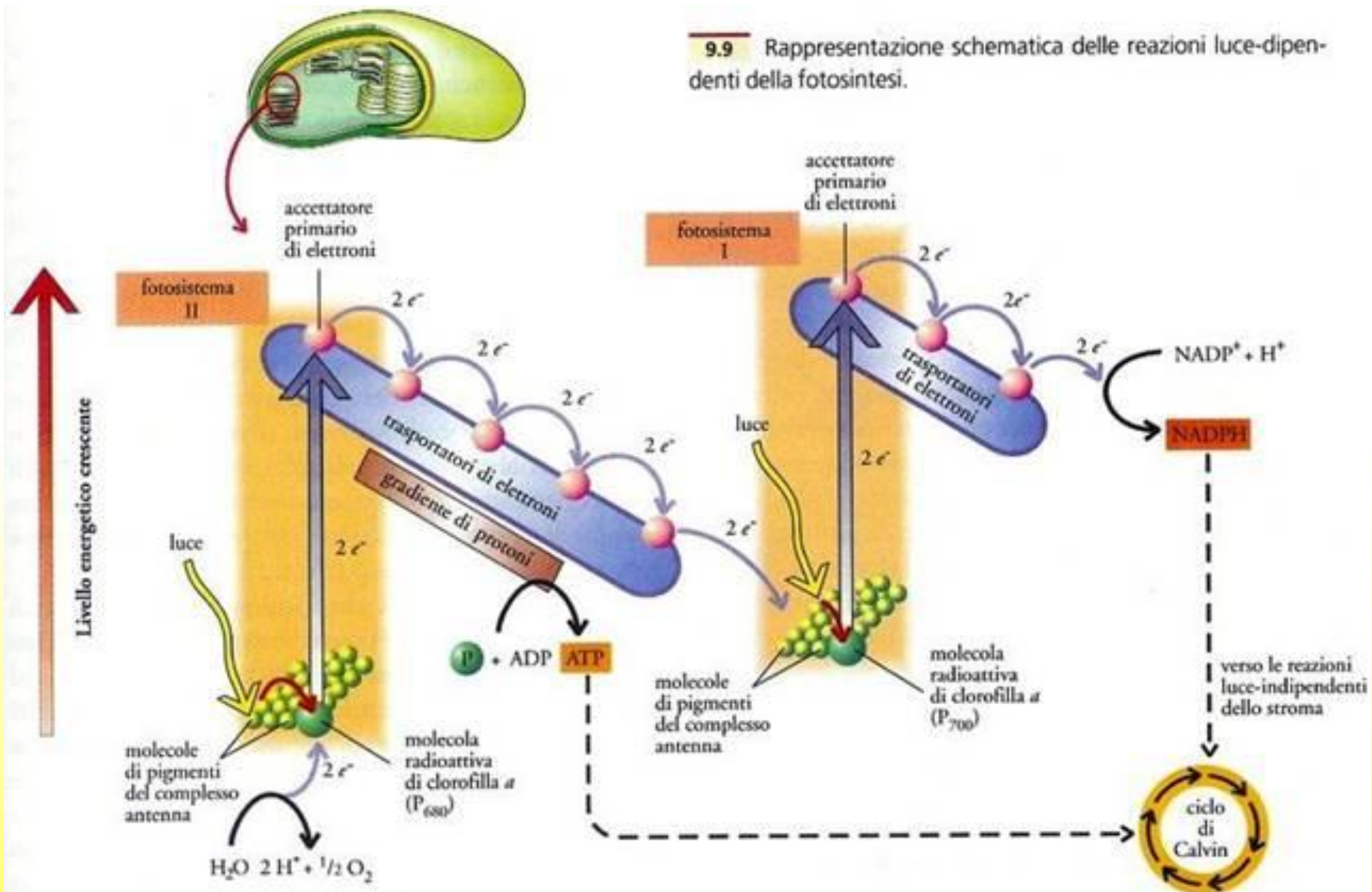


9.9 Rappresentazione schematica delle reazioni luce-dipendenti della fotosintesi.

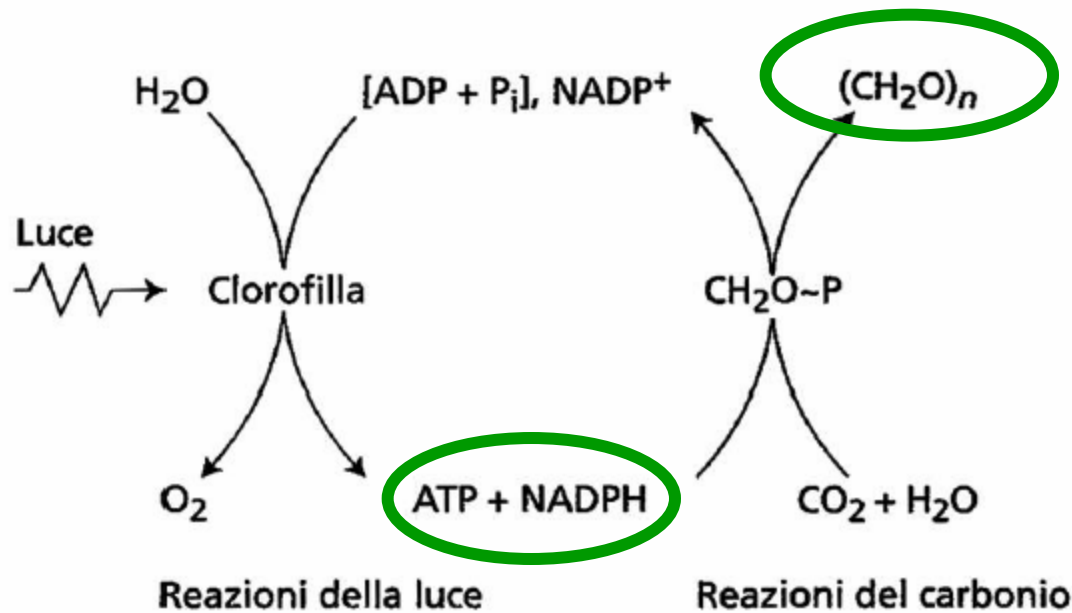


La fase “luminosa” della fotosintesi

- **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.

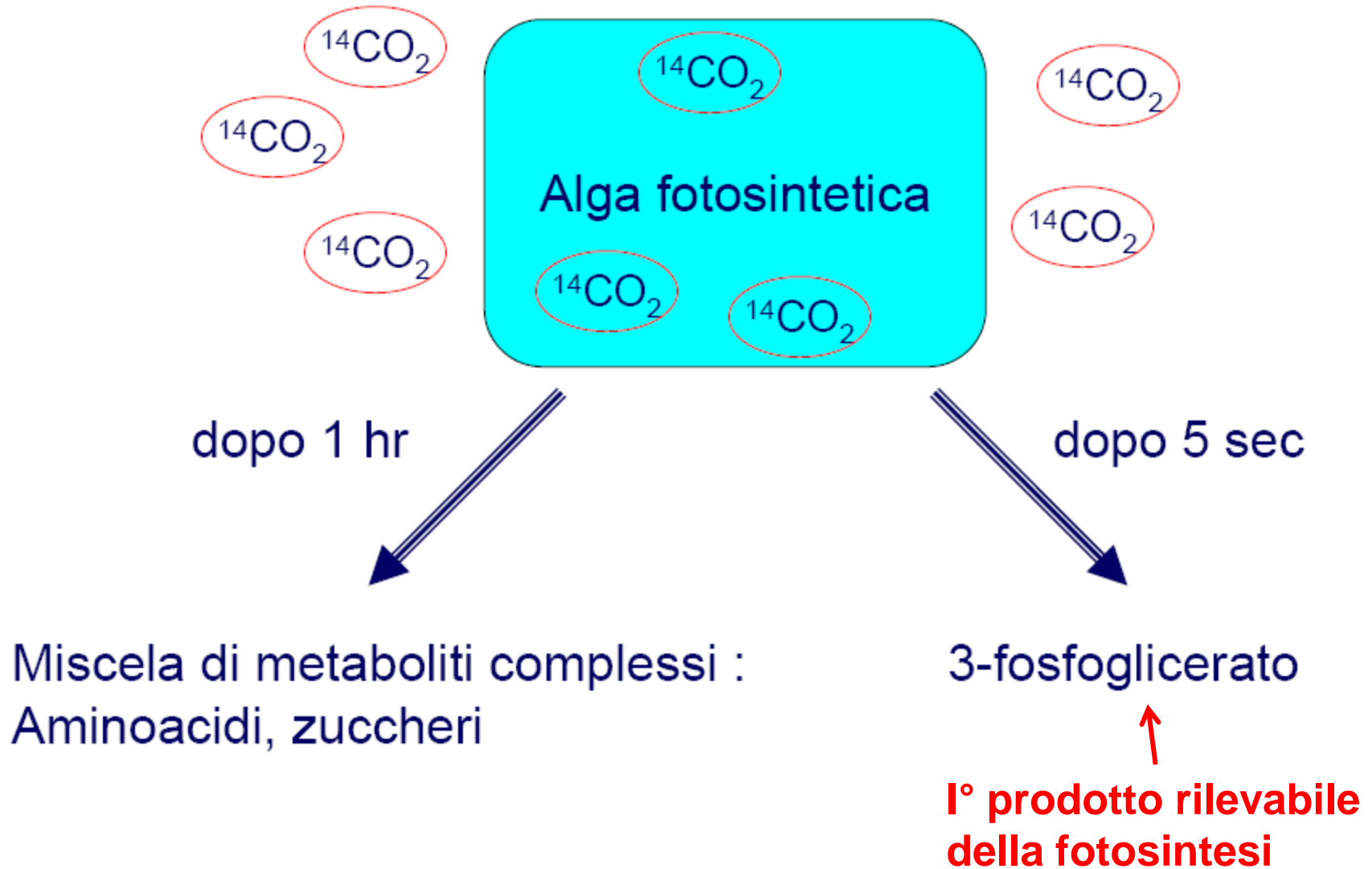
Il loro alto contenuto energetico le rende estremamente instabili, devono essere "spese" rapidamente, subito dopo essere state "guadagnate"

