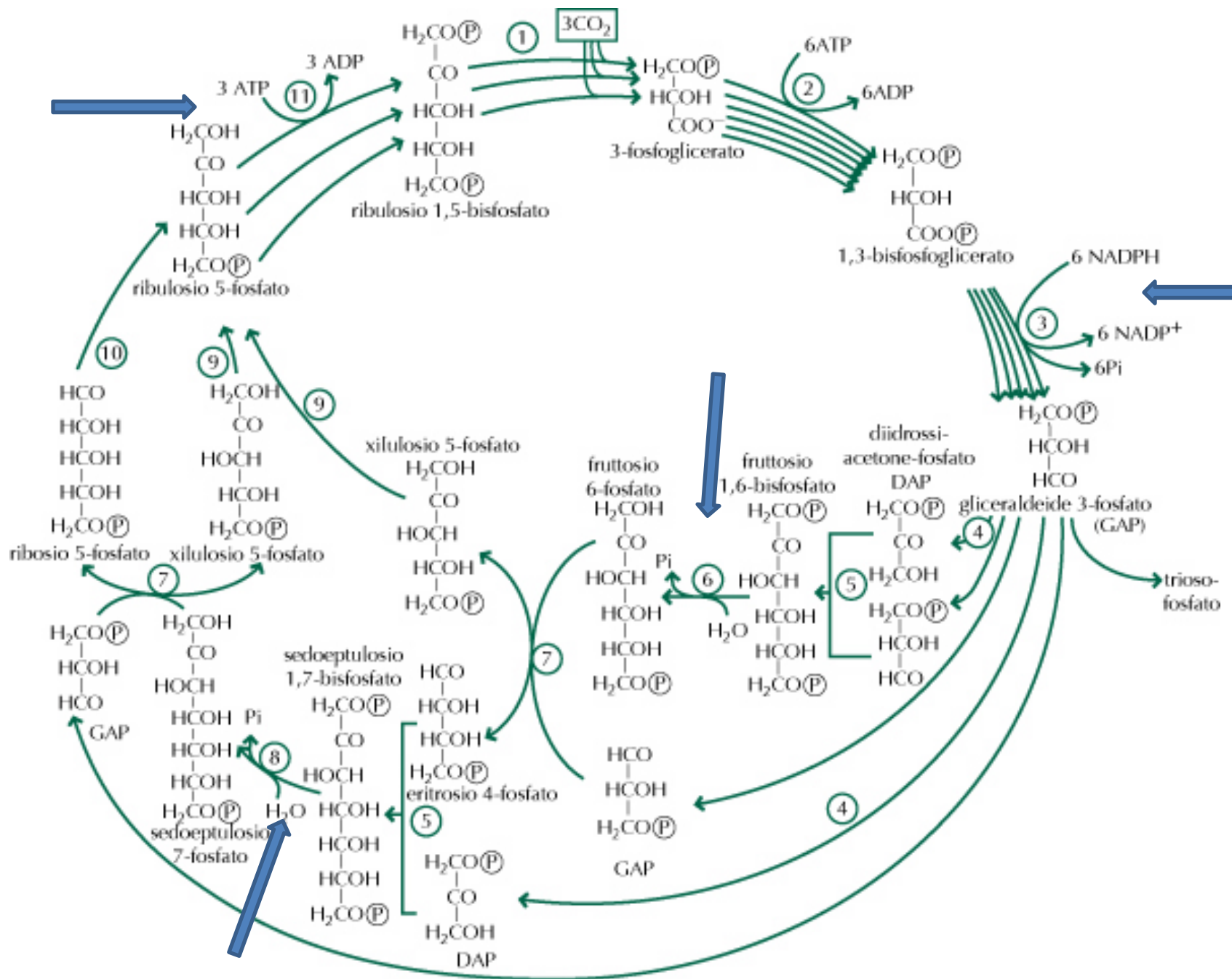
**750 kcal Totali**

## 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-tioredoossina** (che attiva anche altri enzimi cloroplastici es.  $C_4$  e traduzione di mRNA specifici)



