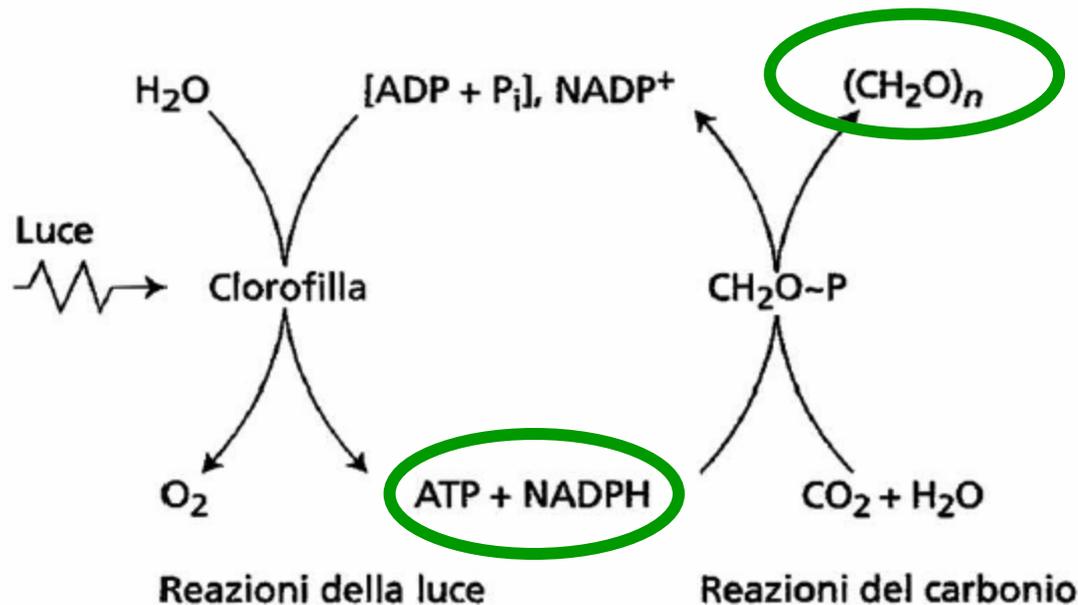


La fase “luminosa” della fotosintesi

- **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⁺**.
- **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 CO₂

L'energia assorbita e la capacità di riduzione sono utilizzate per la riduzione della CO₂ 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.**

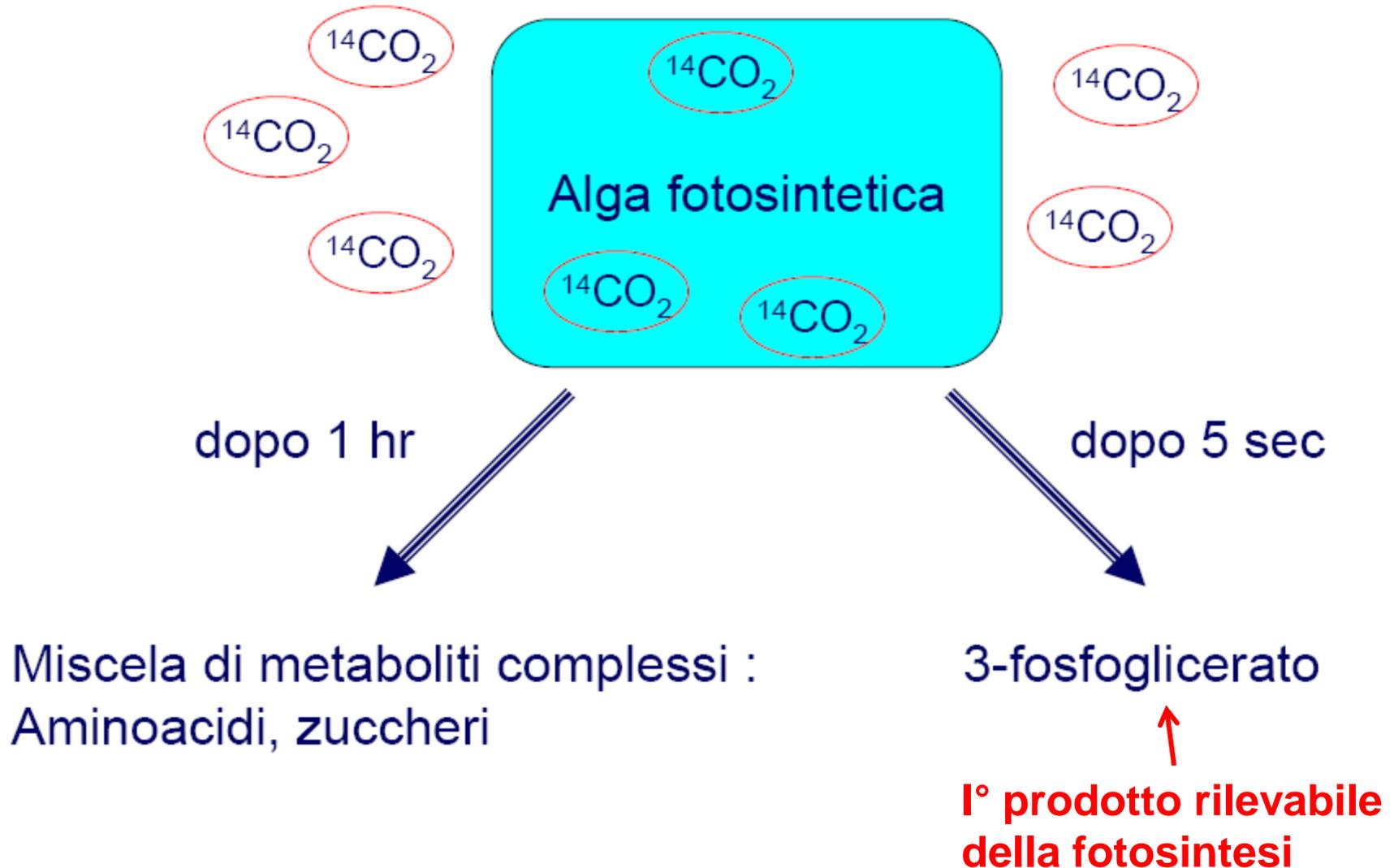
Il loro alto contenuto energetico le rende estremamente instabili, devono essere "spese" rapidamente, subito dopo essere state "guadagnate"

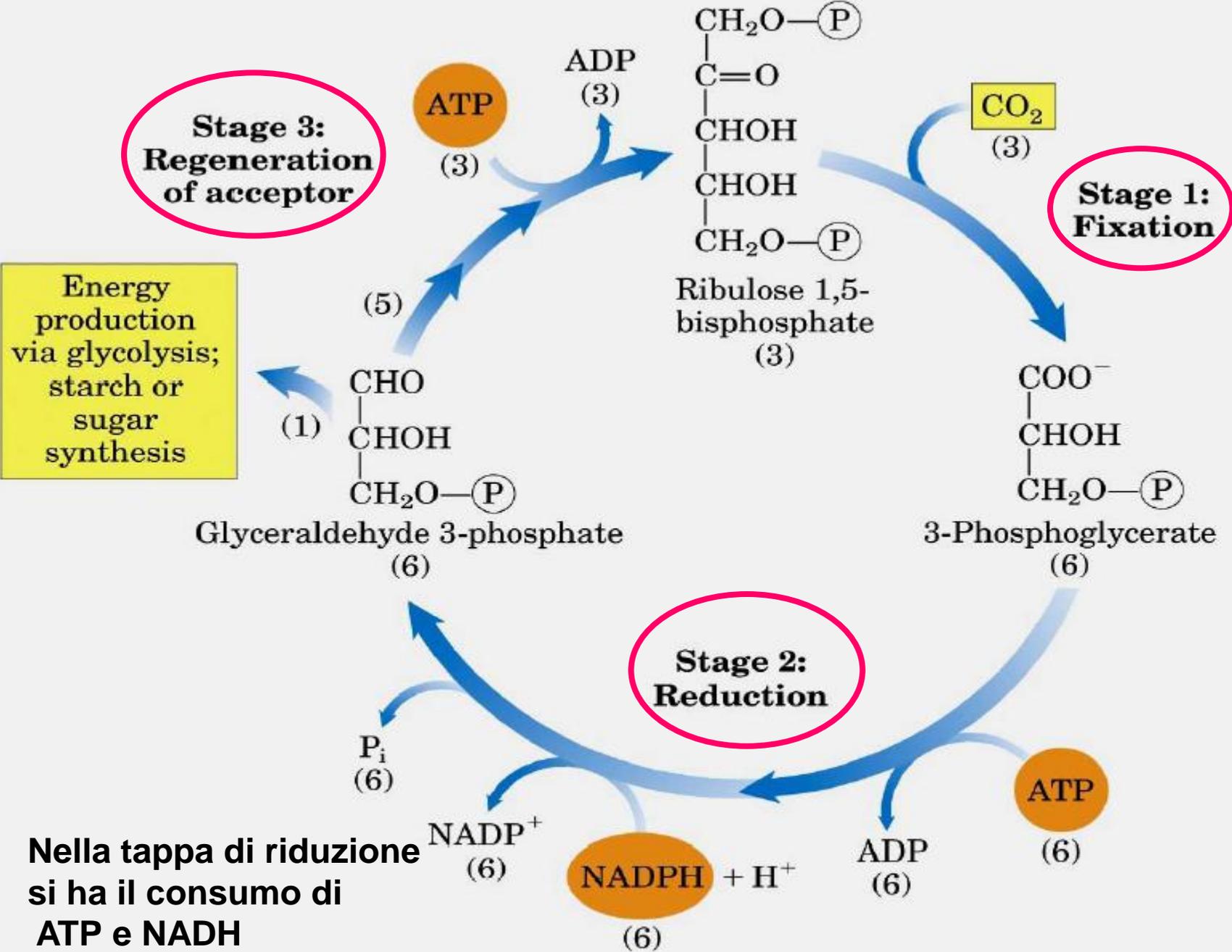
2. **I carboidrati accumulati** sono molecole stabili , possono durare nel tempo o essere rapidamente convertiti in energia

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

CICLO DI CALVIN

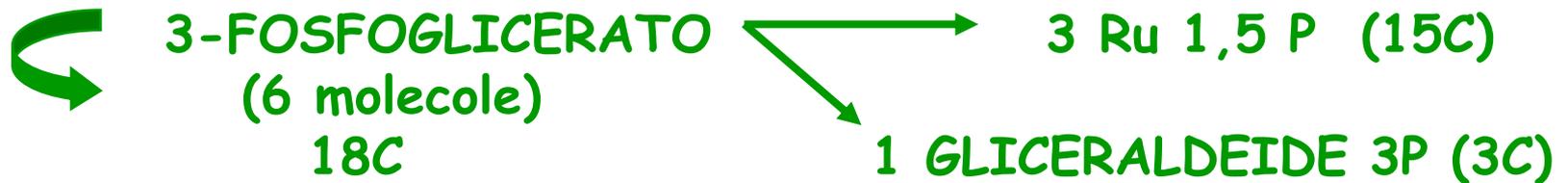
M. Calvin, J. Bassham, A. Besson 1953





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 CO_2 avviene dopo un periodo di induzione e la velocità fotosintetica aumenta:

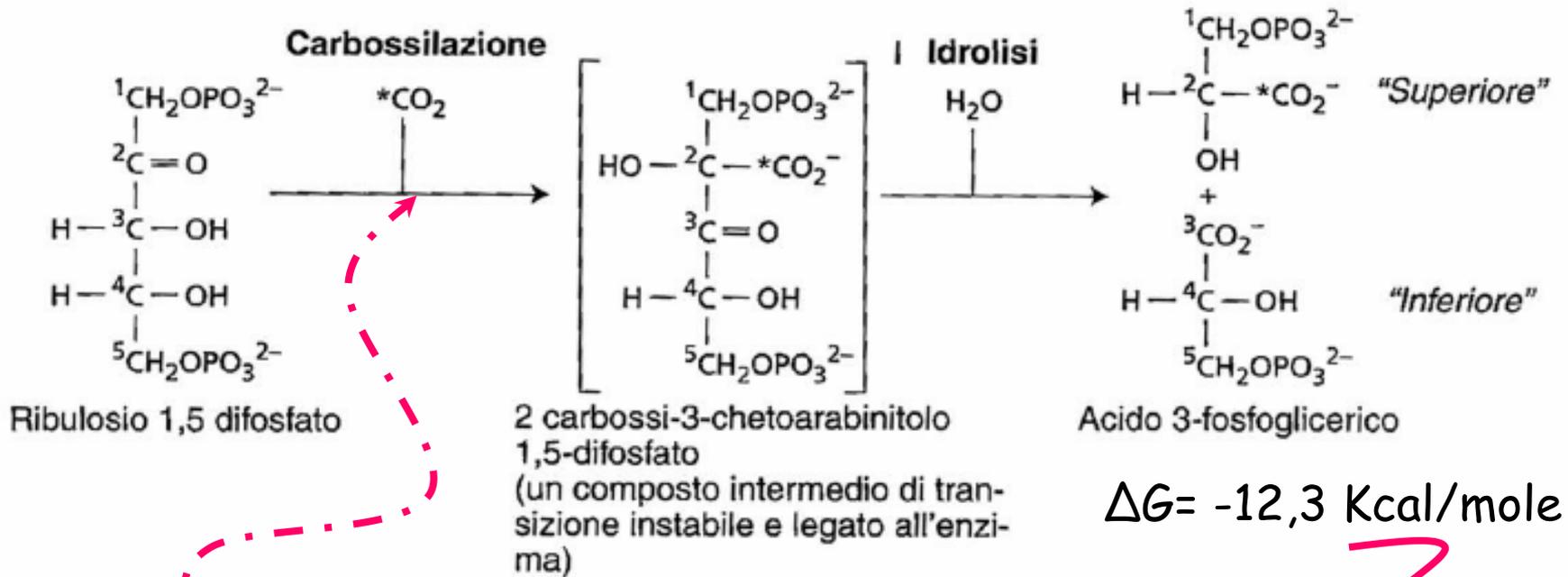
Aumento dei composti intermedi del Ciclo di Calvin

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 = Ribulosio-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:

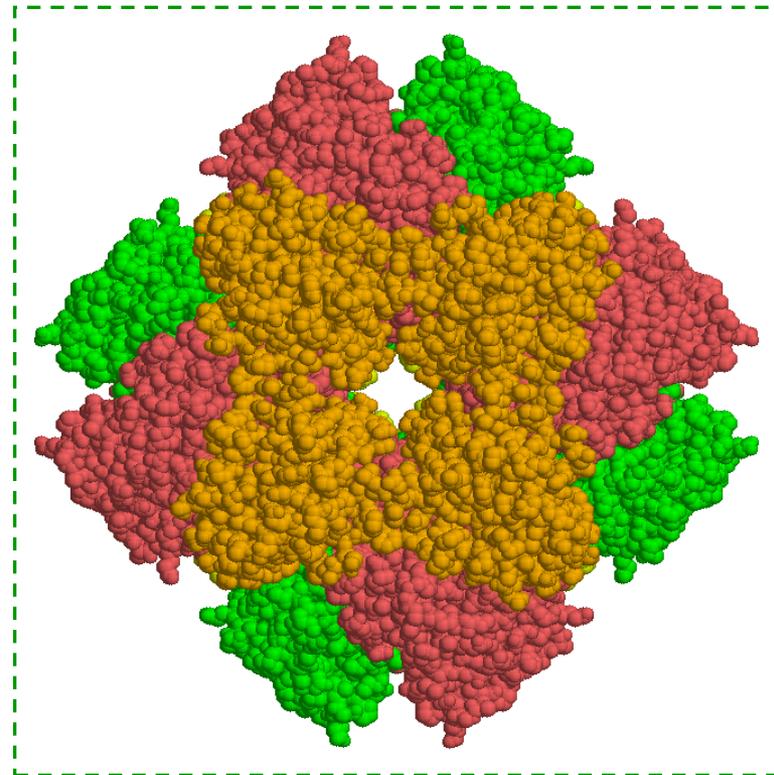
*circa il 25% di tutto il materiale proteico
presente nei cloroplasti
ed il 50% di quello dello stroma.*

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

M= 660000. Nello STROMA

8 subunità grandi (sito attivo) = 56000

8 subunità piccole (???) = 14000

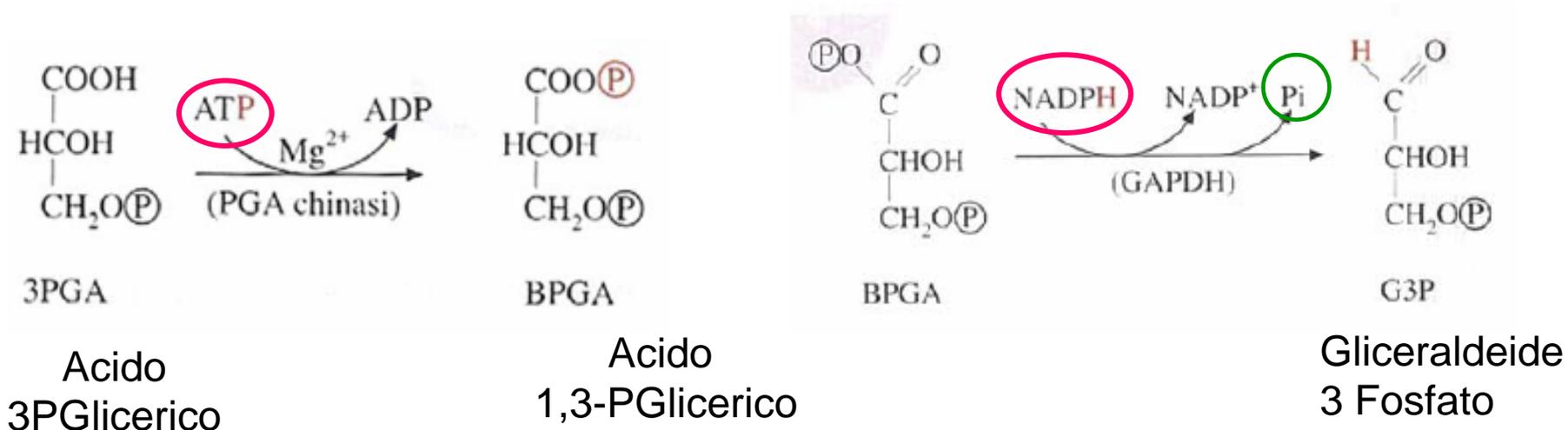


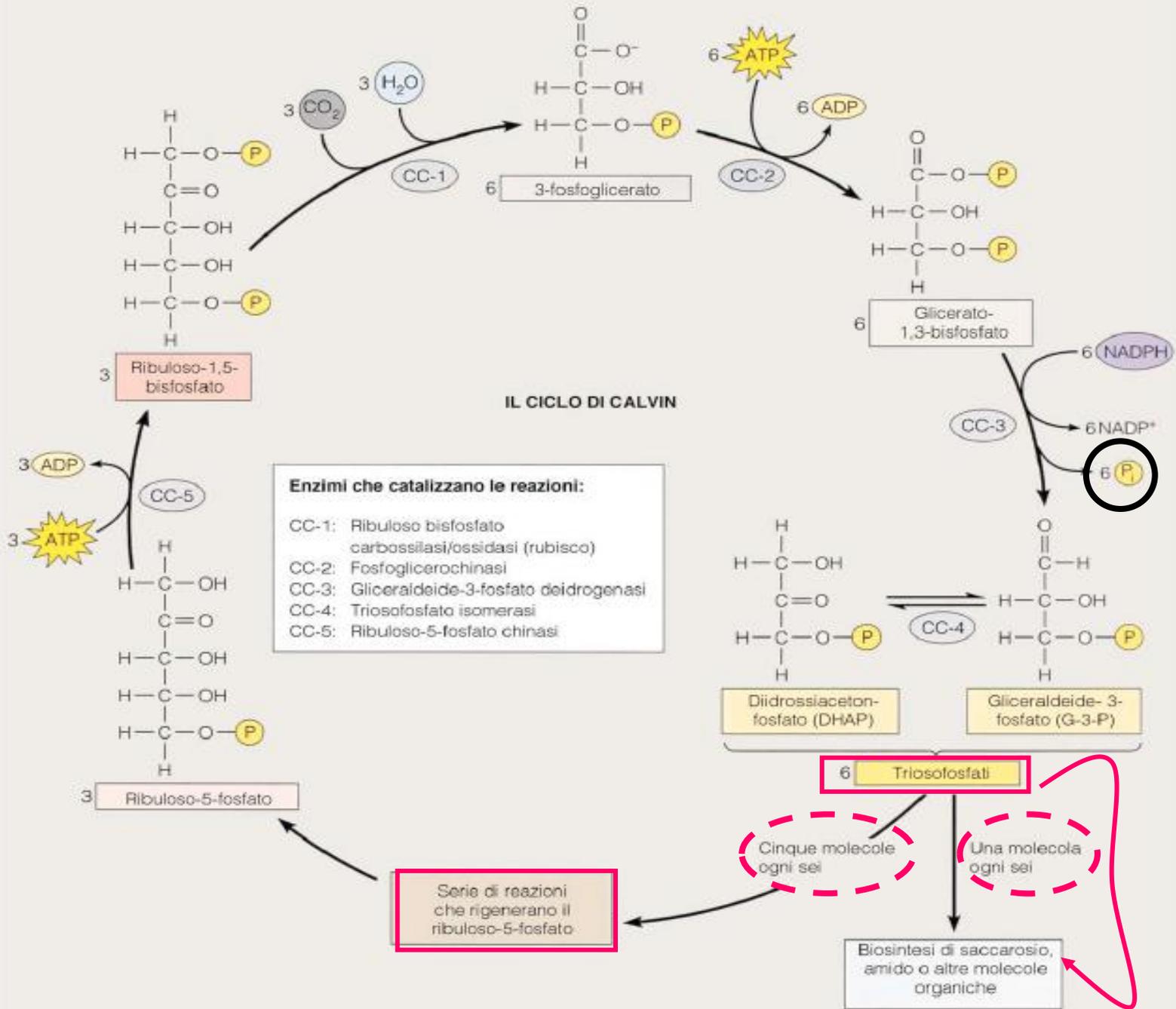
Riduzione

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

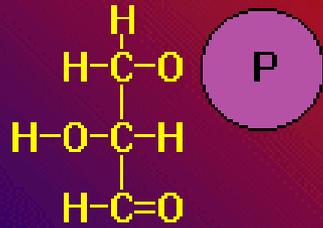
La riduzione non è diretta.

si libera Pi





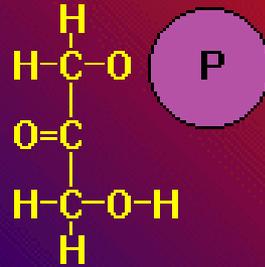
1



GP3

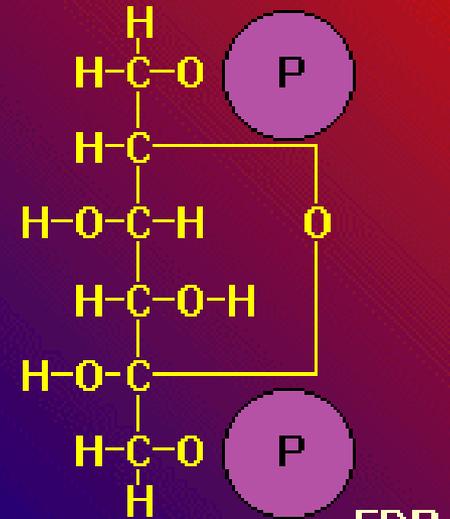
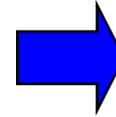
gliceraldeide 3-fosfato

2



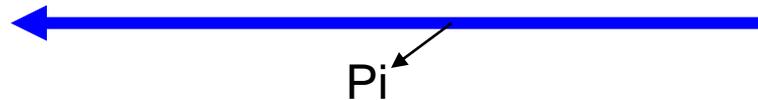
DHAP

diidrossiacetone fosfato



FDP

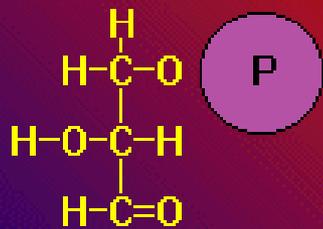
fruttosio 1,6-difosfato



Fru 6P

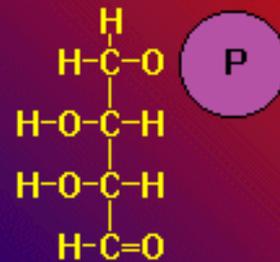
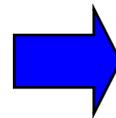
+