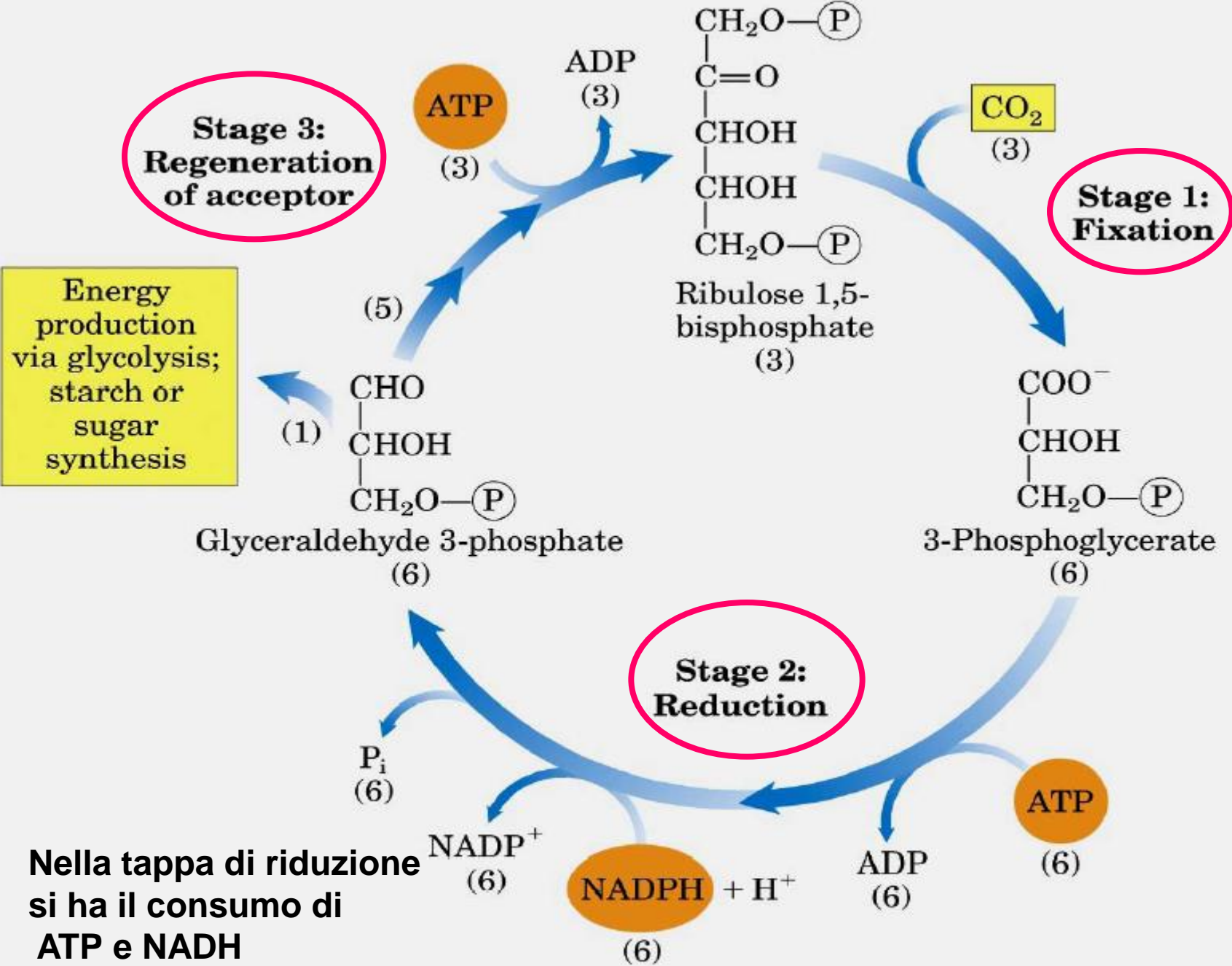
2. I carboidrati accumulati sono molecole stabili ,
possono durare nel tempo o essere rapidamente convertiti in energia

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

CICLO DI CALVIN

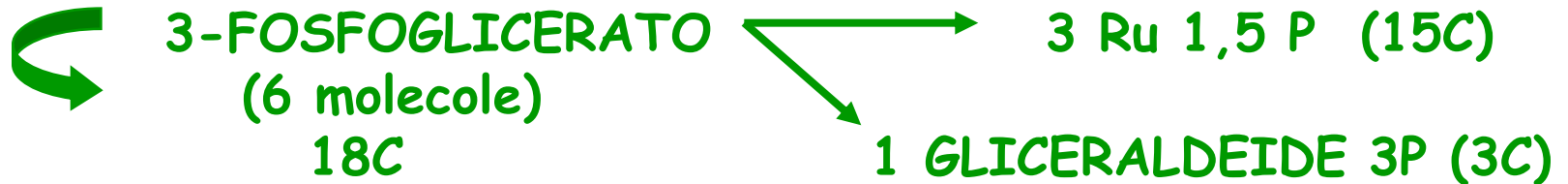
M. Calvin, J. Bassham, A. Besson 1953





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

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



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^A molecola di trioso è esportata verso il citosol per la sintesi di saccarosio, amido e altri metaboliti

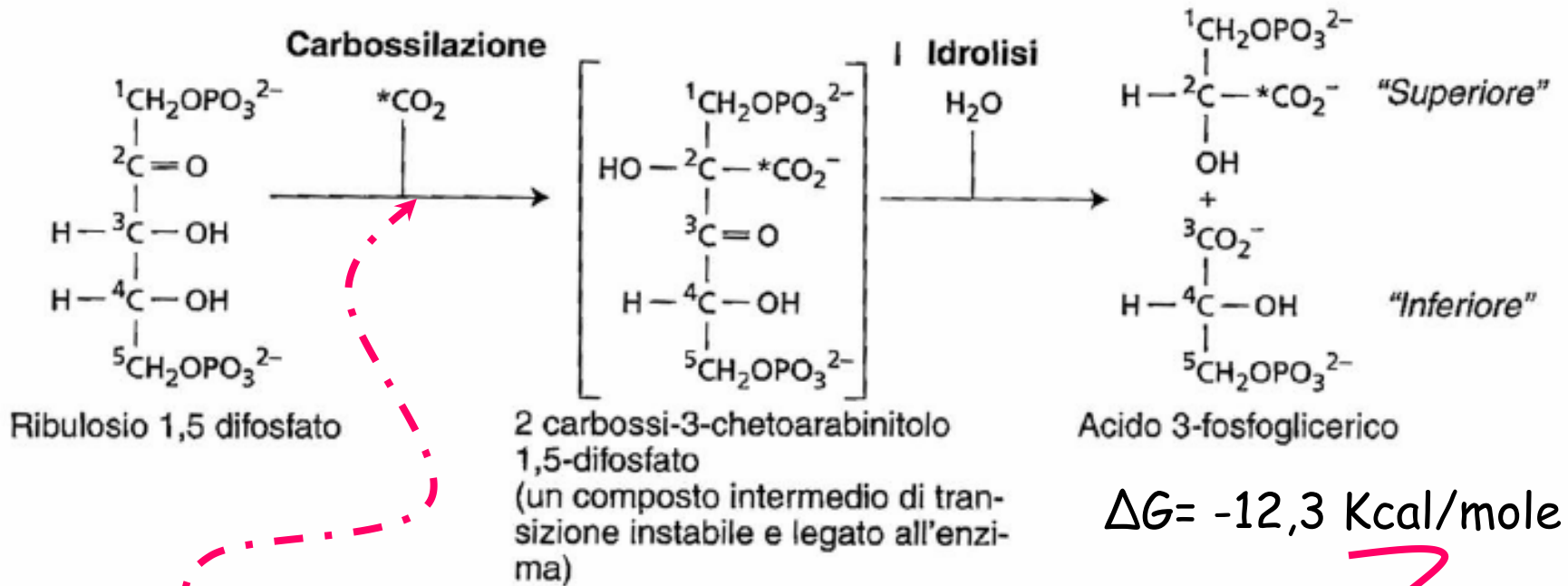
Il Ciclo di Calvin ha la proprietà importante di aumentare la sua velocità all'aumentare dei suoi composti intermedi

diventa autocatalitico

La fissazione di CO_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

Carbossilazione



Enzima RUBISCO = Ribulosio-Bifosfato-Carbossilasi

$K_m(\text{CO}_2) = 12 \mu\text{M}$ \longrightarrow 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 **ribulosio bifosfato carbossilasi (Rubisco)**.