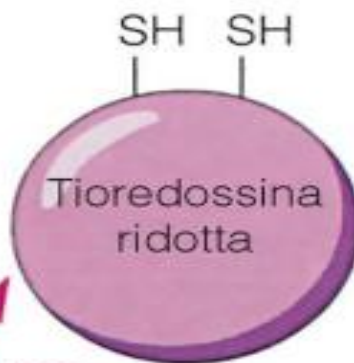
Fotone



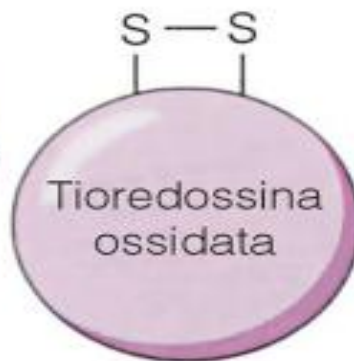
$2 e^-$



Ferredossina  
 $\times 2$

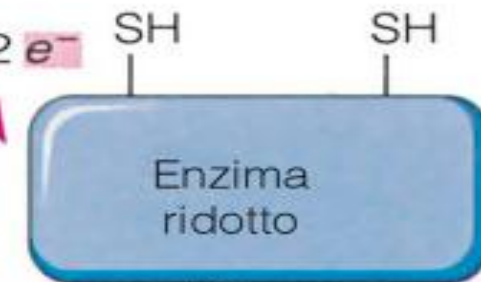


$2 e^-$

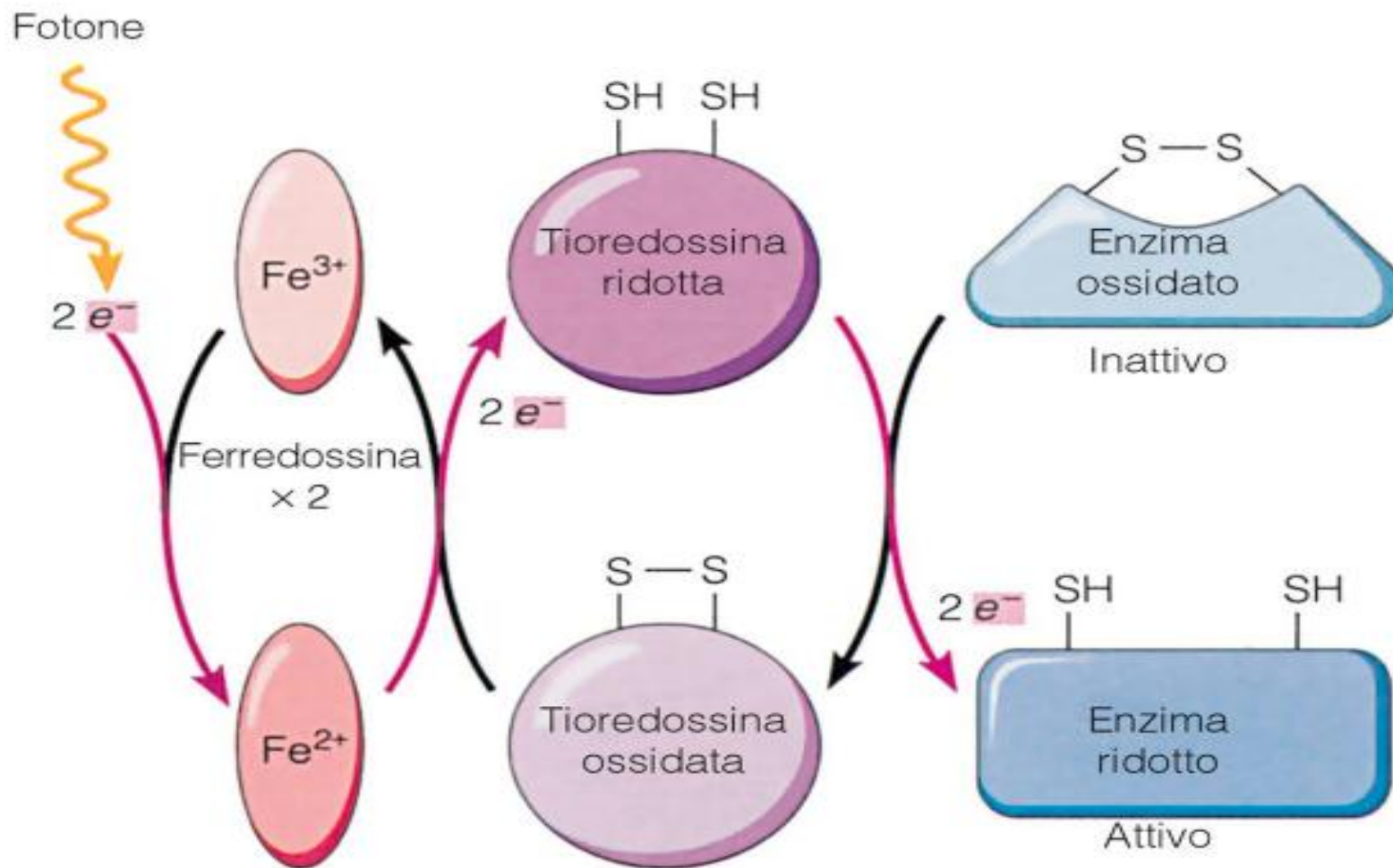


Inattivo

$2 e^-$

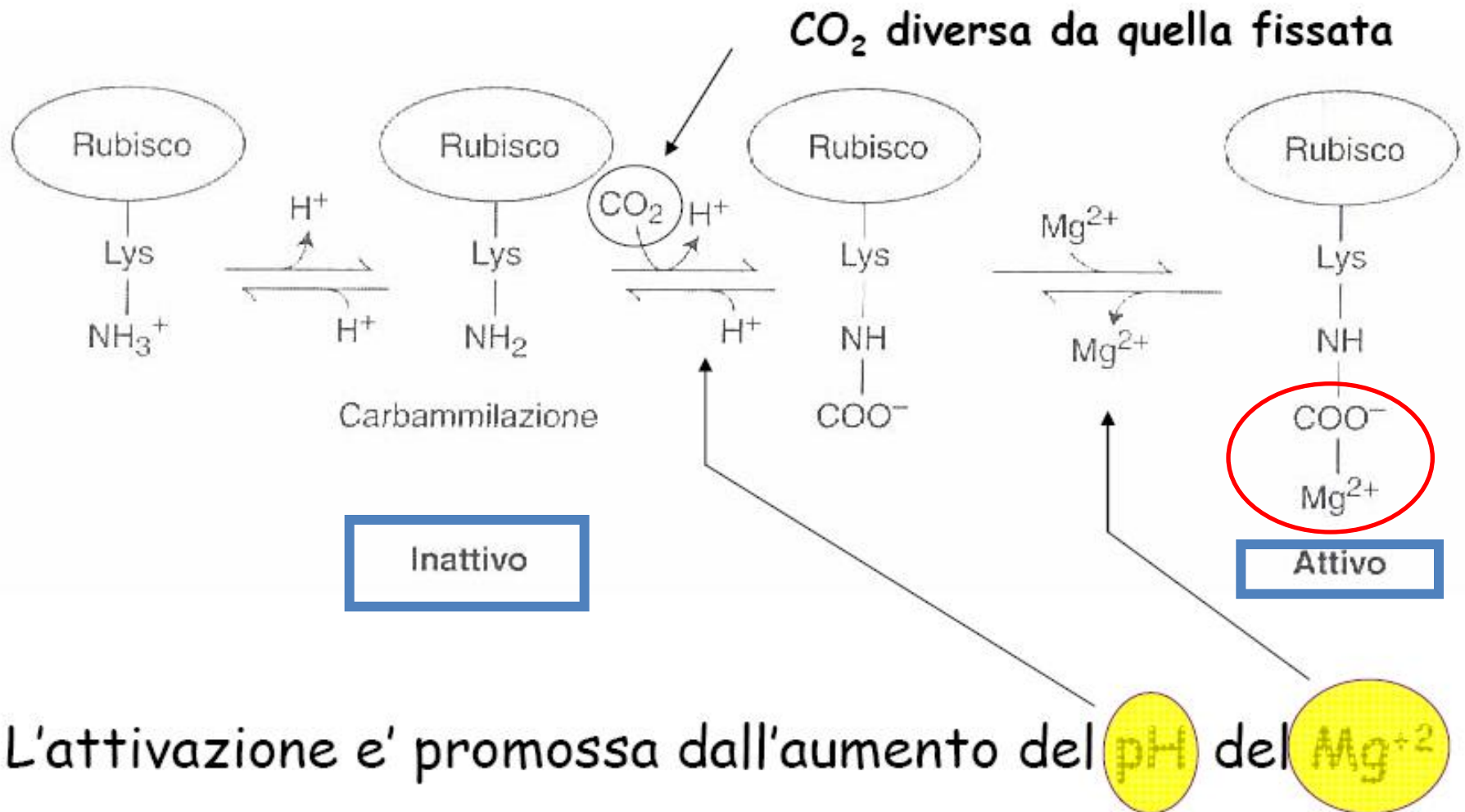


Attivo





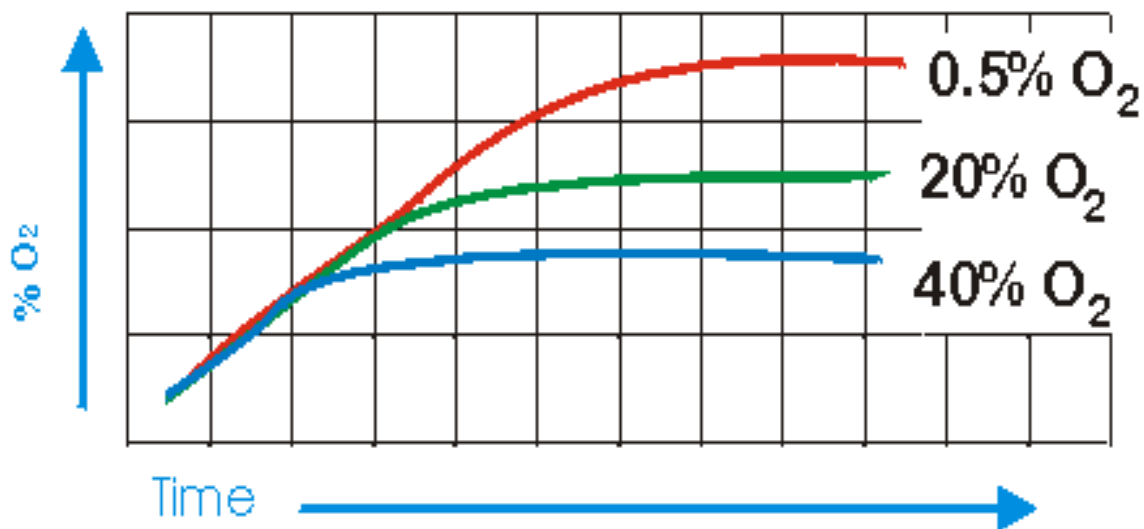
# ATTIVAZIONE DELLA RUBISCO



L'attivazione e' promossa dall'aumento del pH del Mg<sup>2+</sup>


LA RUBISCO funziona anche da **OSSIGENASI** nella

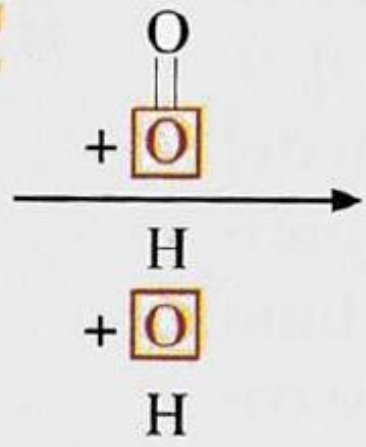