3



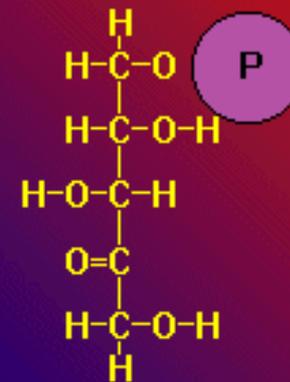
GP3

gliceraldeide 3-fosfato



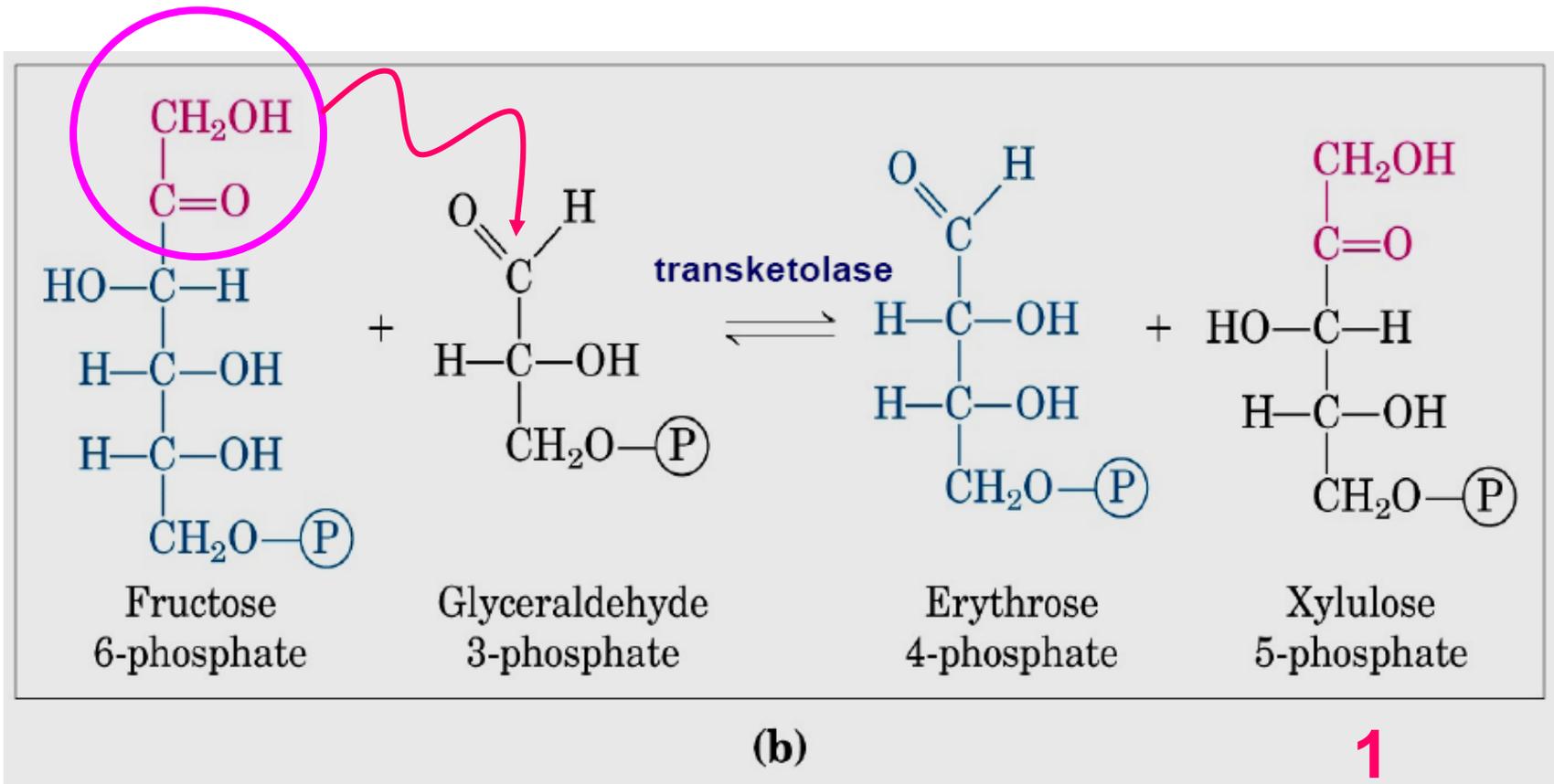
E4P

eritrosio 4-fosfato

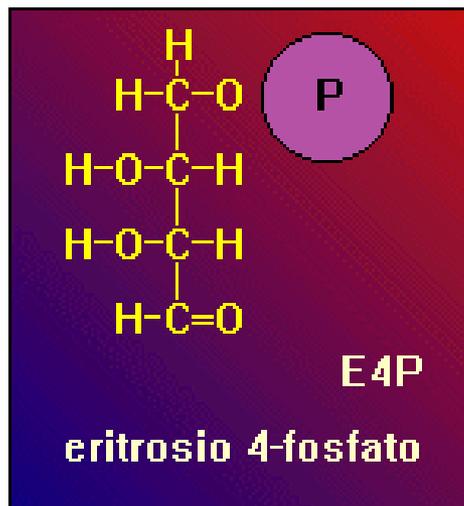


Xu5P

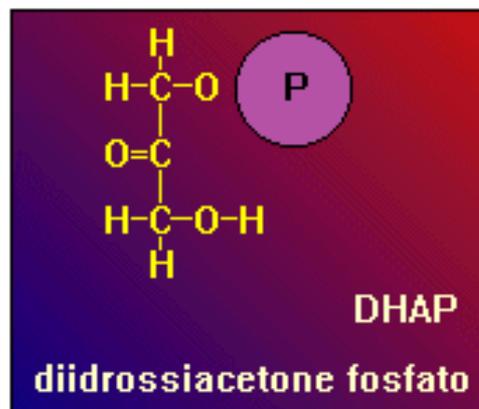
xilulosio 5-fosfato



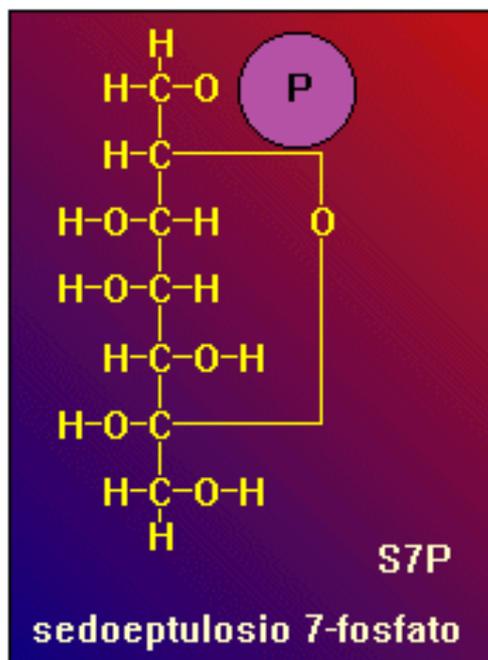
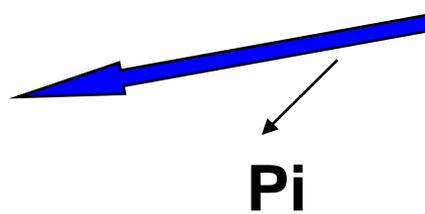
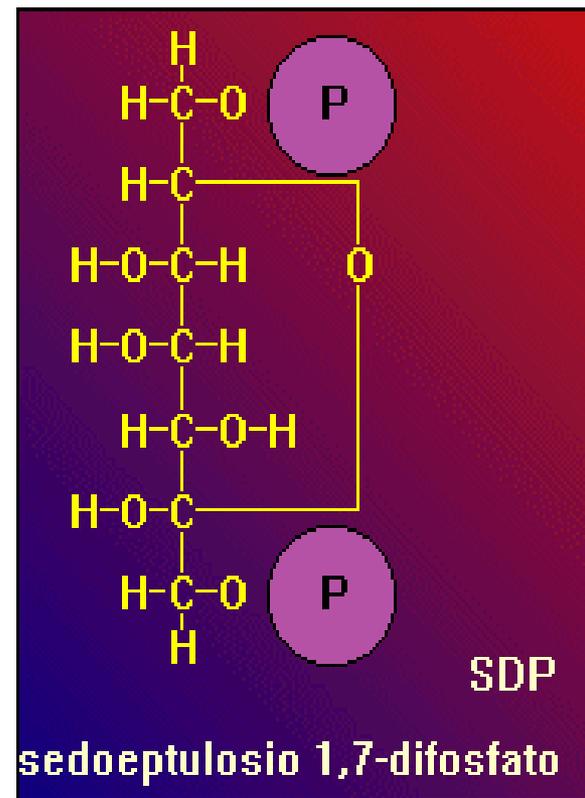
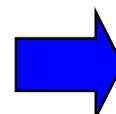
La **transchetolasi** trasferisce un gruppo a due atomi di C di un chetoso donatore al gruppo prostetico dell'enzima e poi ad un aldoso accettore.