Le piante producono quantità enormi di questo enzima:

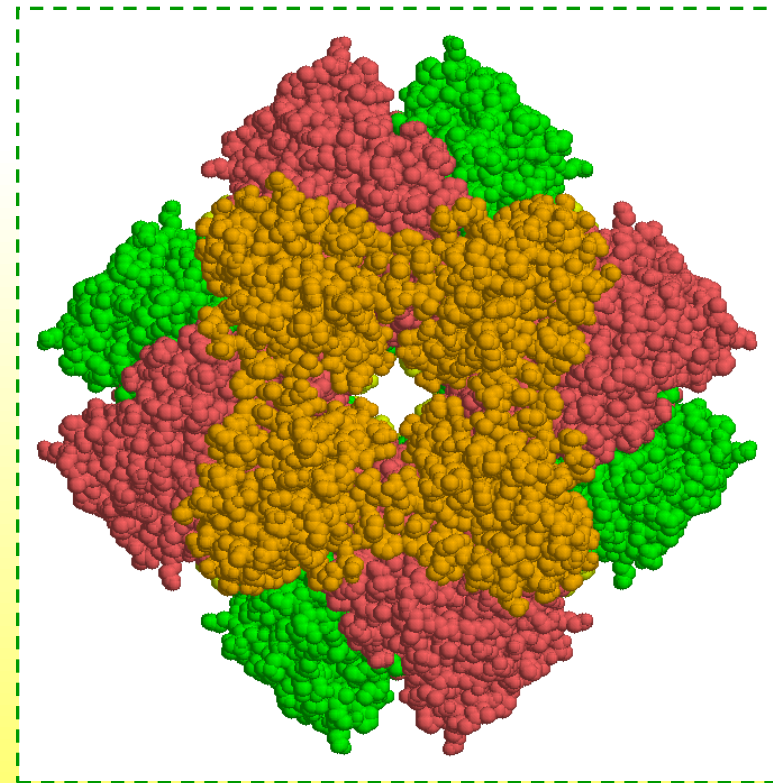
*circa il 25% di tutto il materiale proteico
presente nei cloroplasti
ed il 50% di quello dello stroma.*

**le reazioni catalizzate dalla Rubisco
sono piuttosto lente,
le piante producono
quantità enormi di questo enzima**

PM= 660000:

8 subunità grandi (sito attivo) = 56000

8 subunità piccole (???) = 14000



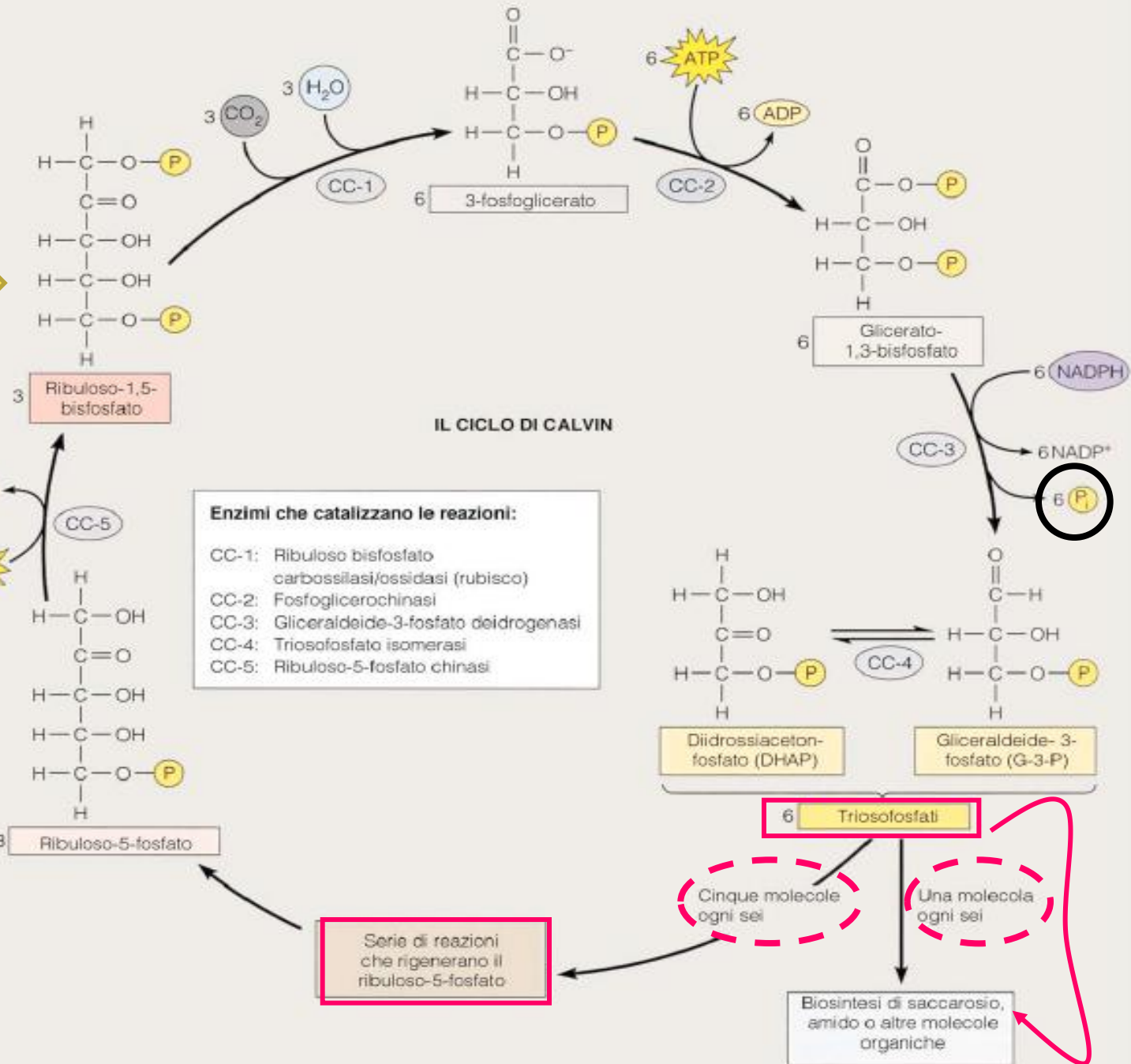
Riduzione

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

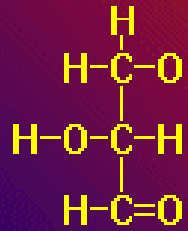
La riduzione non è diretta.

si libera Pi





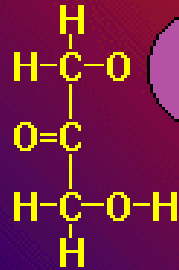
1



GP3

gliceraldeide 3-fosfato

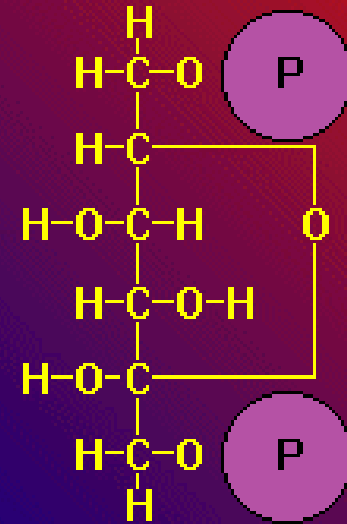
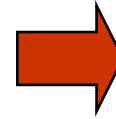
2



DHAP

diidrossiacetone fosfato

Trans aldolasi



FDP

fruttosio 1,6-difosfato

Fosfatasi

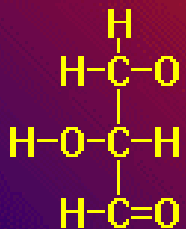


Pi

Fru 6P

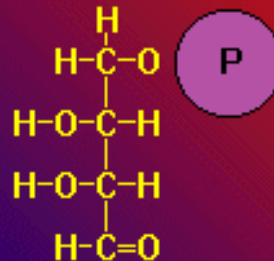
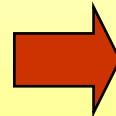
+