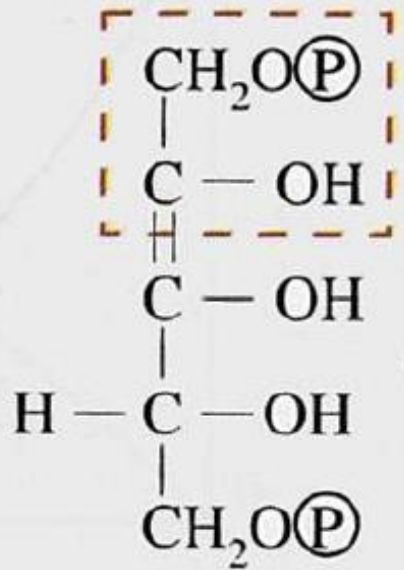
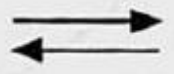
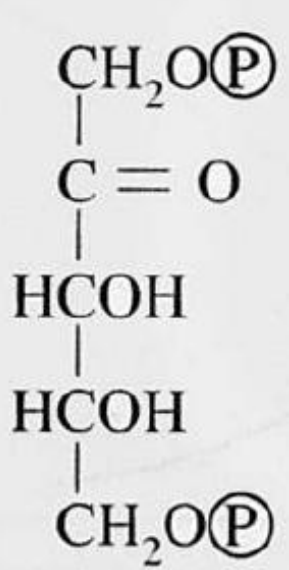
## FOTORESPIRAZIONE



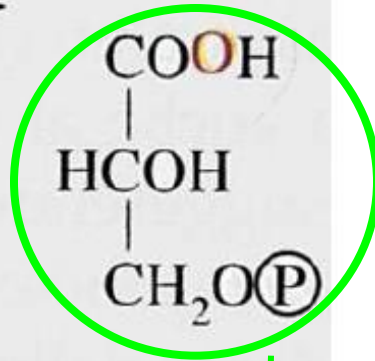
In presenza di maggiori [O<sub>2</sub>] il tasso fotosintetico diminuisce

**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% !



+

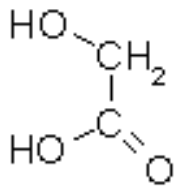


PE  
RO  
SSI  
SO  
MI

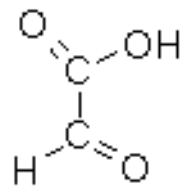
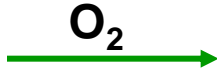
CICLO  
DI  
CALVIN