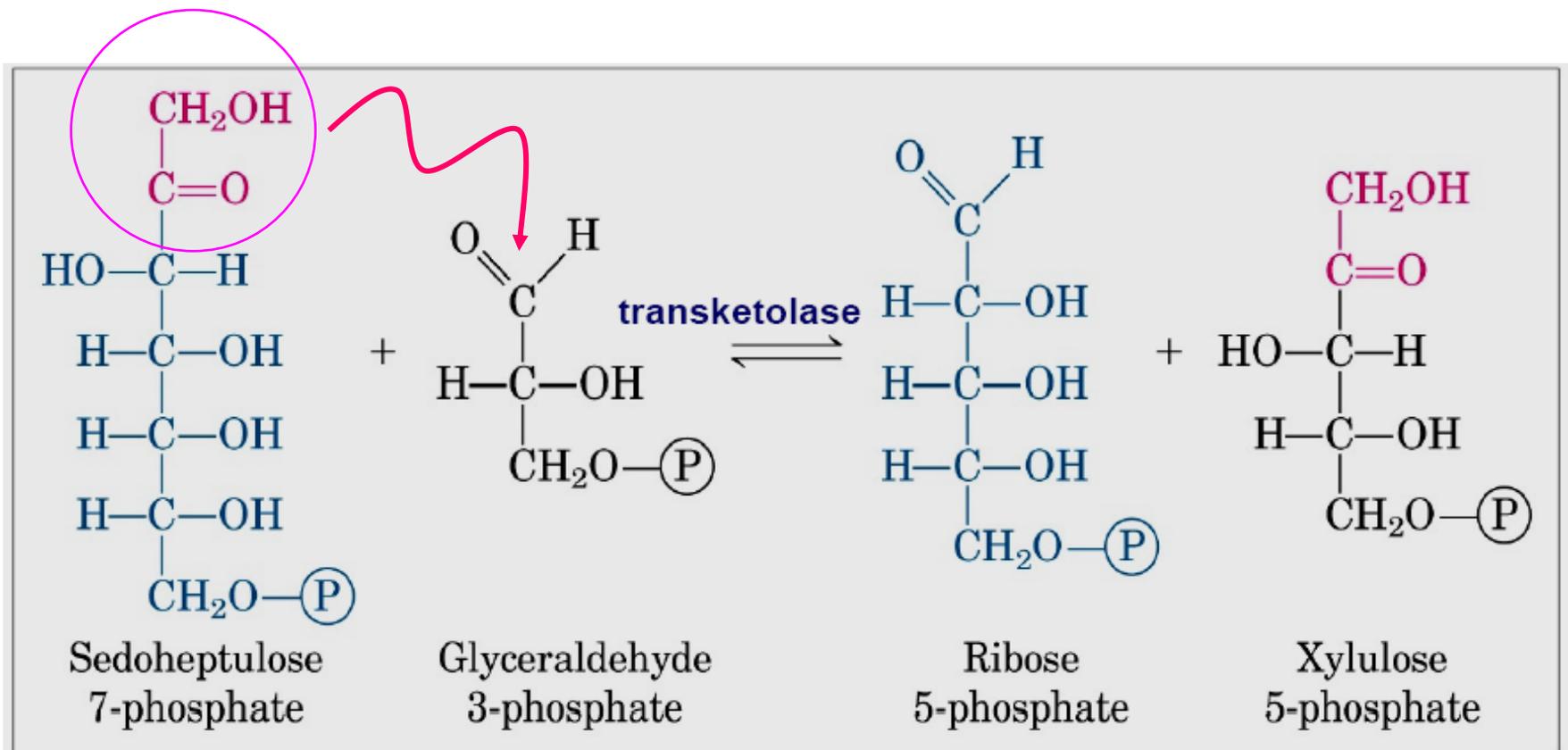


+



4

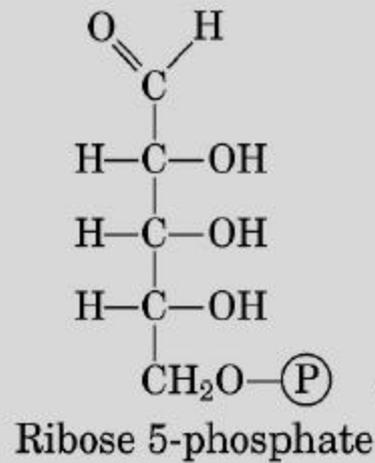




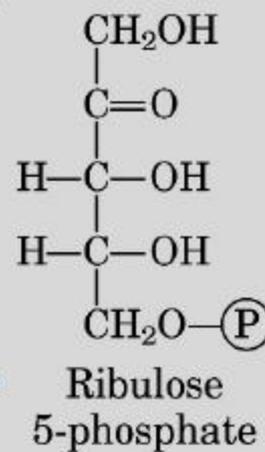
5

2

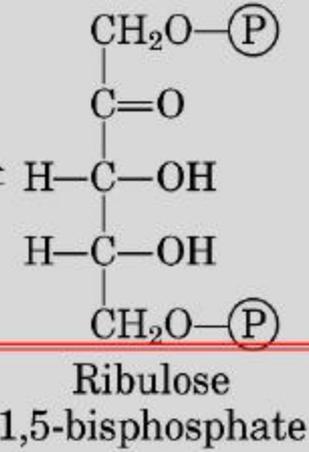
3



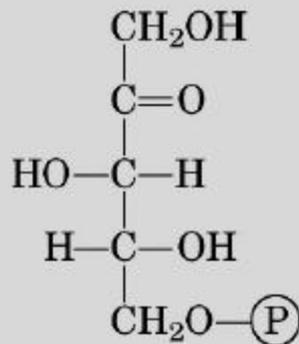
ribose
5-phosphate
isomerase



ribulose
5-phosphate
kinase

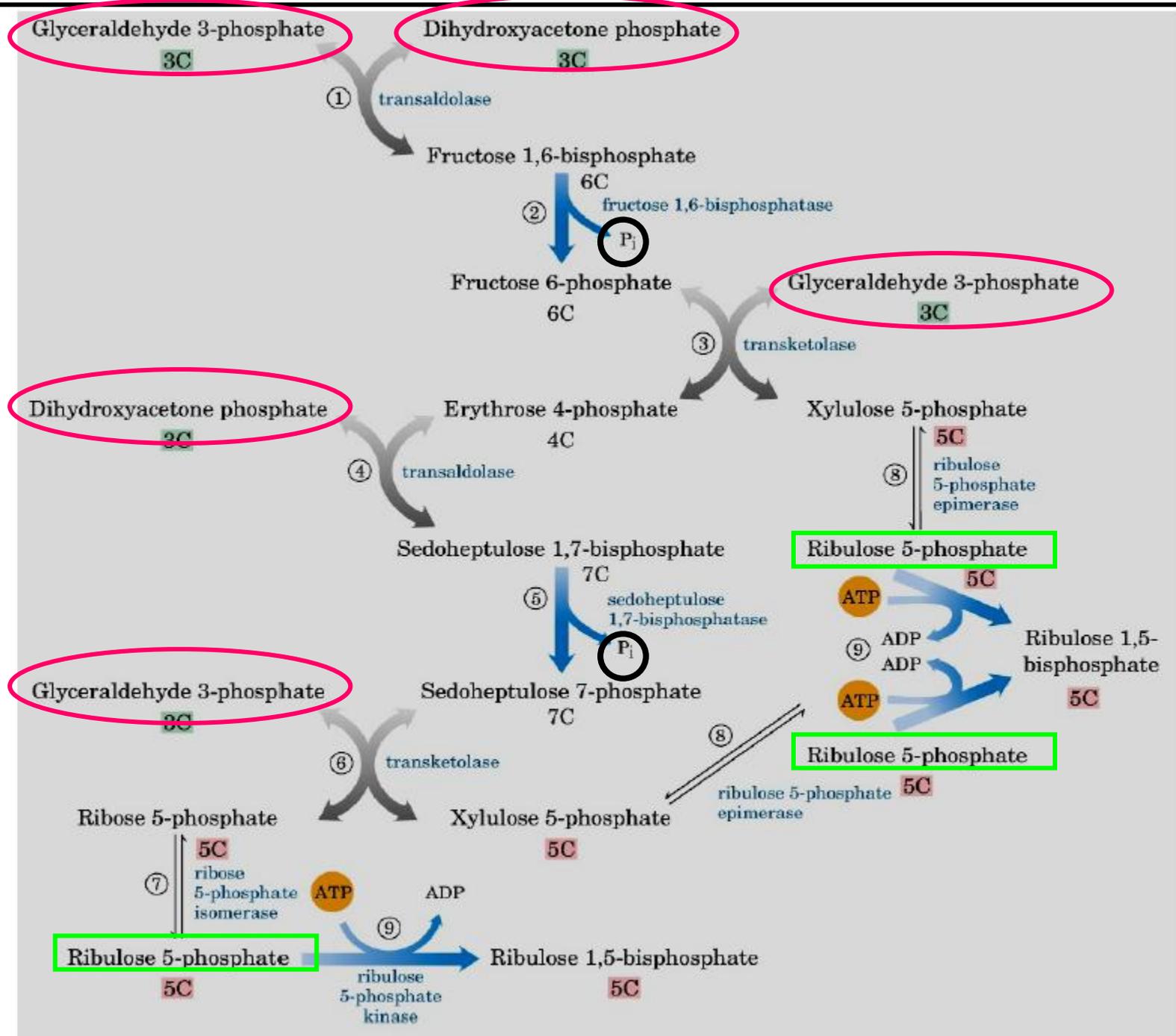


ribose
5-phosphate
epimerase

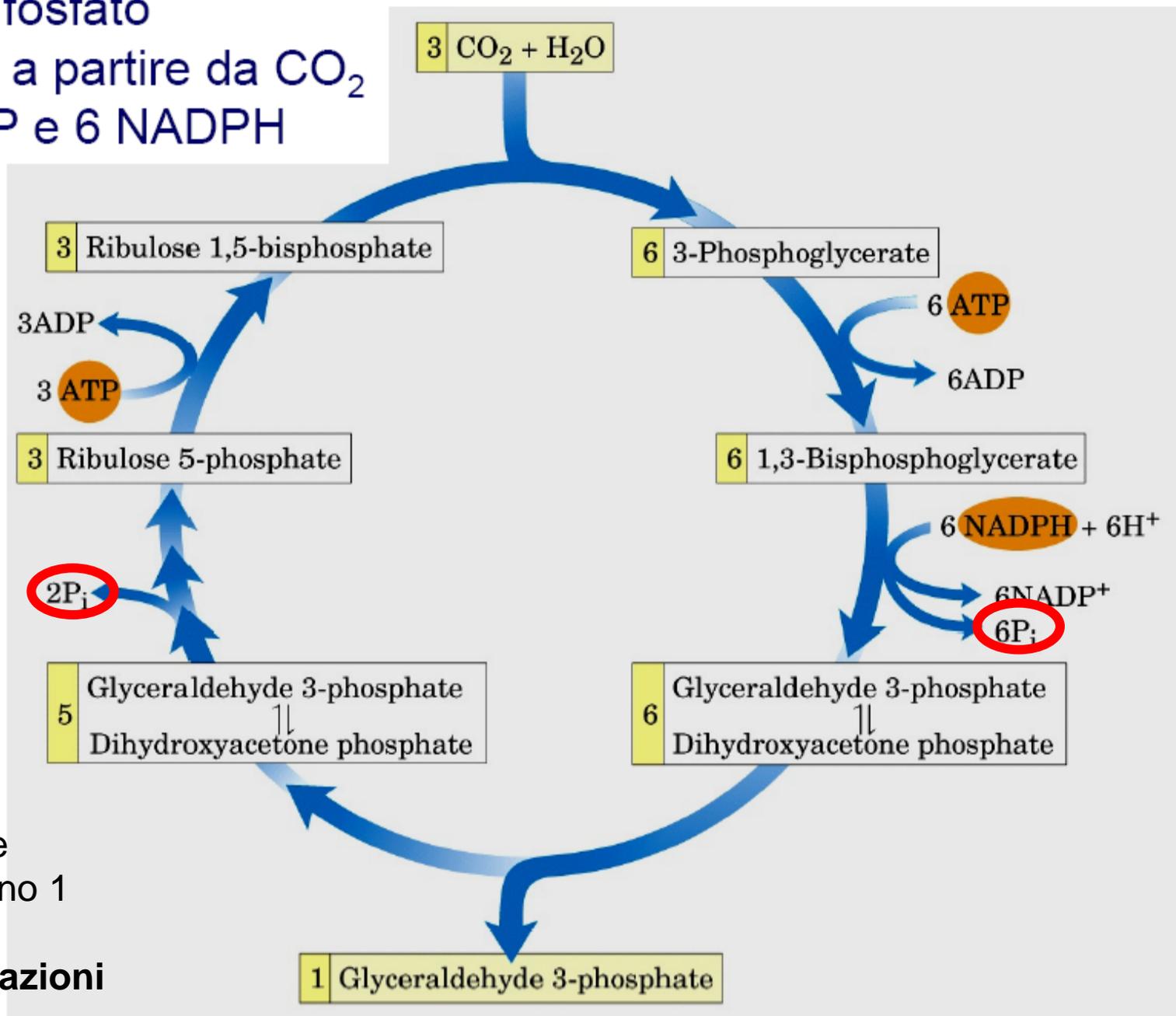


Xylulose 5-phosphate



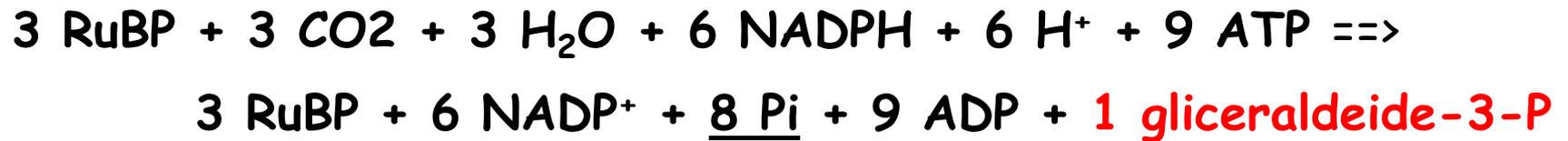


Ogni trioso fosfato
sintetizzato a partire da CO_2
costa 9 ATP e 6 NADPH



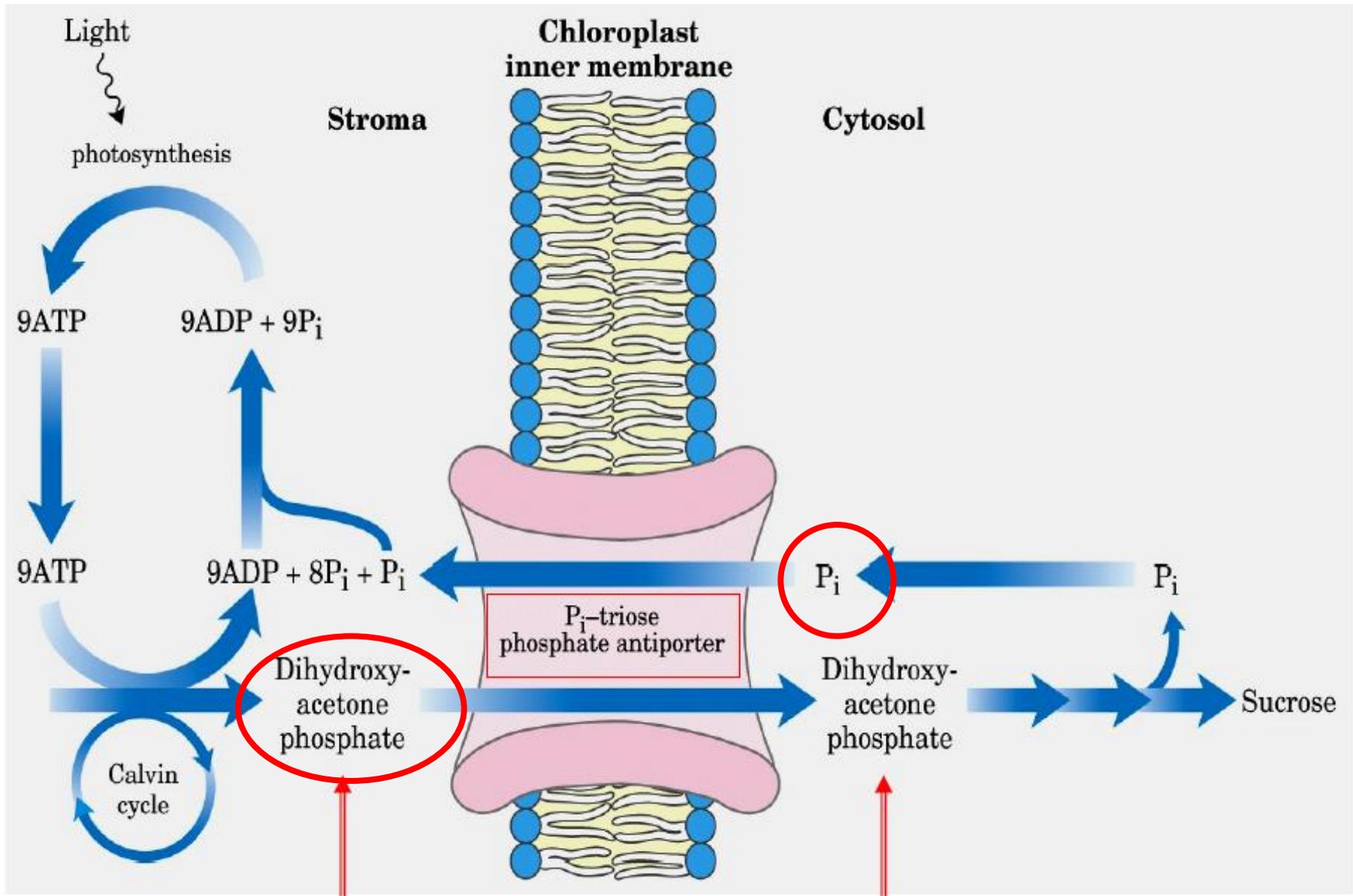
Affinchè tutte le
tappe avvengano 1
volta:

3 carbossilazioni