3



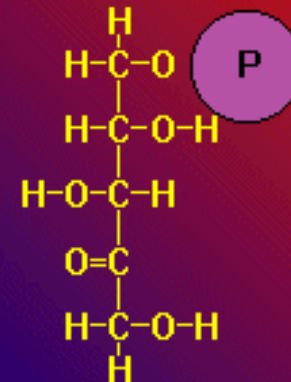
GP3

gliceraldeide 3-fosfato



E4P

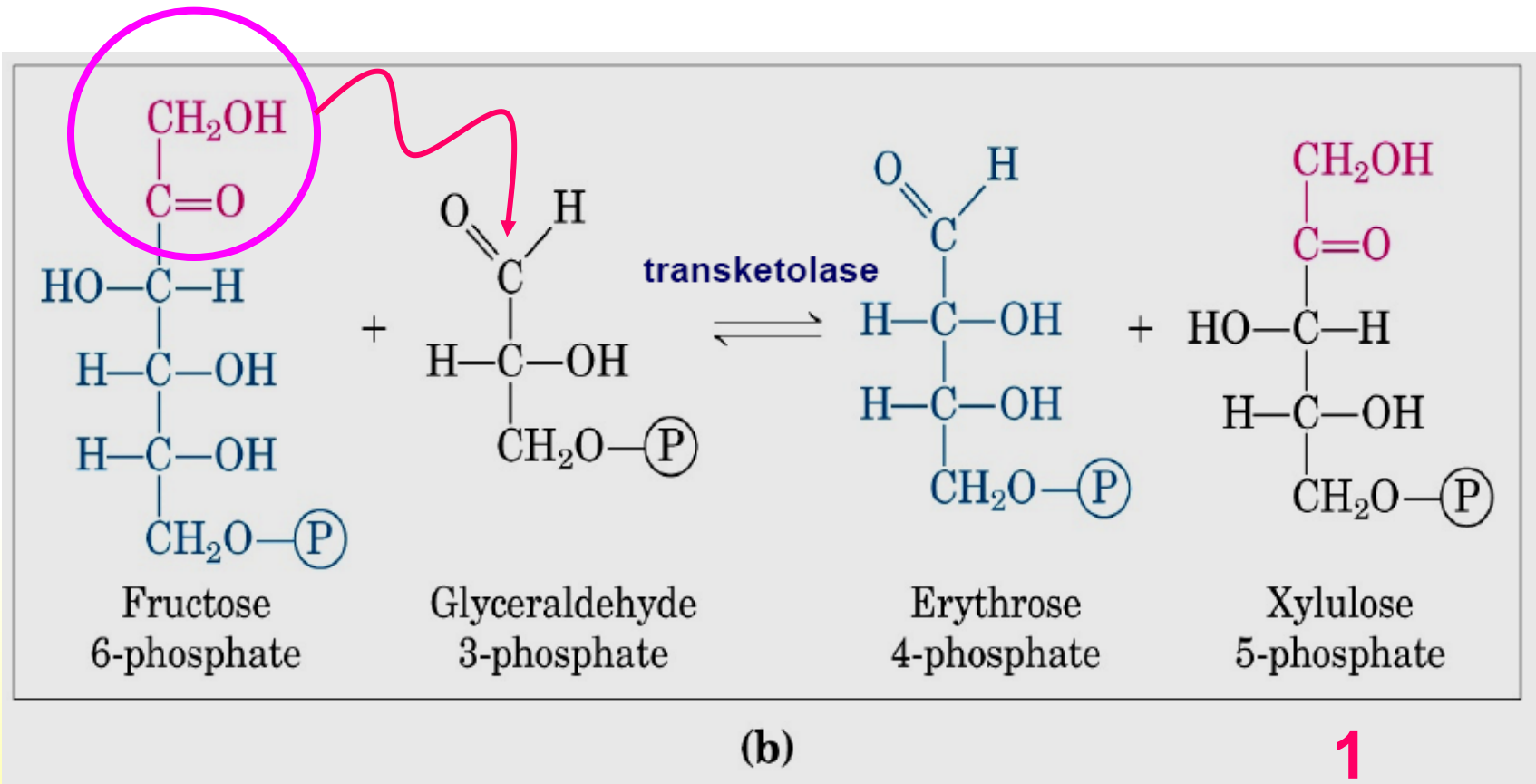
eritrosio 4-fosfato



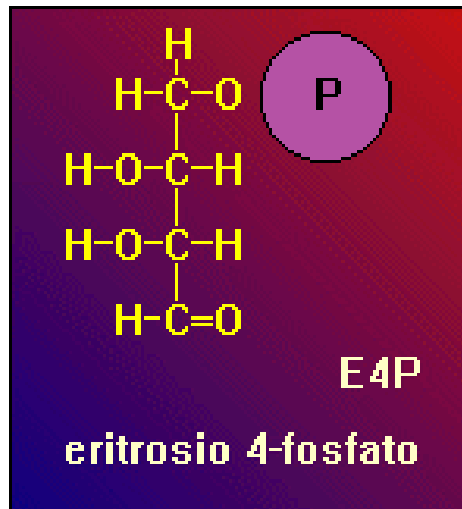
Xu5P

xilulosio 5-fosfato

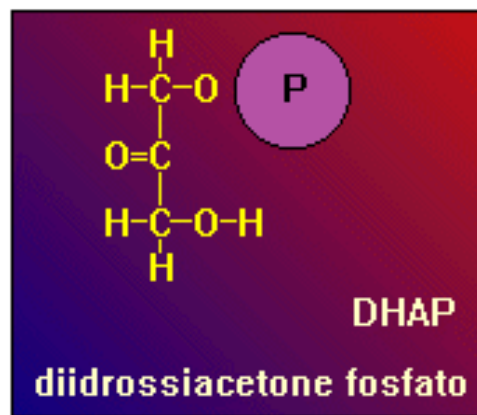
Trans chetolasi



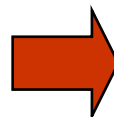
La **transchetolasi** trasferisce un gruppo a due atomi di C di un chetoso donatore al gruppo prostetico dell'enzima e poi ad un aldoso accettore.