Ru 1,5 BP

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



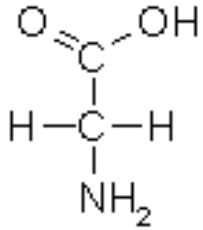
Glicolato



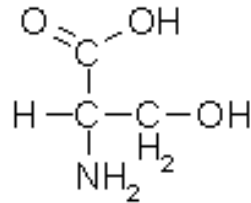
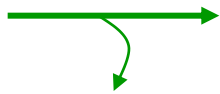
Gliossilato

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

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

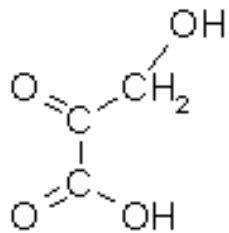


2 Glicina

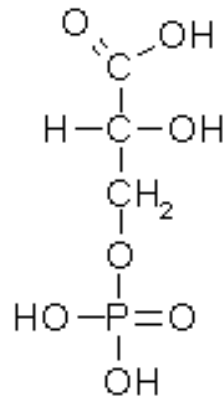


Serina

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



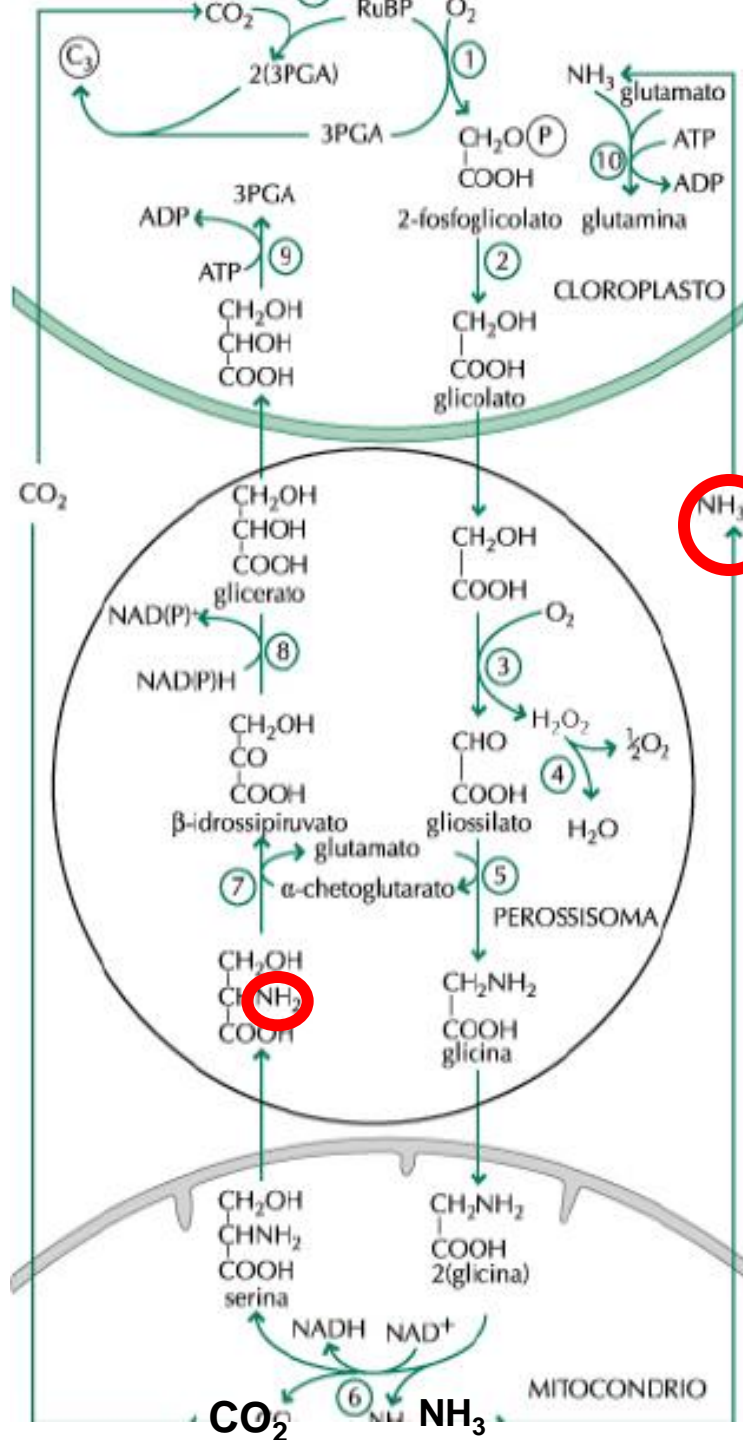
Idrossipiruvato



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.

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

La serina rientra nel perossisoma

**CO<sub>2</sub> e NH<sub>3</sub>**

vengono recuperate e riorganicate

- 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 Fotorrespirazione funzionano in direzioni opposte:*

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

La fotorrespirazione **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

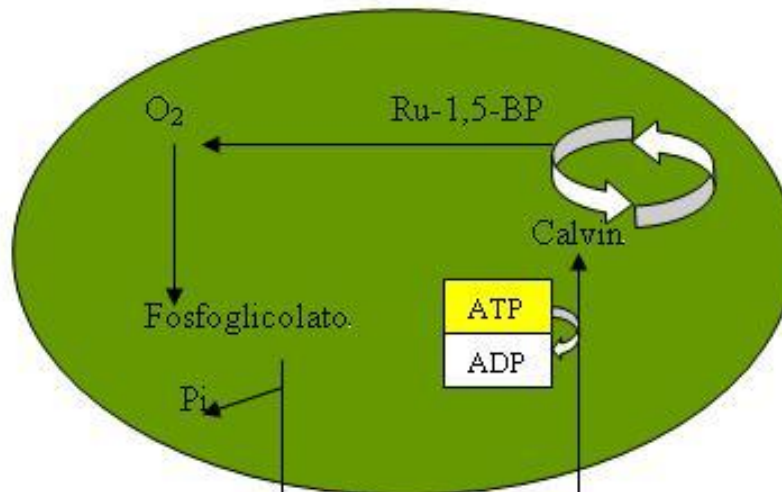
Circa ***1/3 di RuBP è utilizzato senza fissare  $\text{CO}_2$ .***