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

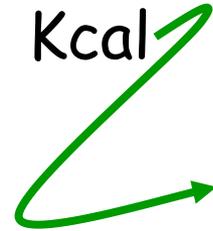
L'ADP, il P_i e il NADP^+ ottenuti dal ciclo C3 sono di nuovo disponibili per le reazioni della fase luminosa e vengono quindi riciclati per formare nuovi ATP e NADPH.



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 CO₂

Consumo: **18 ATP**

12 NADPH

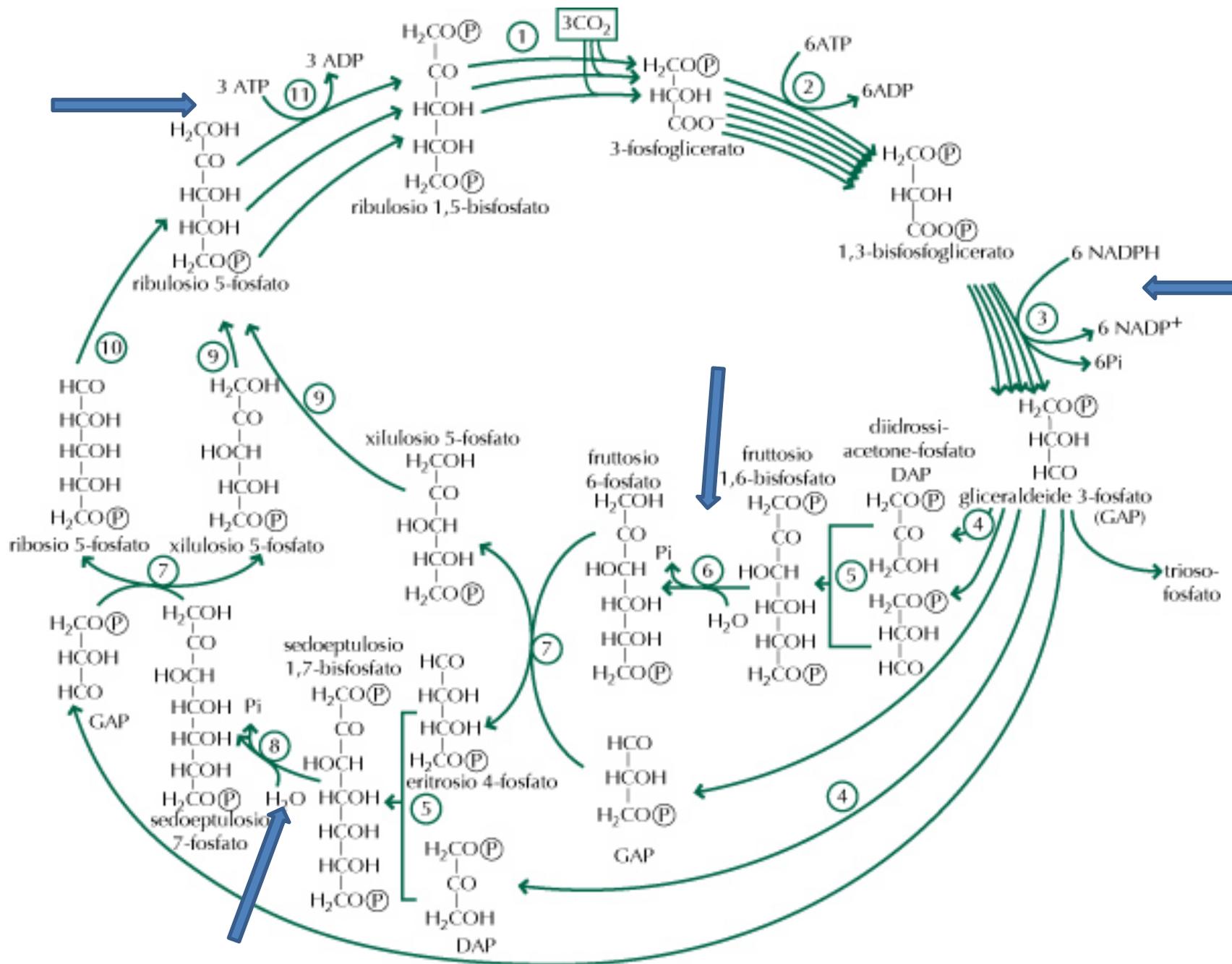
750 kcal Totali

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)



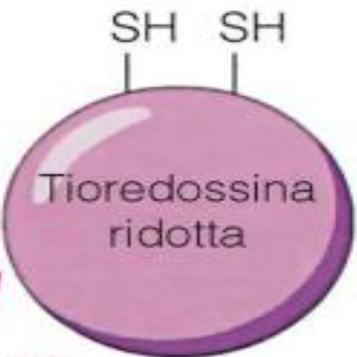
Fotone



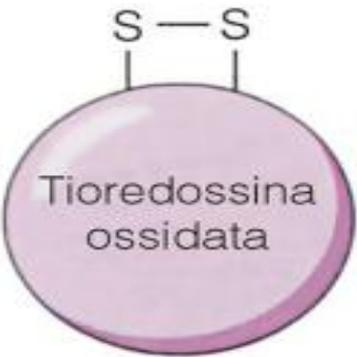
$2 e^-$



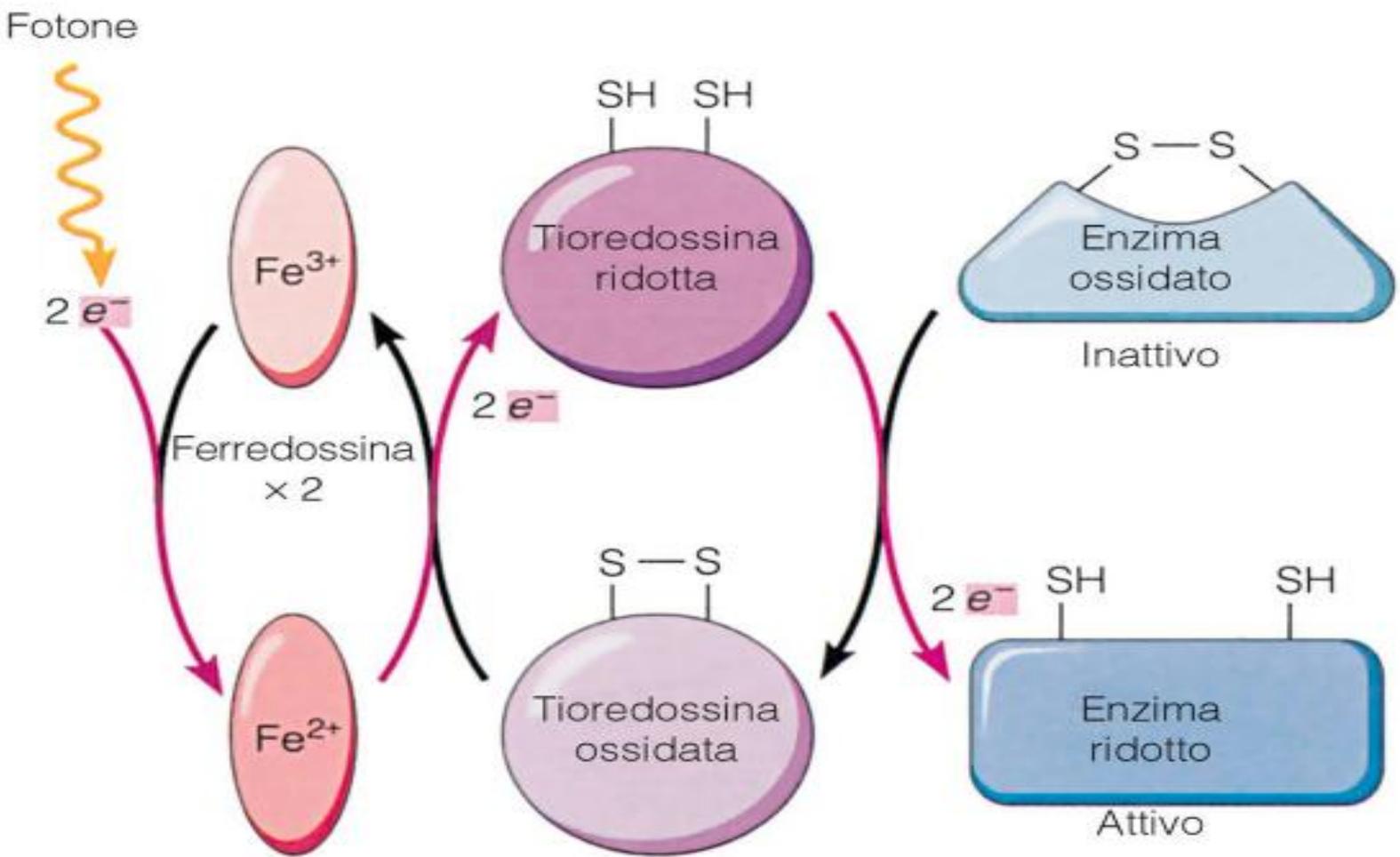
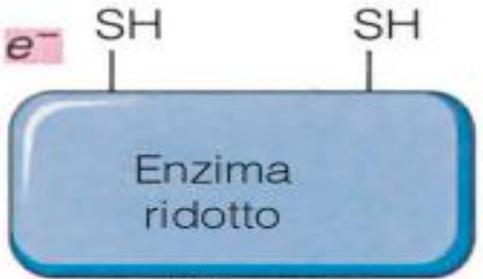
Ferredossina
 $\times 2$