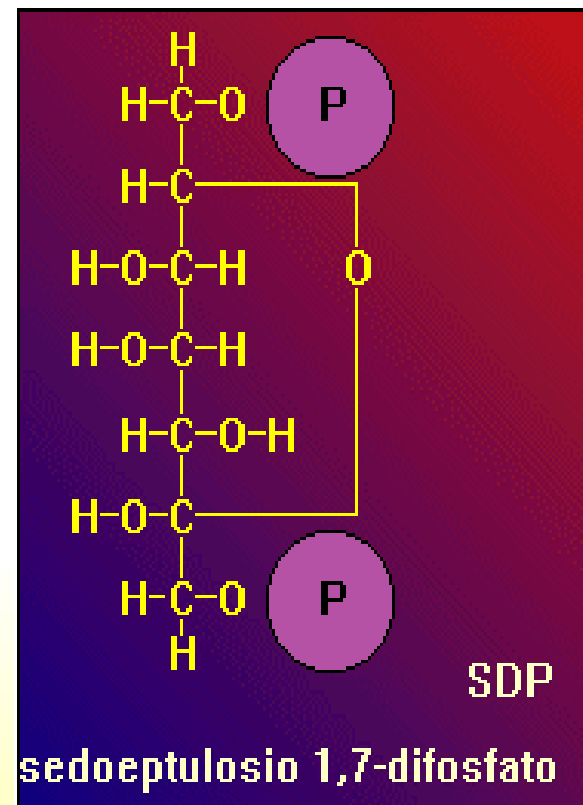
+



Trans aldolasi

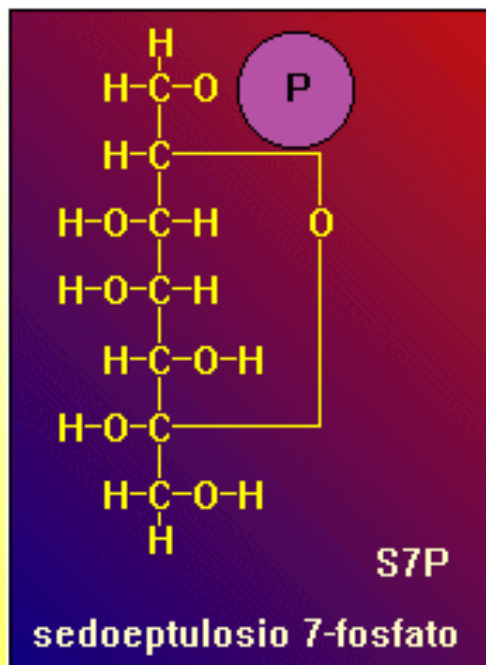


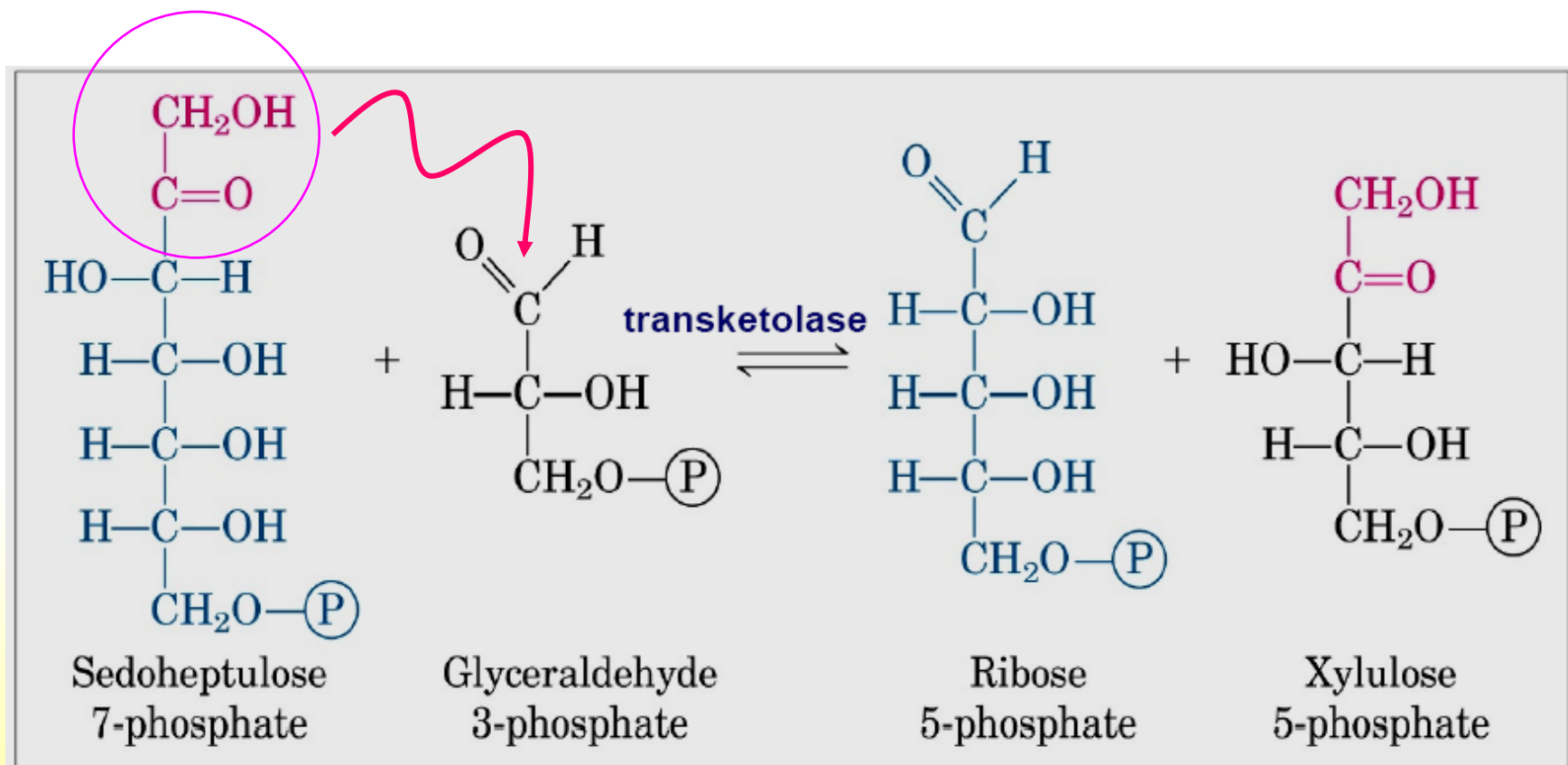
4



Pi

Fosfatasi

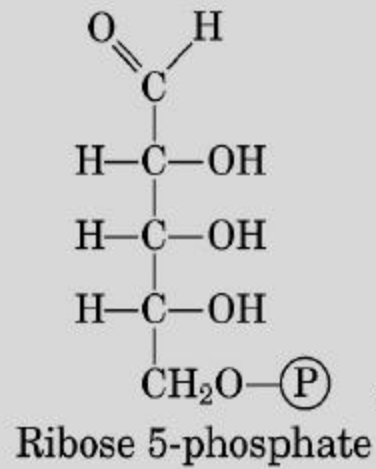




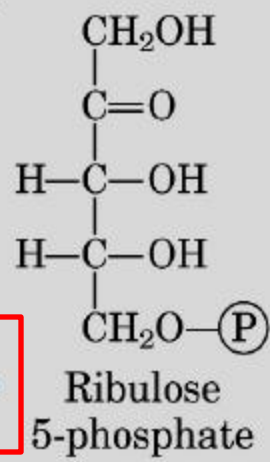
5

2

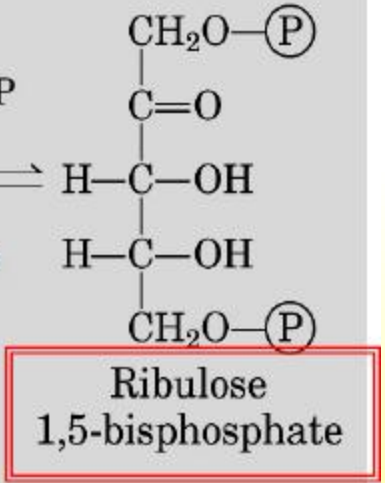
3



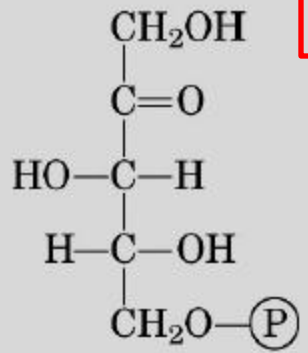
ribose
5-phosphate
isomerase



ATP → ADP
ribose
5-phosphate
kinase

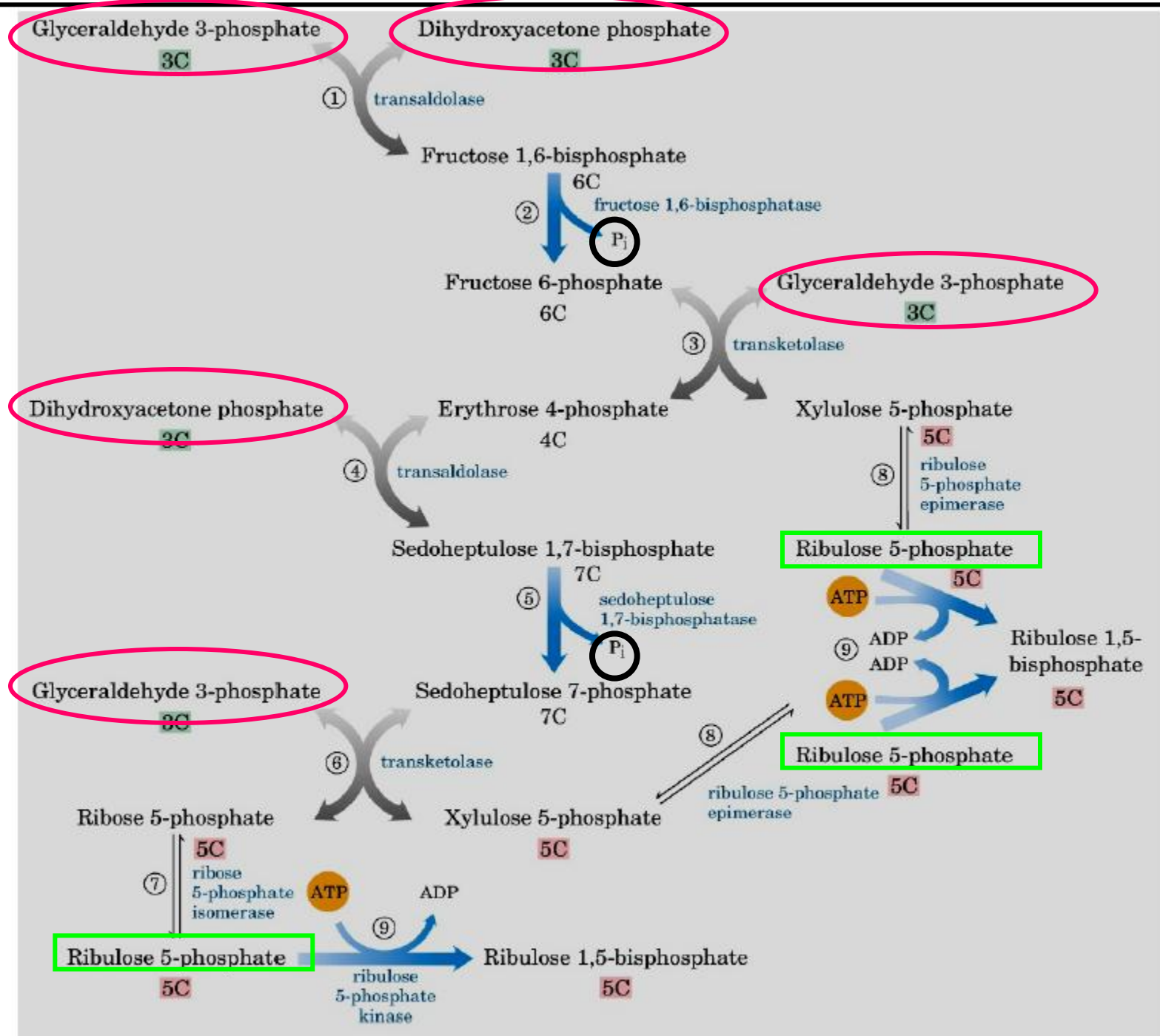


ribose
5-phosphate
epimerase

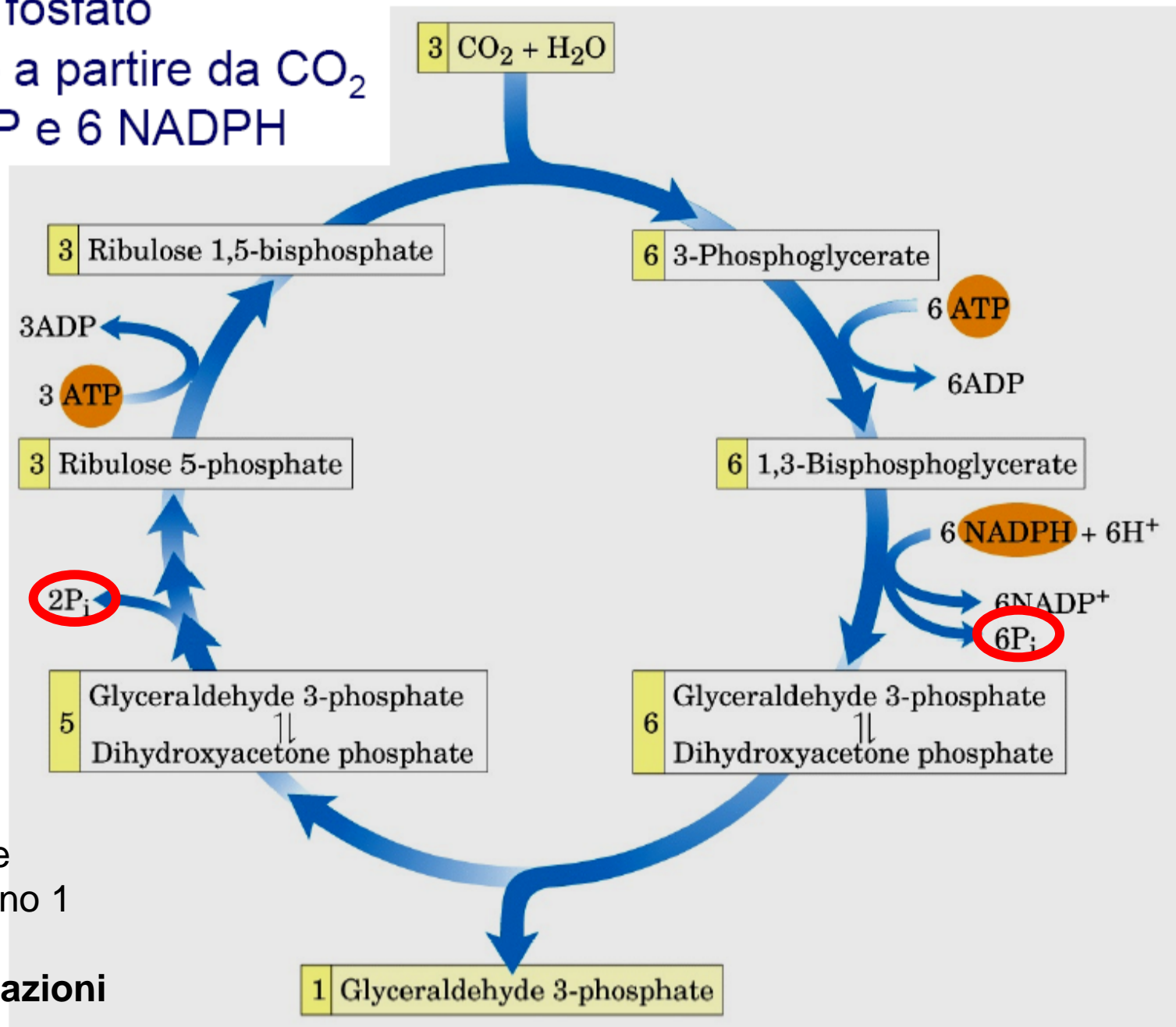


Xylulose 5-phosphate



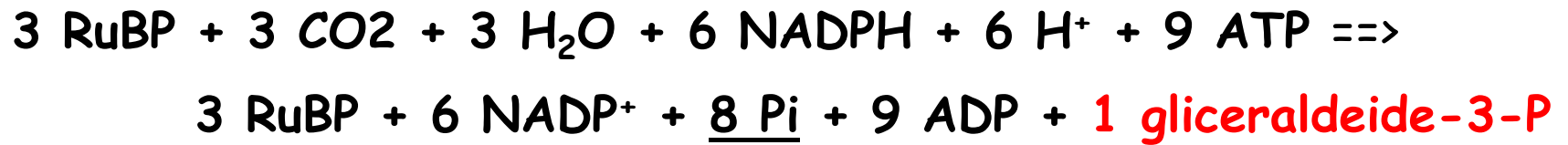


Ogni trioso fosfato sintetizzato a partire da CO_2 costa 9 ATP e 6 NADPH