**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

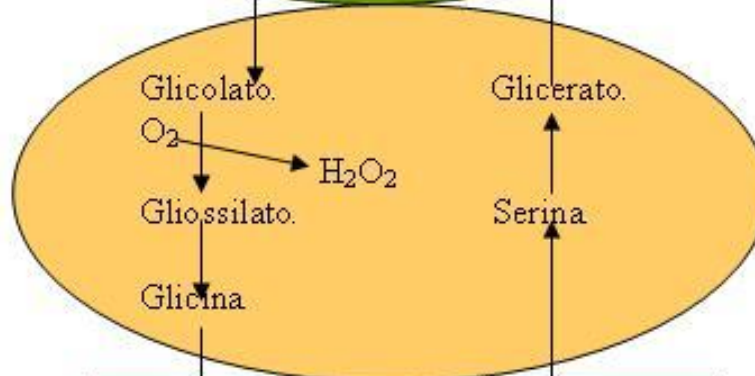


CLOROPLASTO



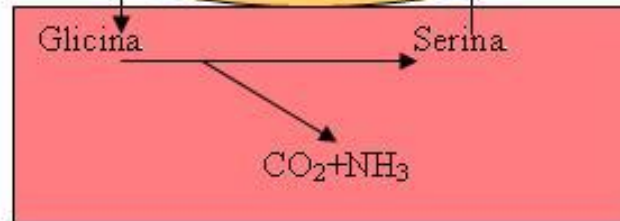
Nel **CICLO DI CALVIN** :  
**ATP (3) e NADPH (2)**  
per 1  $CO_2$

PEROSSISOMA



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

MITOCONDRIO



SPESA ENERGETICA: **per 1  $CO_2$  prodotta**

**6,8 ATP e 7 NADPH**

considerando il costo energetico per il riciclo della  $CO_2$  nel Ciclo C<sub>3</sub> e la spesa per la riorganizzazione della  $NH_3$

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  $\text{CO}_2$  e  $\text{O}_2$
3. Temperatura

*In condizioni normali  $\text{CO}_2 < 0,03\%$  e  $\text{O}_2 \sim 21\%$*

*La fissazione di  $\text{CO}_2$  3 volte > produzione di  $\text{CO}_2$*

**Ciclo C3**

**>**

**Ciclo C2**

Fissazione netta di  $\text{CO}_2$

Liberazione di  $\text{O}_2$

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

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

l'intensità luminosa nella quale fotosintesi e respirazione sono uguali in valore assoluto

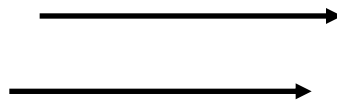
è la concentrazione di CO<sub>2</sub> alla quale la quantità di CO<sub>2</sub> fissata con il Ciclo di Calvin (C3) = CO<sub>2</sub> liberata dal C2

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

In queste condizioni tutti gli scheletri carboniosi prodotti con la fotosintesi sono consumati dalla respirazione e la pianta non cresce

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

$A[CO_2] < 50 \text{ ppm}$



**Senescenza della foglia**

**Fotossidazione**

**degli zuccheri di riserva**

per il mantenimento del ciclo C2

(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	0,759	11,68	0,0283	264,6	0,0416
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*

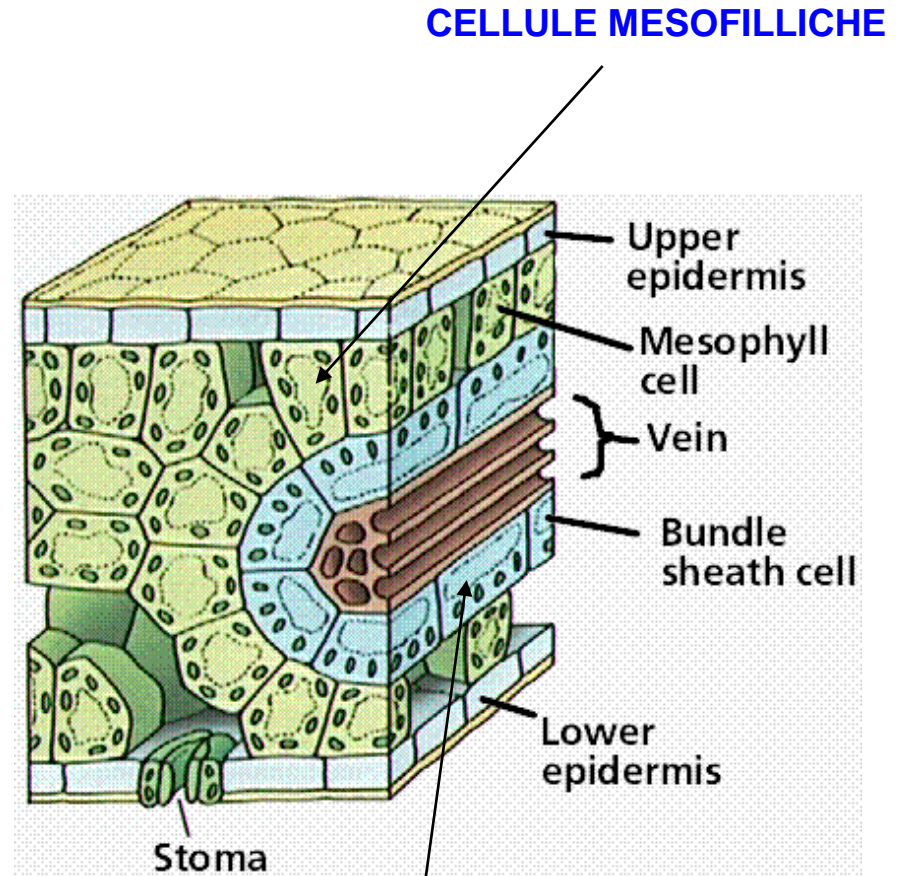
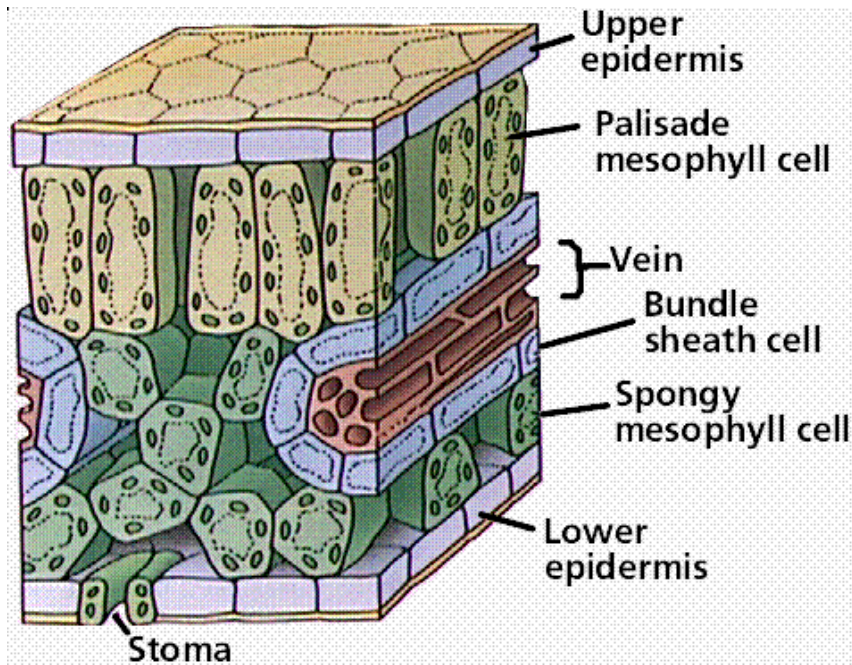
*Alcune piante hanno ridotto la fotorespirazione,  
mediante meccanismi di concentrazione della CO<sub>2</sub>*