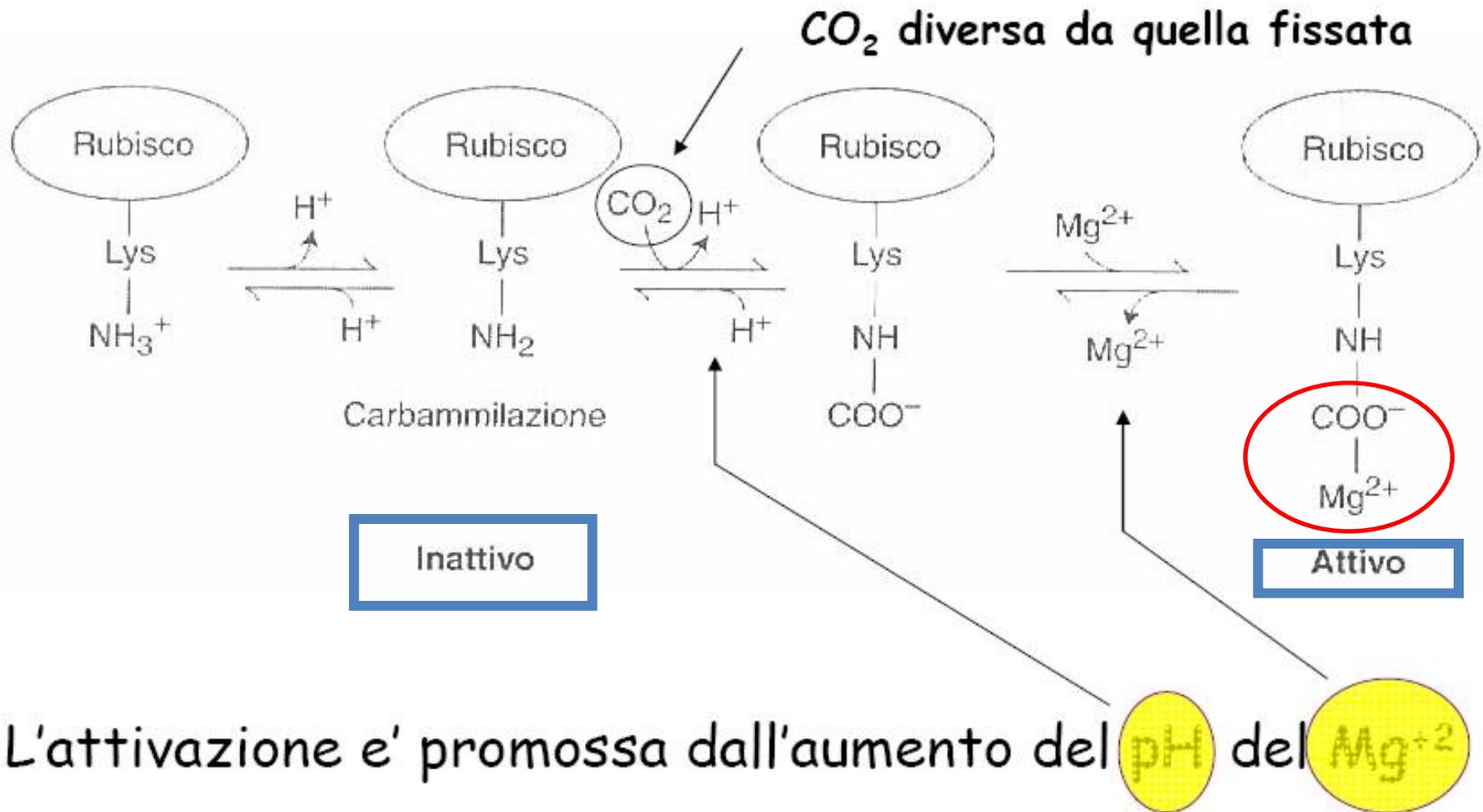
$2 e^-$



$2 e^-$

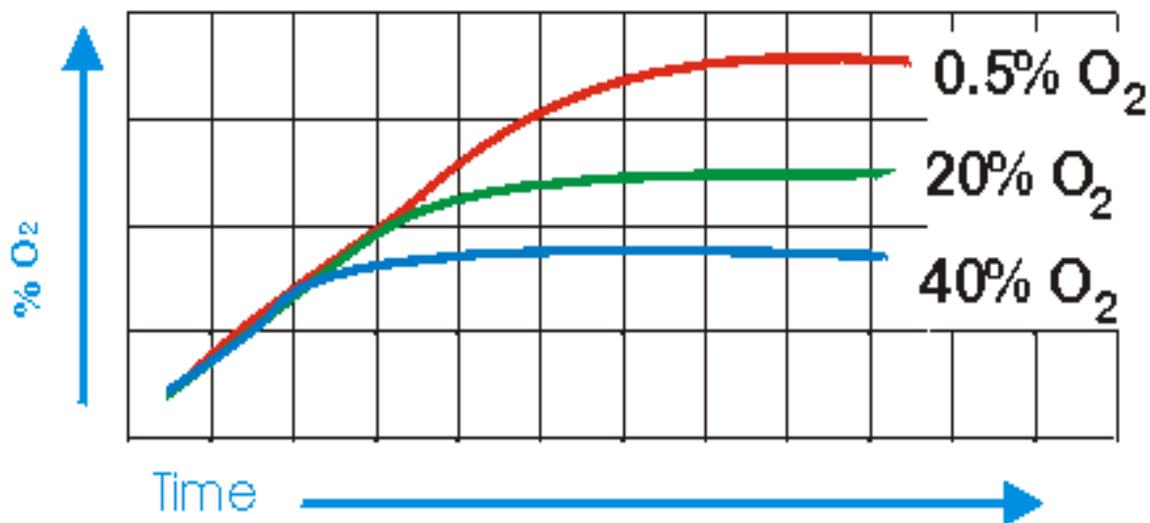


ATTIVAZIONE DELLA RUBISCO



LA RUBISCO funziona anche da **OSSIGENASI** nella

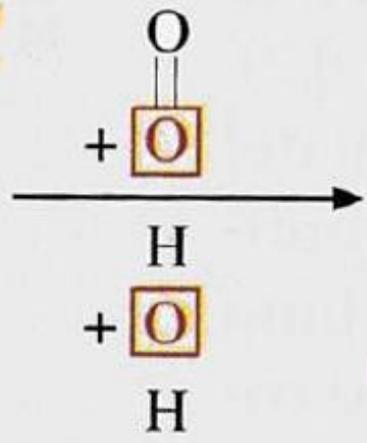
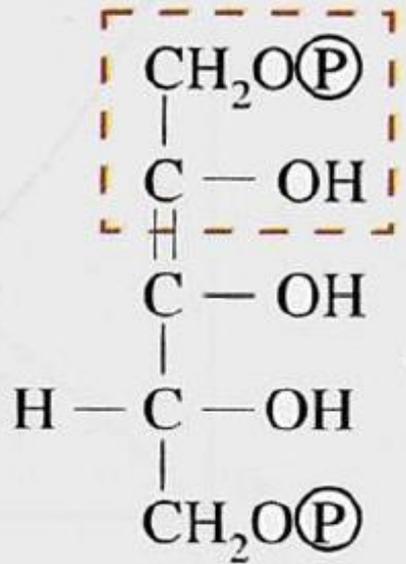
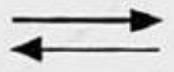
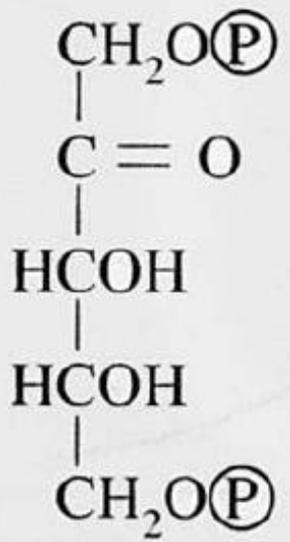
FOTORESPIRAZIONE



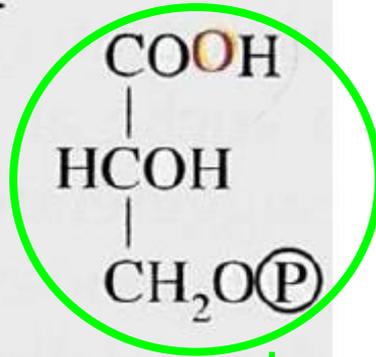
In presenza di maggiori [O₂] il tasso fotosintetico diminuisce

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% !



+

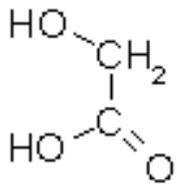


PEROSSI
SOMI

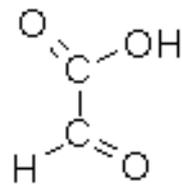
CICLO
DI
CALVIN

Ru 1,5 BP

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



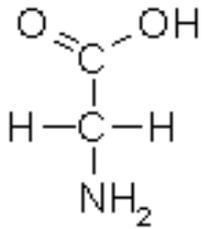
Glicolato



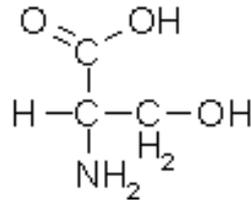
Gliossilato

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

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

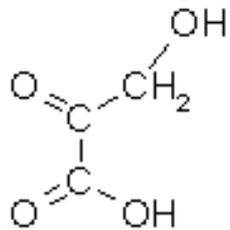


2 Glicina

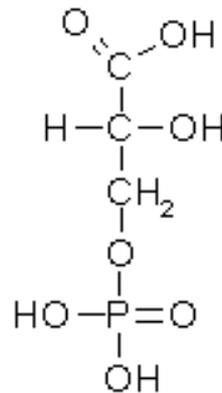


Serina

Il gliossilato è transamminato a **Glicina** 2 mol. **Glicina** nei **mitocondri** condensano e si forma **serina + CO₂**



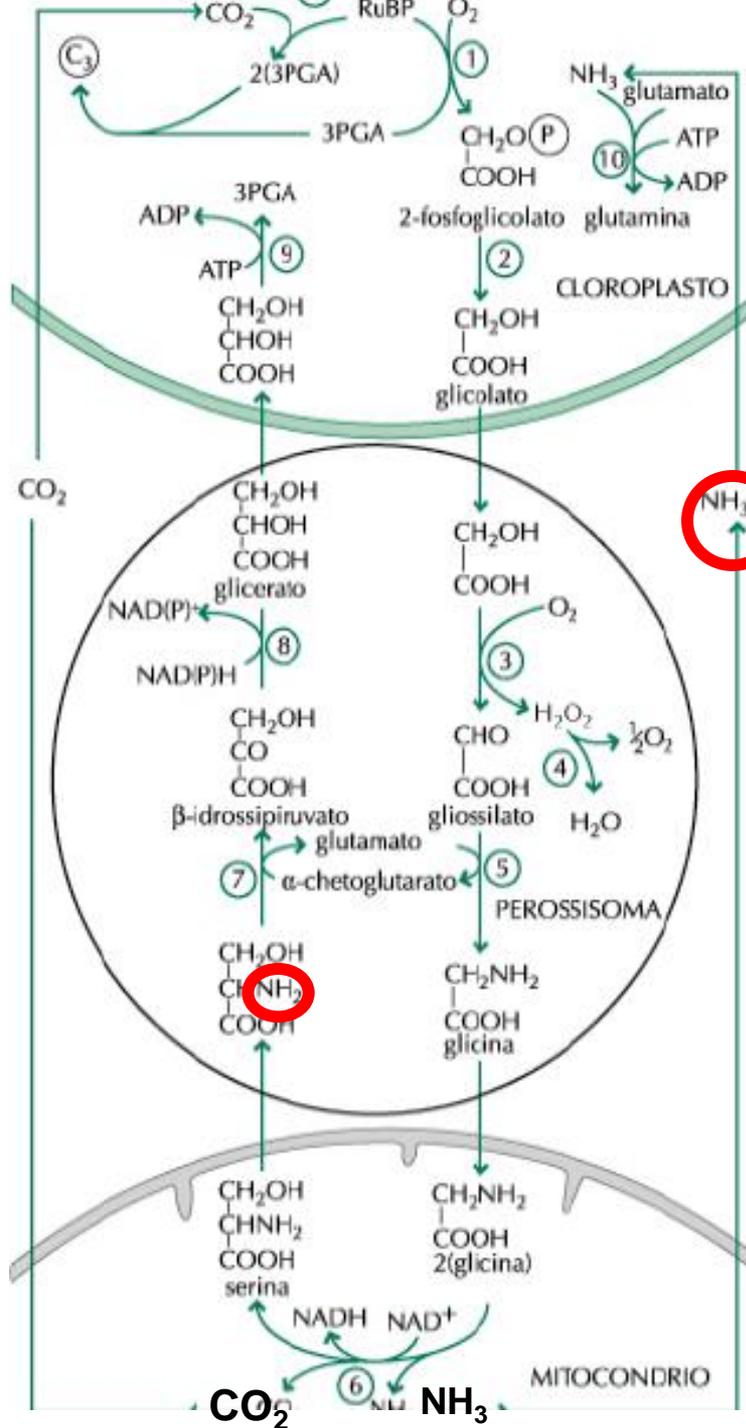
Idrossipiruvato



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.