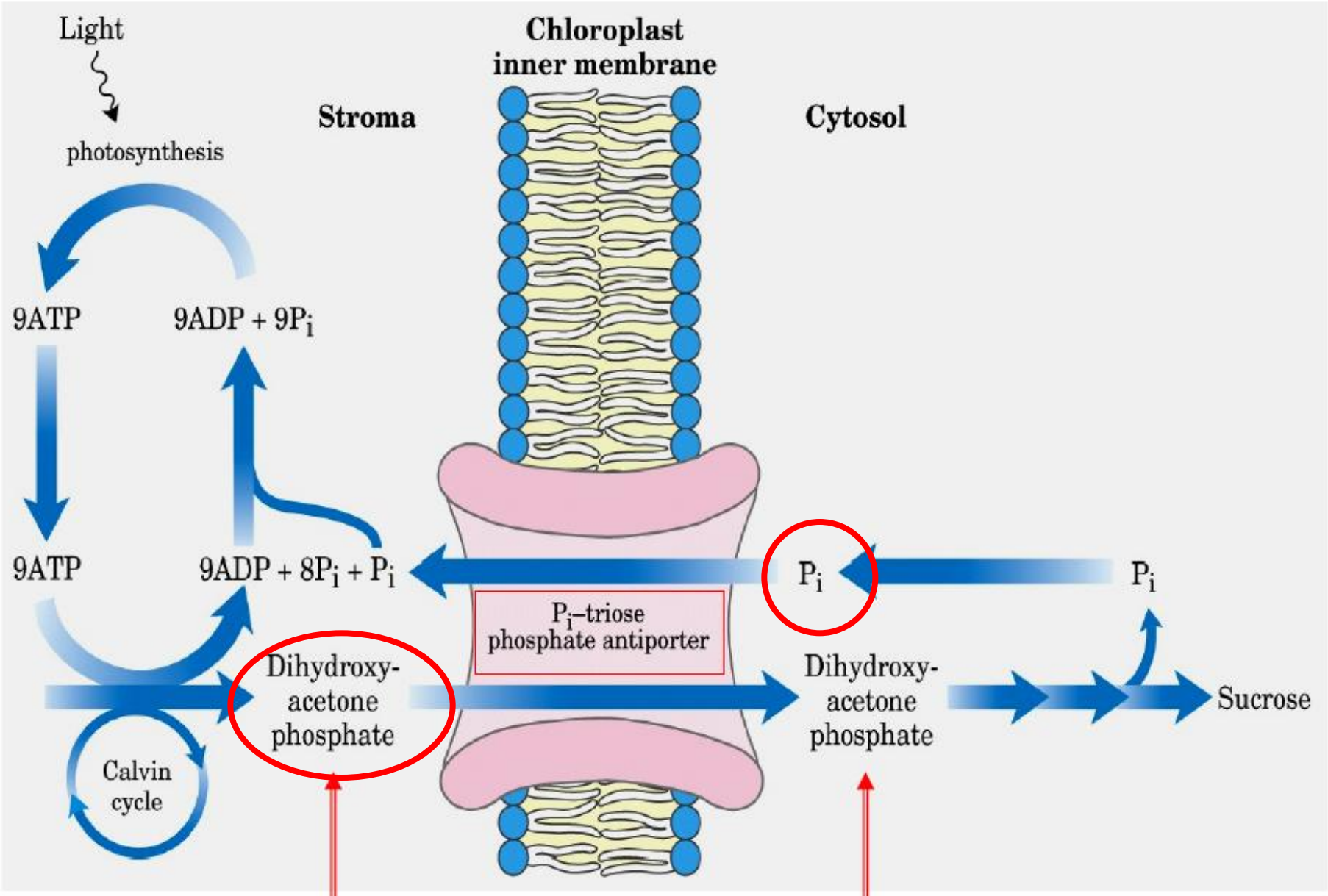
Affinchè tutte le tappe avvengano 1 volta:

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.

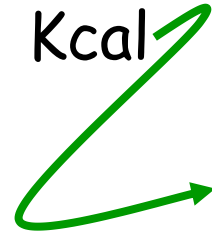
L'ADP, il P_i e il NADP⁺ ottenuti dal ciclo C3 sono di nuovo disponibili per le reazioni della fase luminosa e vengono quindi riciclati per formare nuovi ATP e NADPH.



Consumo energetico complessivo:

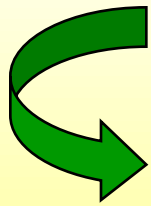
9 ATP 9 x 7 Kcal = 63 Kcal

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:

1. Rubisco;

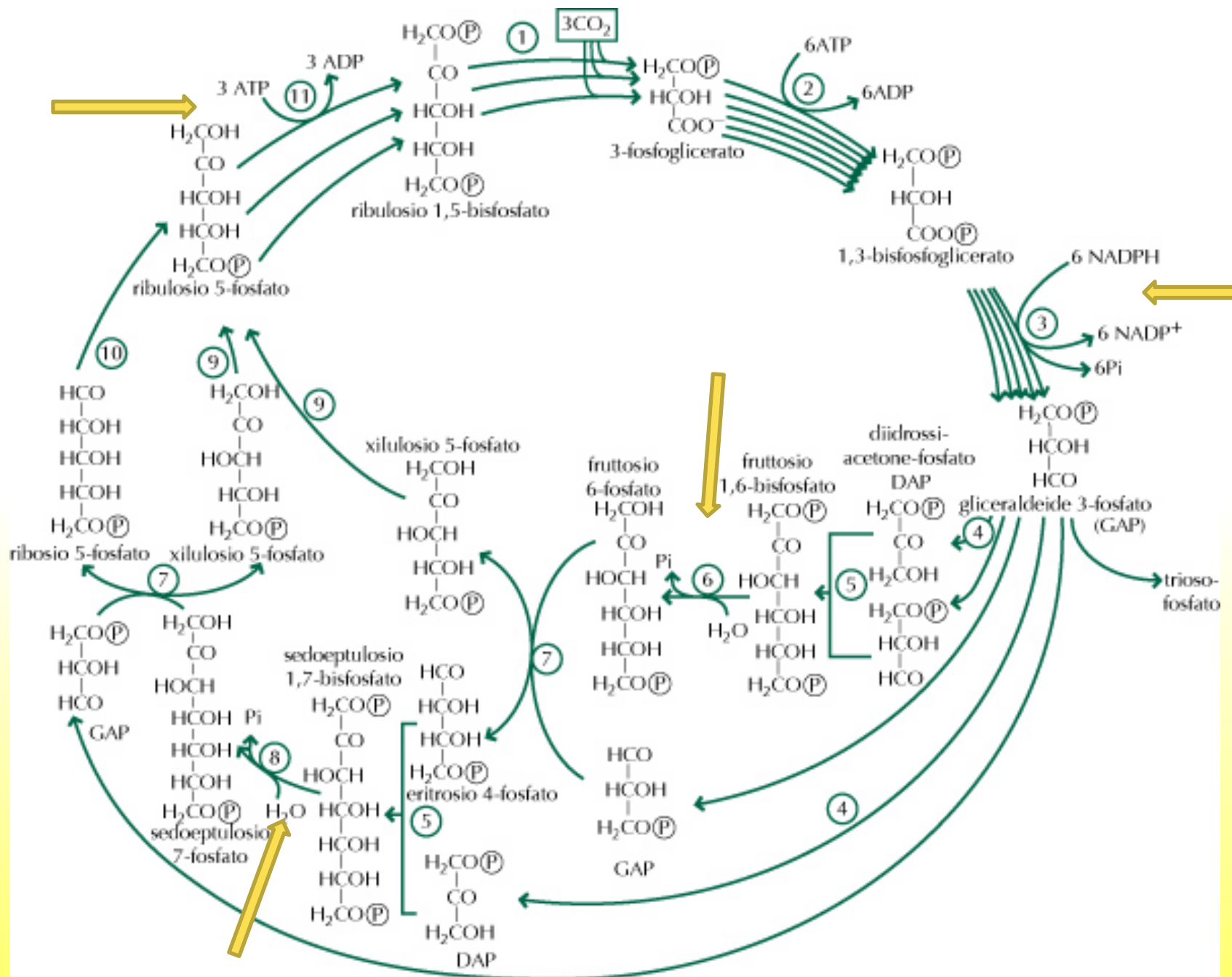
2. NADP:gligeraldeide-3-P deidrogenasi;