## Piante C4

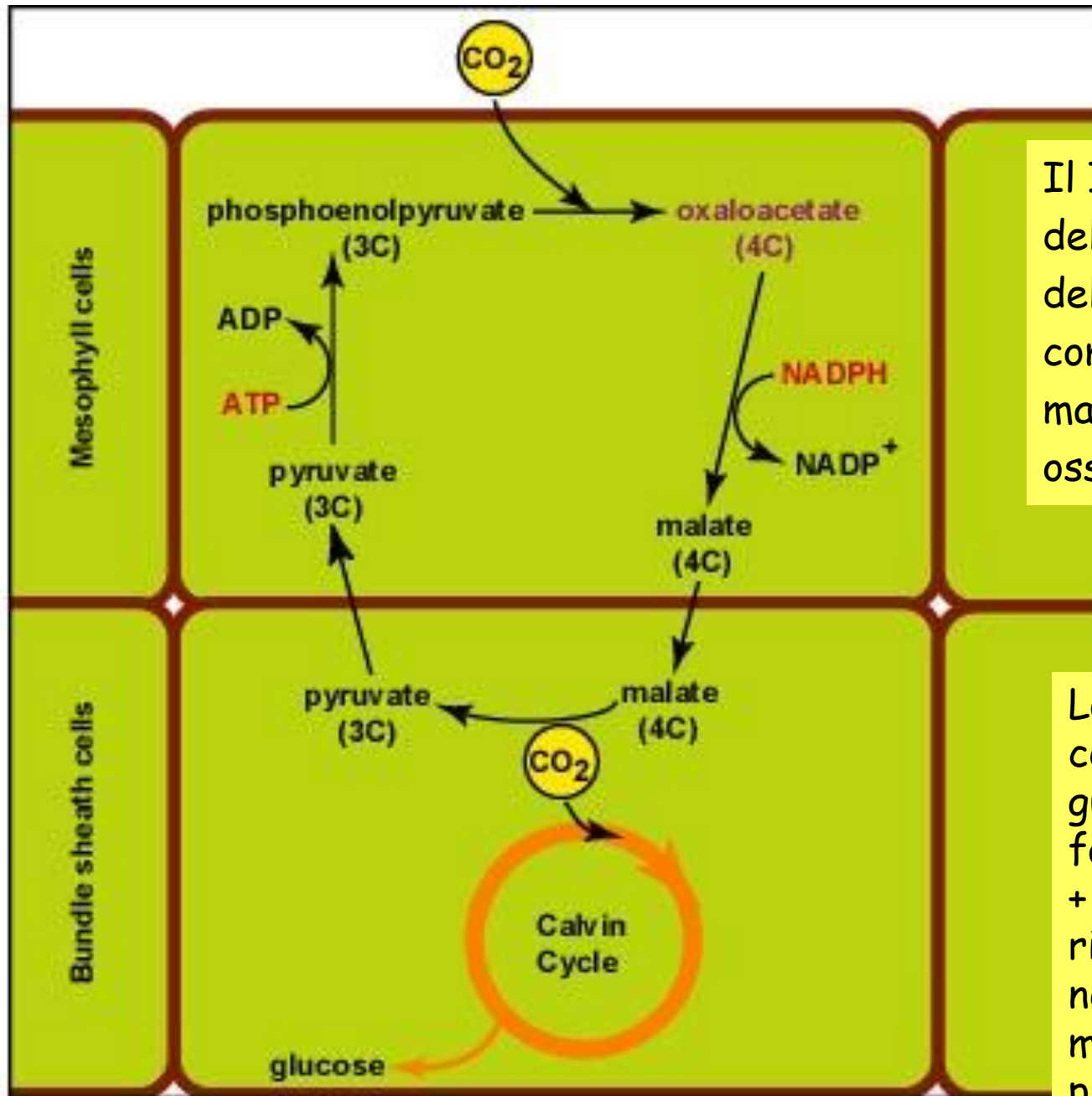
Via scoperta da Hatch e Shack nel 1960

- Piante **originarie dei tropici** (grano, canna da zucchero, sorgo, mais)
- 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**
- Le C4 appartengono a.