NH₃ rilasciata è usata con α-chetoglutarato per riformare glutammato (Glu). consumando 1 ATP e 1 NADPH per mole di NH₃ fissata.

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

La serina rientra nel perossisoma

CO₂ e NH₃

vengono recuperate e riorganicate

CO₂ NH₃

- 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 CO_2 entra nel Ciclo di Calvin (C3)
- ❖ L'Ac 3PGlic entra nel Ciclo C3
- ❖ L' NH_3 dalla deaminazione della serina a idrossipiruvato viene utilizzata per formare il glutammato dall' α -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 CO_2 che contemporaneamente viene fissata nel ciclo di Calvin

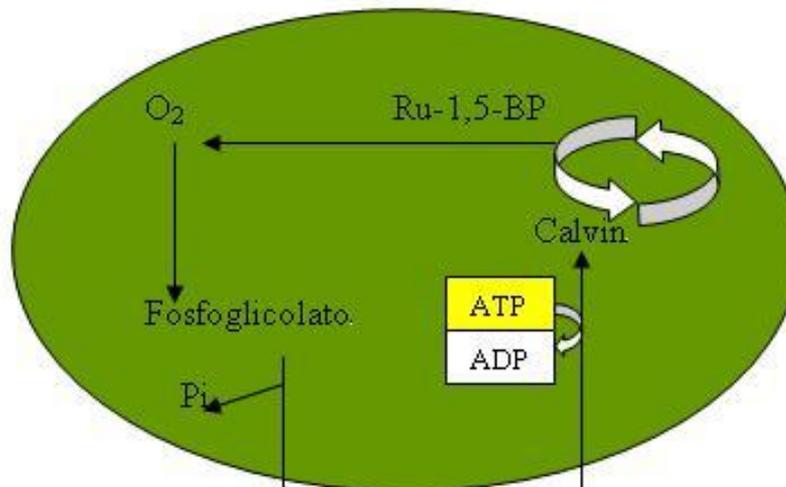
La fotorrespirazione **non provoca la fissazione di CO_2** e quindi non sembra portare vantaggi alla cellula, anche perché il recupero degli atomi di C dal fosfoglicolato richiede energia

Circa ***1/3 di RuBP è utilizzato senza fissare CO_2 .***

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

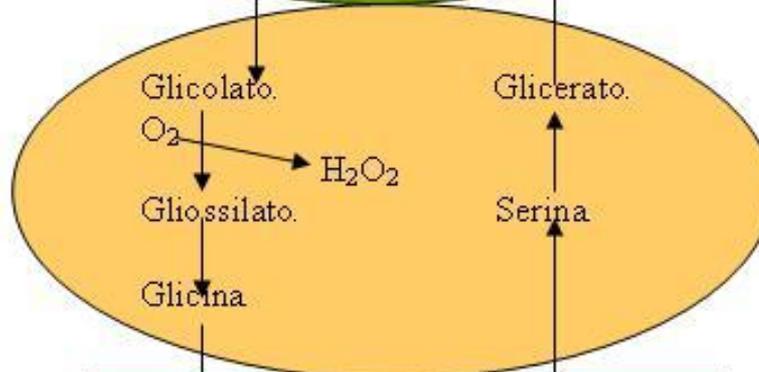
Al contrario, il ciclo **è molto più costoso energeticamente** rispetto alla fissazione del carbonio

CLOROPLASTO



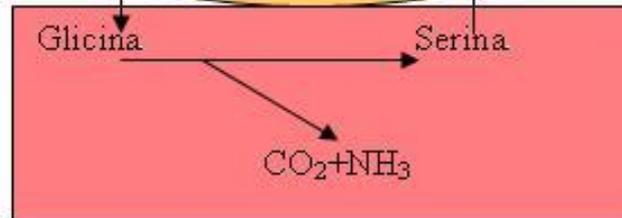
Nel **CICLO DI CALVIN** :
ATP (3) e NADPH (2)
per 1 CO_2

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 C₃ 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 CO_2 e O_2
3. Temperatura

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

La fissazione di CO_2 3 volte > produzione di CO_2

Ciclo C3

>

Ciclo C2

Fissazione netta di CO_2

Liberazione di O_2

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

PUNTO DI COMPENSAZIONE per la CO₂ indica

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

è la concentrazione di CO₂ alla quale la quantità di CO₂ fissata con il Ciclo di Calvin (C3) = CO₂ 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 CO₂

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



Senescenza della foglia

Fotossidazione

degli zuccheri di riserva

per il mantenimento del ciclo C2

(attività ossigenasica della Rubisco)

Temperatura (°C)	$\alpha(\text{CO}_2)$	$[\text{CO}_2]$ (μM in soluzione)	$\alpha(\text{O}_2)$	$[\text{O}_2]$ (μM 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 CO_2 (chiusura di stomi, stress idrico)

l'energia luminosa non viene utilizzata per fissare CO_2



Riduzione dell' O_2 e della *produzione di specie radicaliche dell'O* e *fotodistruzione dei pigmenti*

La fotorespirazione consumando O_2



dissipazione innocua dell'energia luminosa

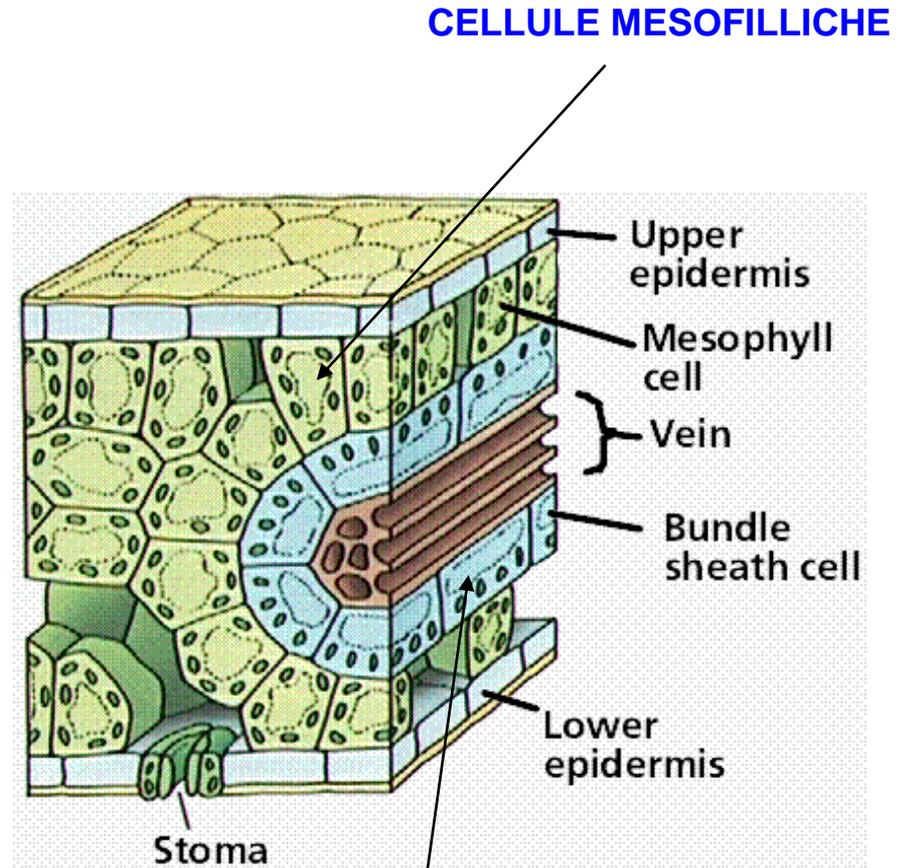
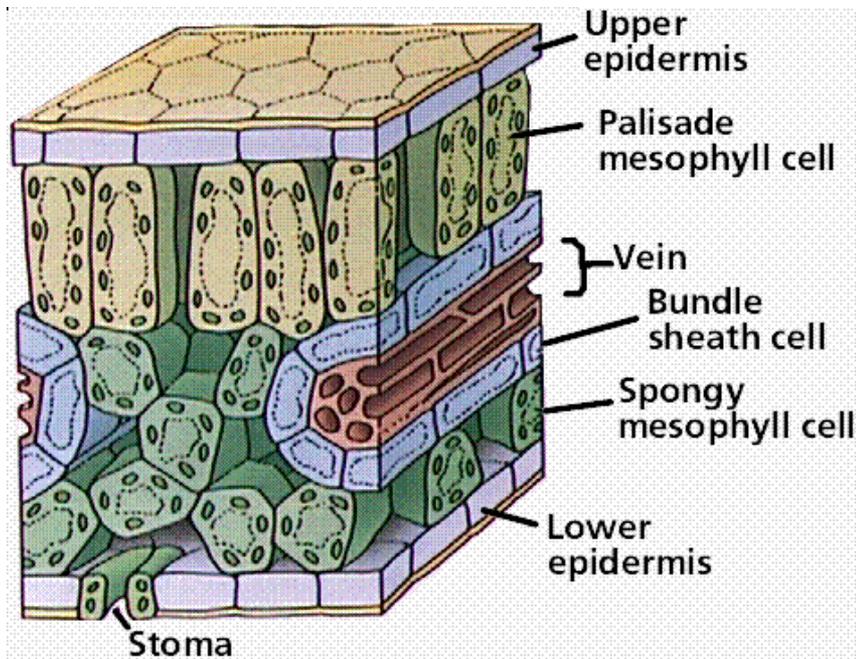
*Alcune piante hanno ridotto la fotorespirazione,
mediante meccanismi di concentrazione della CO₂*

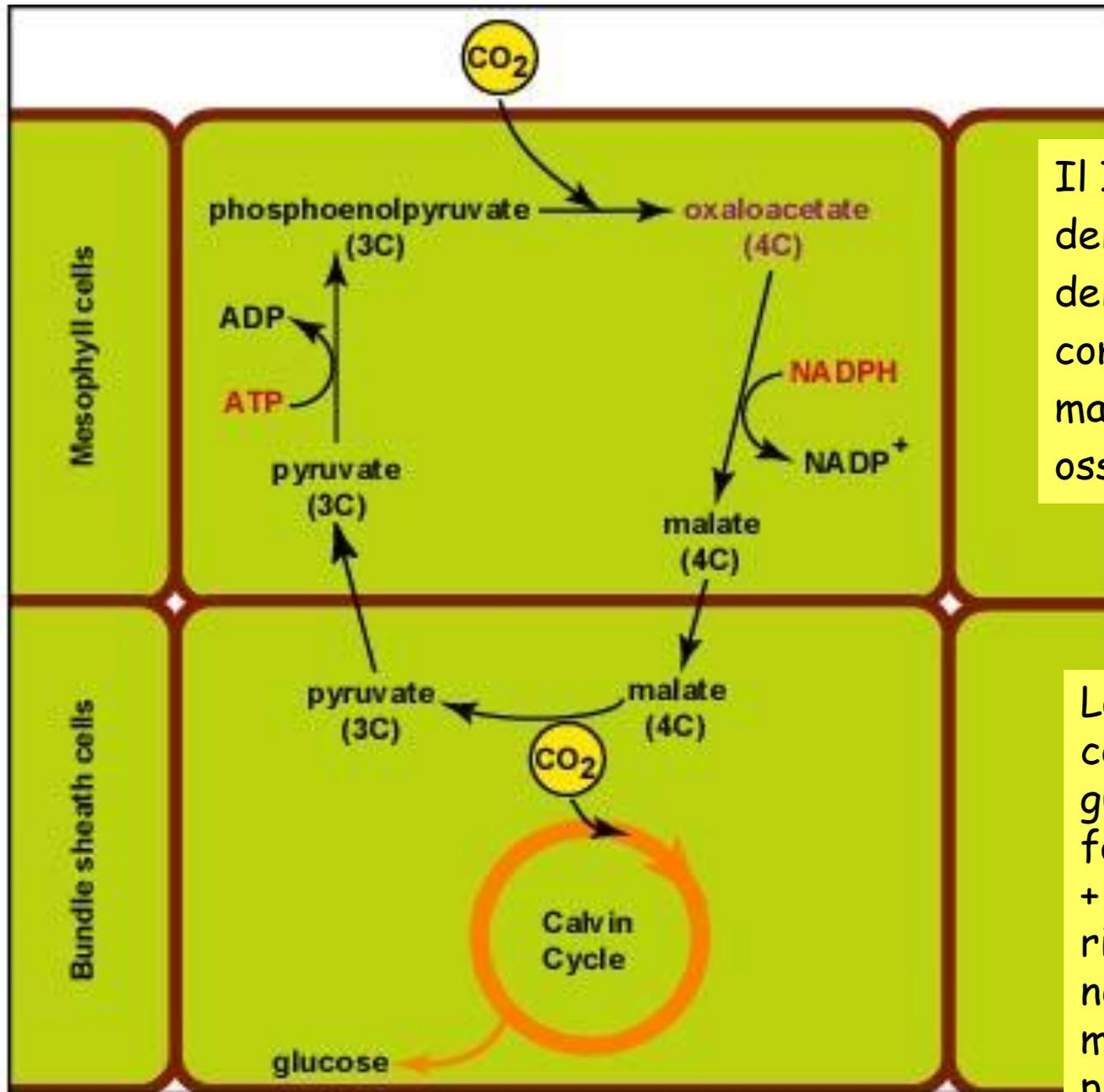
Piante C4

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



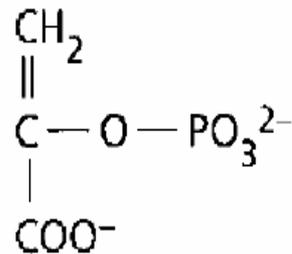
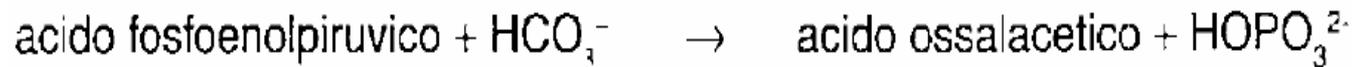