3. Fruttosio 1,6-bisfosfato fosfatasi;

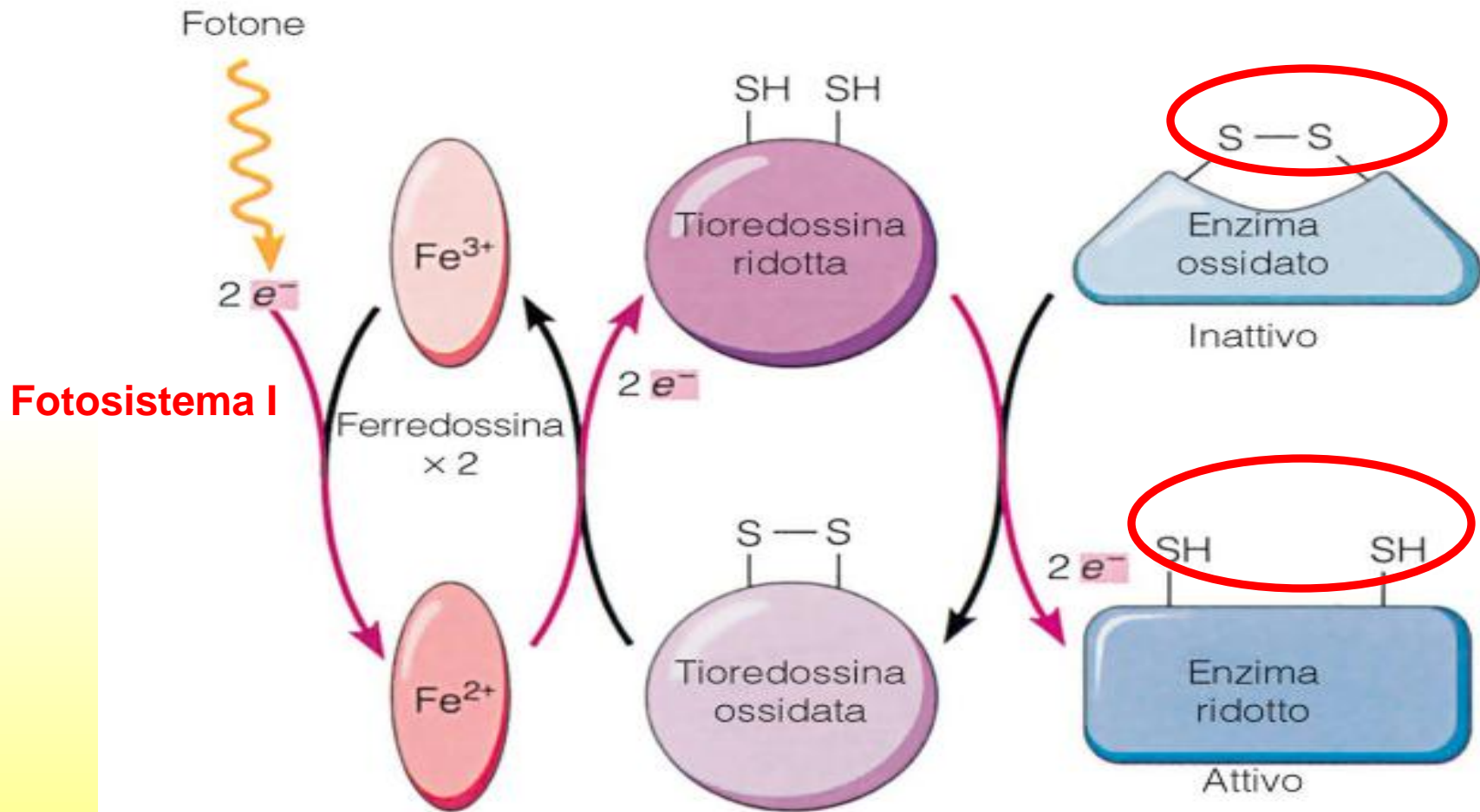
4. Sedeptuloso-1,7-bisfosfato fosfatasi;

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)

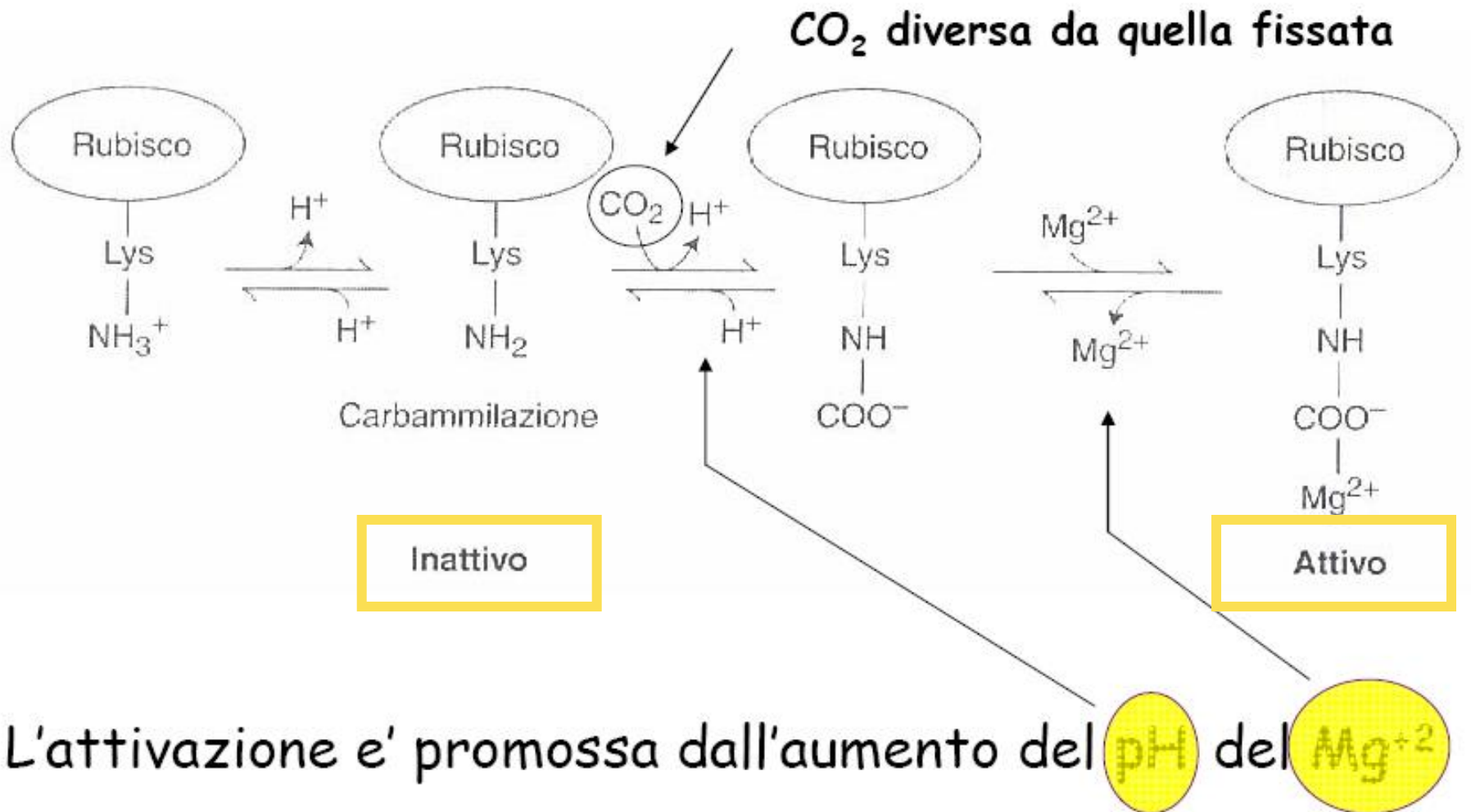


La riduzione dei ponti disolfuro a gruppi SH determina modificazione della struttura dell'E. e aumento dell'attività enzimatica



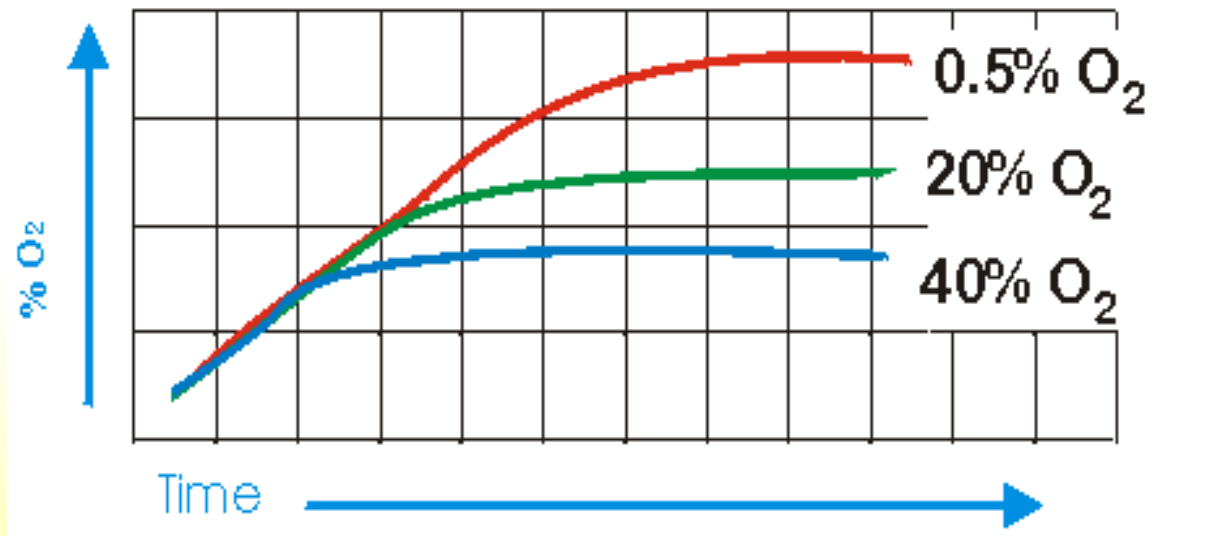
La riduzione dei residui di cisteina è luce dipendente ed è mediata dalla tioredossina