# C3 and C4



**CELLULE DELLA GUAINA  
DEL FASCIO VASCOLARE**

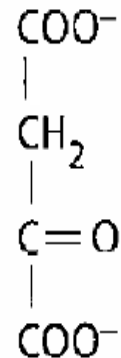
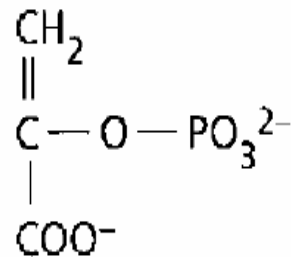
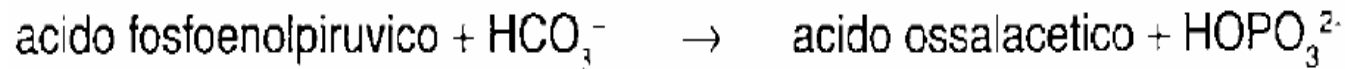


Il I° prodotto della fissazione della  $\text{CO}_2$  non è un composto a 3 C, ma l'acido ossalacetico, a 4 C

La  $[\text{CO}_2]$  nelle cellule della guaina del fascio è 10 volte + elevata rispetto a quella nelle cellule del mesofilo 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.

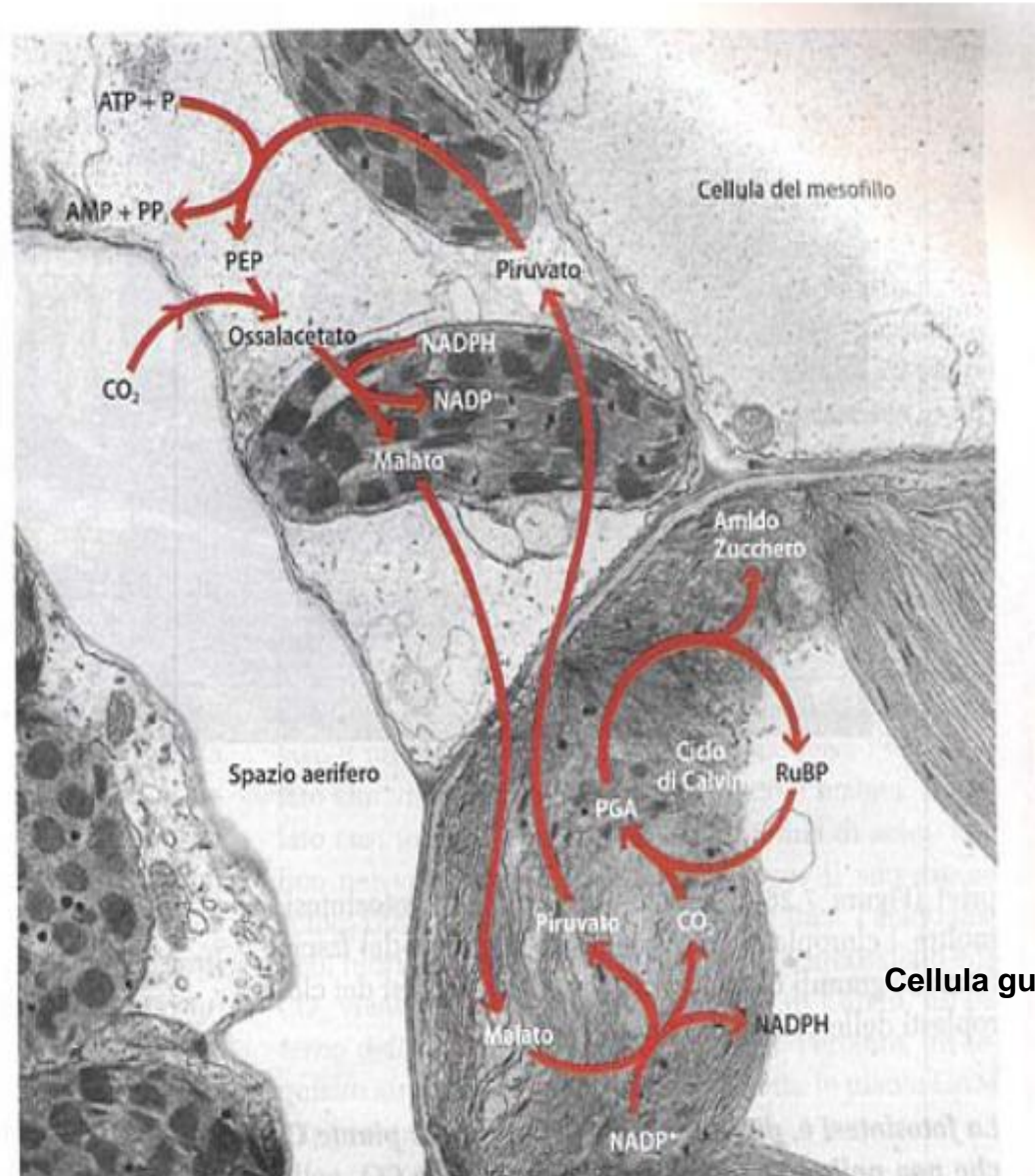
L' $\text{O}_2$  non e' un competitore della reazione.

## 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  $C_4$ . 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  $CO_2$  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  $C_4$ , che avviene nelle cellule del mesofillo e il ciclo di Calvin, che si svolge nelle cellule della guaina del fascio.