Il I° prodotto della fissazione della CO_2 non è un composto a 3 C, ma l'acido ossalacetico, a 4 C

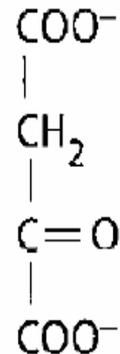
La $[\text{CO}_2]$ nelle cellule della guaina del fascio è 10 volte + elevata rispetto a quella nelle cellule del mesofilo delle piante C3

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' HCO_3^- e' molto bassa.

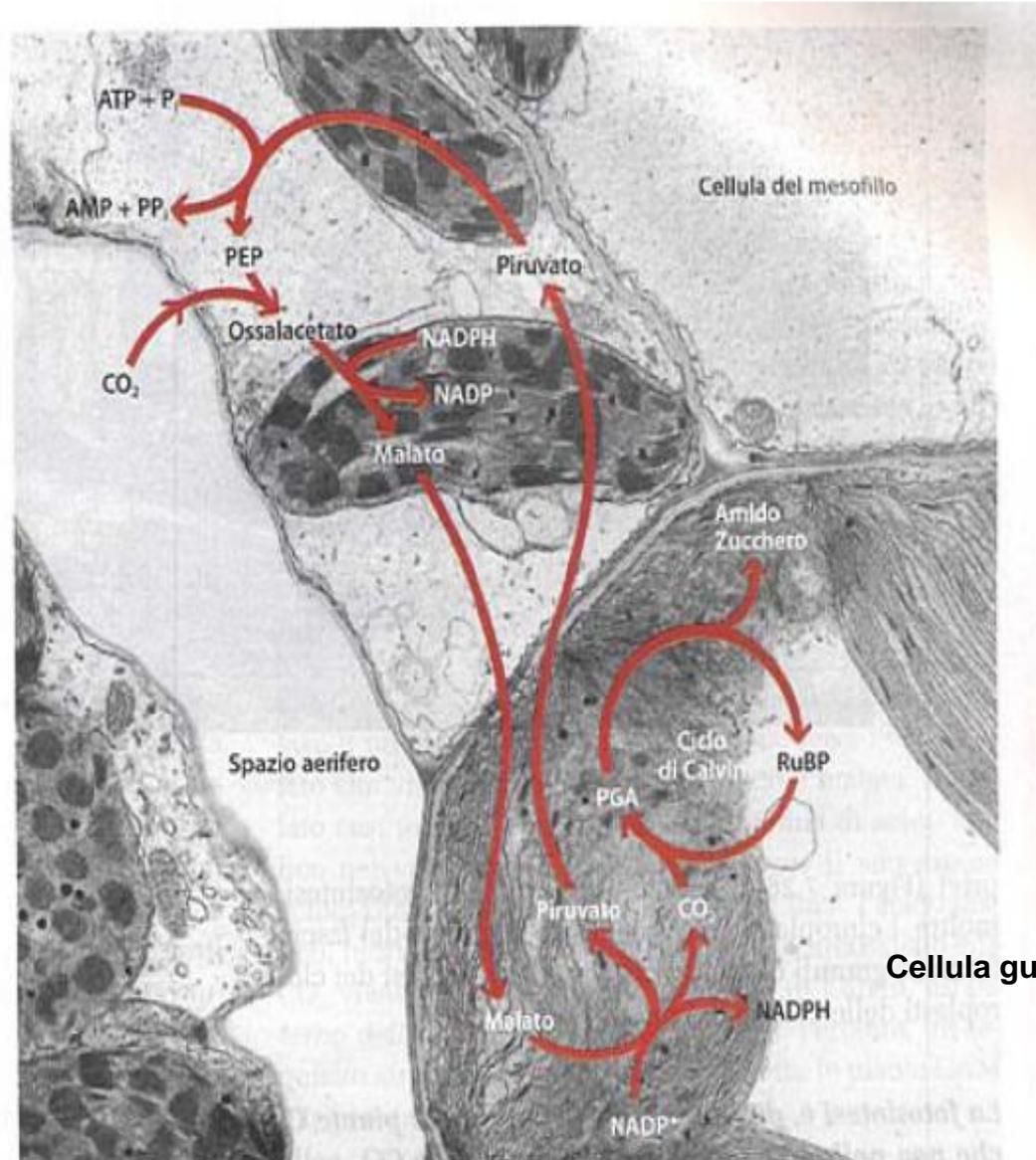
L' O_2 non e' un competitore della reazione.

Vantaggi

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

Fotorespirazione soppressa dall'accumulo di 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.

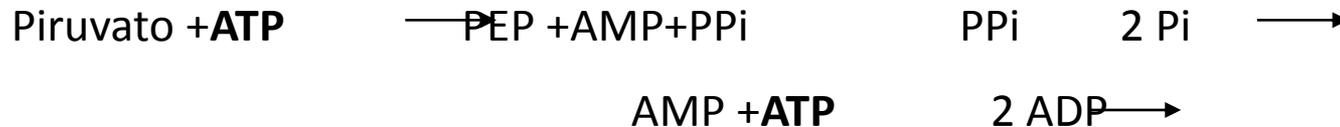


Cellula guaina del Fascio

Svantaggi delle piante C4

- Il processo ha un **costo energetico superiore**:

per ogni molecola di CO₂ fissata bisogna rigenerare una molecola di PEP a spese di **due legami** ad alta energia dell'ATP



Per ogni molecola di CO₂ 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 CO₂ 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.

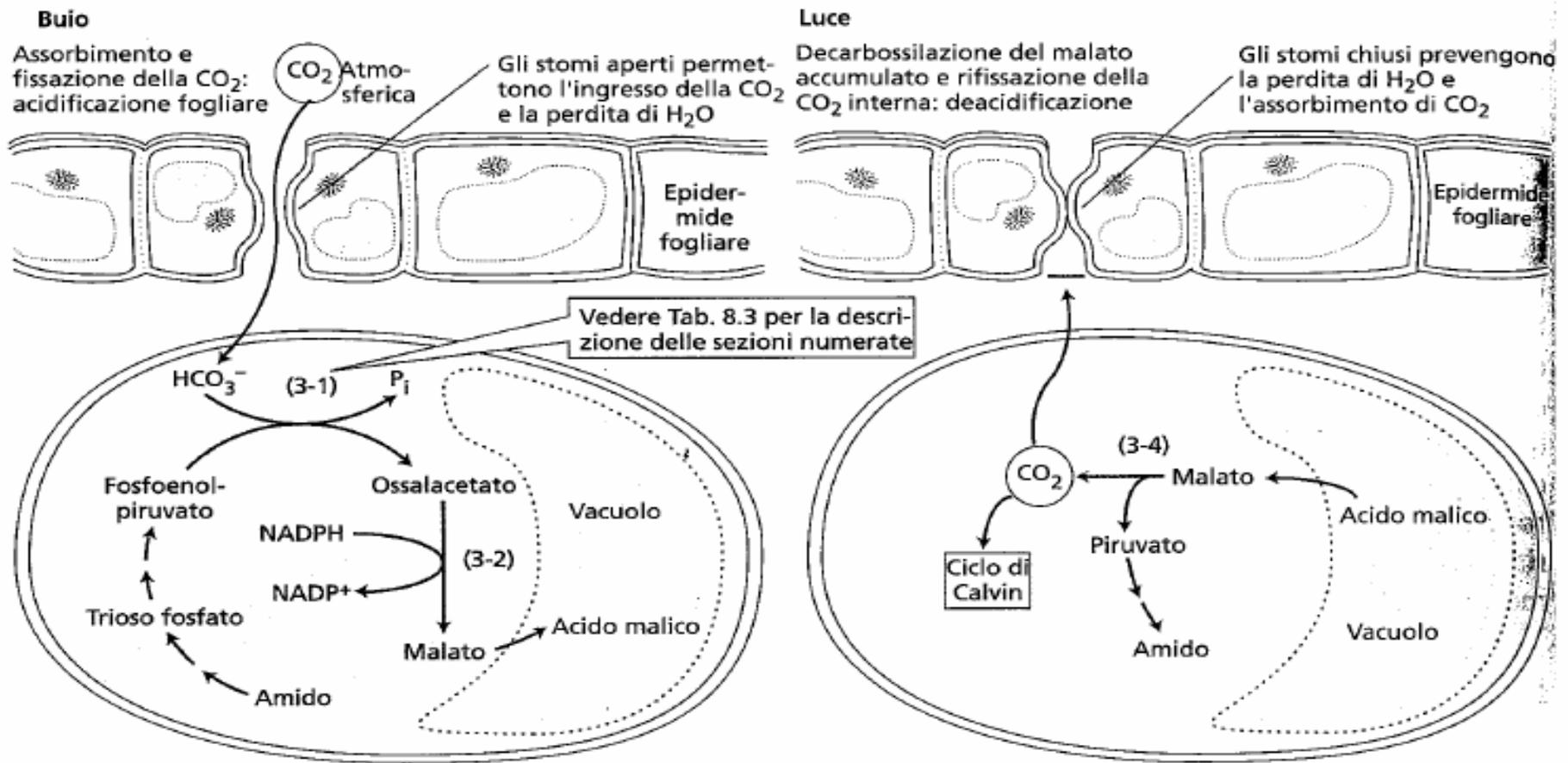
- In molte piante dei generi *Zea*, *Mollugo*, *Moricandia* e *Flaveria*, avvengono ***entrambi i tipi di fissazione della CO₂***:
nelle piante giovani c'è la C3, mentre nelle adulte la C4.

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 C_4 , usano la PEP carbossilasi per fissare CO_2 , formando OAA. OAA è poi convertito in malato, che è conservato nei vacuoli.
- Durante il giorno, quando gli stomi sono chiusi, CO_2 è rimossa dal malato ed entra nel ciclo di Calvin.

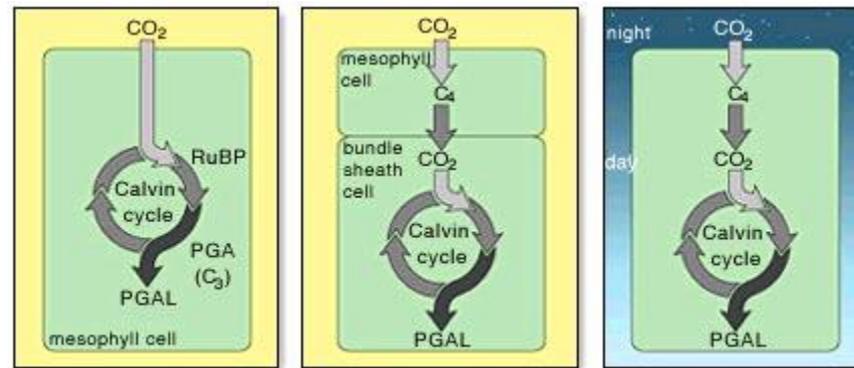
Metabolismo CAM

- **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



CO₂ fixation in a C₃ plant

CO₂ fixation in a C₄ plant

CO₂ fixation in a CAM plant