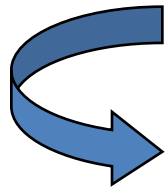
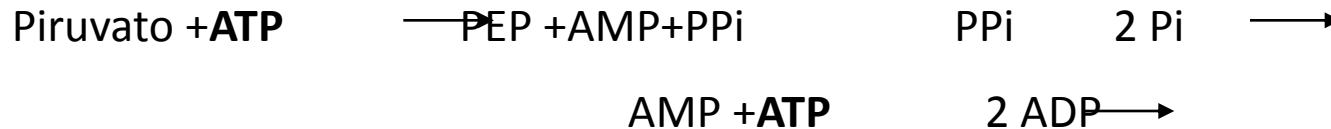


**Cellula guaina del Fascio**

# 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 in **specie filogeneticamente non correlate**, in risposta a condizioni ambientali simili :

*convergenza adattativa o coevoluzione.*

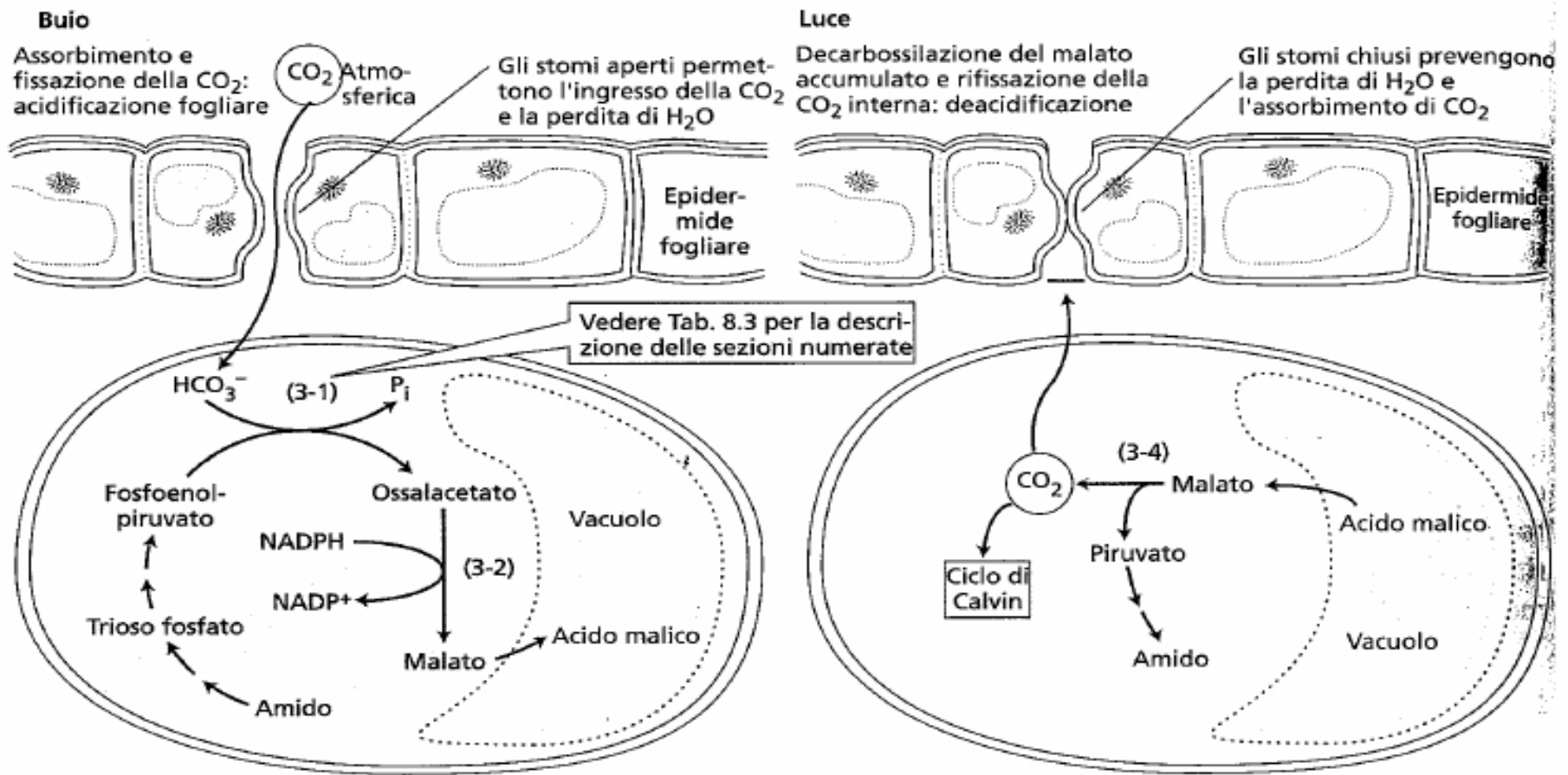
- In molte piante dei generi *Zea*, *Mollugo*, *Moricandia* e *Flaveria*, avvengono ***entrambi i tipi di fissazione della CO<sub>2</sub>***:  
nelle piante giovani c'è la C3, mentre nelle adulte la C4.

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**
- **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 un ciclo C4 non separato nello spazio, ma nel tempo.**



- Come le piante  $\text{C}_4$ , usano la PEP carbossilasi per fissare  $\text{CO}_2$ , formando OAA. OAA è poi convertito in malato, che è conservato nei vacuoli.
- Durante il giorno, quando gli stomi sono chiusi,  $\text{CO}_2$  è rimossa dal malato ed entra nel ciclo di Calvin.

# Metabolismo CAM

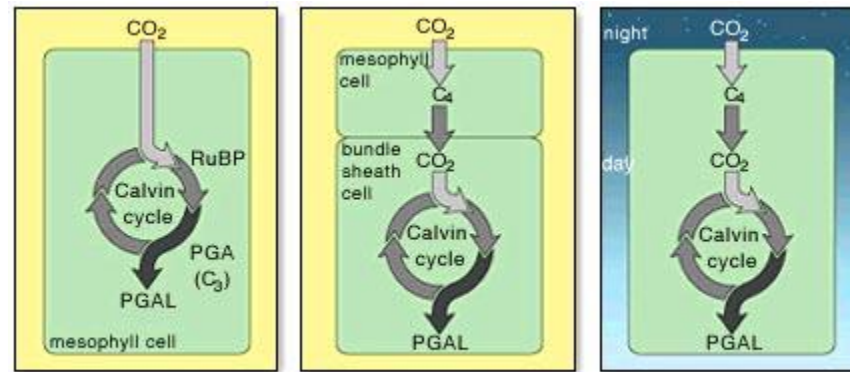
- **Le piante CAM conservano molto malato e per evitare alti potenziali osmotici, devono assorbire molta acqua.**
- **Sono meno resistenti al freddo delle piante C3.**
- **il metabolismo C4 e CAM si escludono a vicenda.**



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