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 ($K_m = 20 \mu\text{m}$)

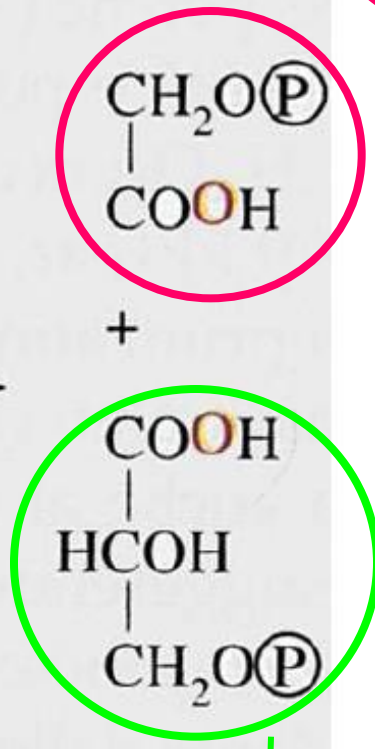
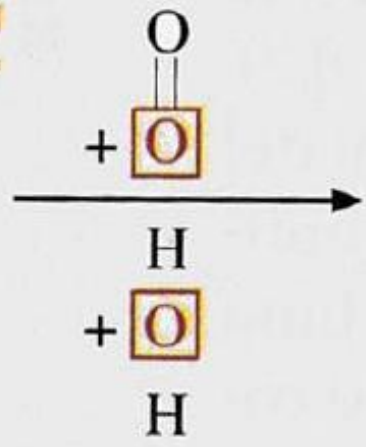
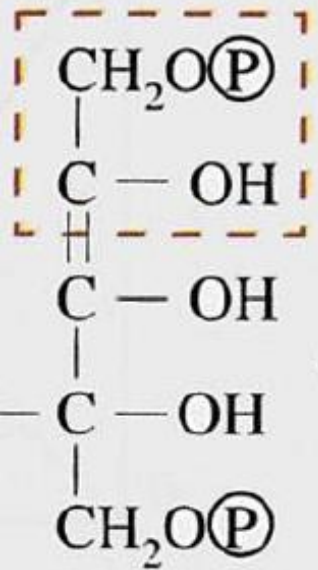
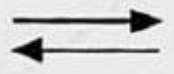
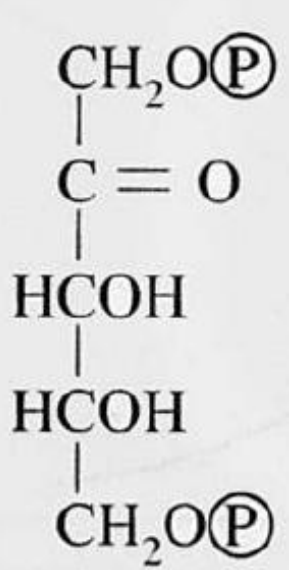
l'evoluzione dell'enzima è avvenuta quando la $[O_2]$ era bassa rispetto ai livelli attuali



**Le piante si sono 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

Attraverso il ciclo C2 (del Fosfoglicolato) la pianta :


- Risponde all'attività ossigenasica della RUBISCO
- Evita l'accumulo del Fosfoglicolato, tossico per la cellula
- Recupera il 75% del C perso dal Ciclo di Calvin


FOTORESPIRAZIONE



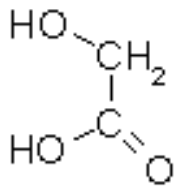
analogia con la respirazione mitocondriale: consumo di O_2 e produzione di CO_2 ma avviene solo alla luce

In situazioni di stress:

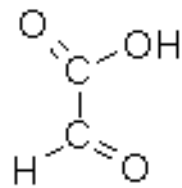
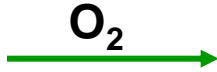
- Ridotta richiesta di NADPH nel Calvin  riduzione parziale dell' O_2 e produzione delle specie reattive dell' O_2 (ROS) **FOTOINIBIZIONE**



La fotorespirazione dissipando energia e potere riducente previene la fotoinibizione dell'apparato fotosintetico



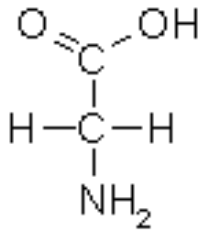
Glicolato



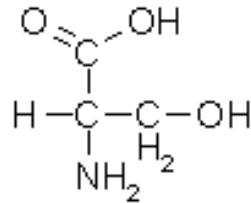
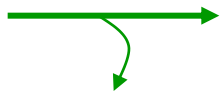
Gliossilato

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

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

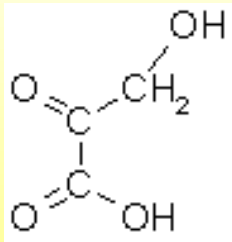


2 Glicina

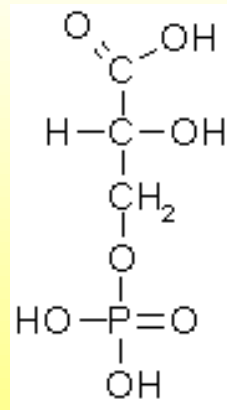


Serina

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



Idrossipiruvato

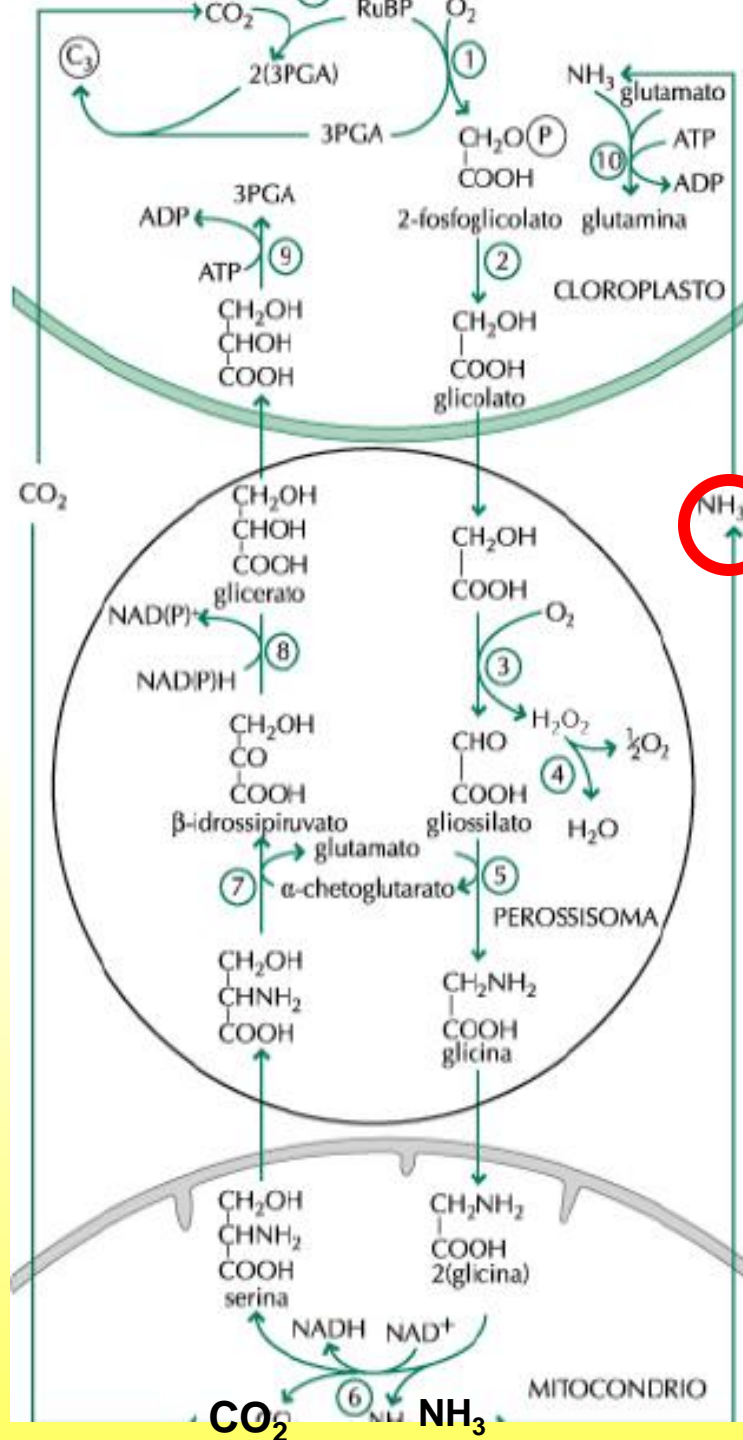


PGA

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

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

Ac 3-PGlicerico che entra nel ciclo C3.



NH₃ rilasciata è usata con α-chetogluturato 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 entra 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 di Calvin C3
- ❖ L' NH_3 dalla deaminazione della serina a idrossipiruvato viene utilizzata per formare il glutammato dall' α -chetoglutarato



velocità di riassimilazione dell'N molto elevata

Fotosintesi e Fotorespirazione funzionano in direzioni opposte:

Nella fotorespirazione è persa CO_2

che contemporaneamente viene fissata nel ciclo di Calvin

La fotorespirazione :

- *non provoca la fissazione di CO_2*
- *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*

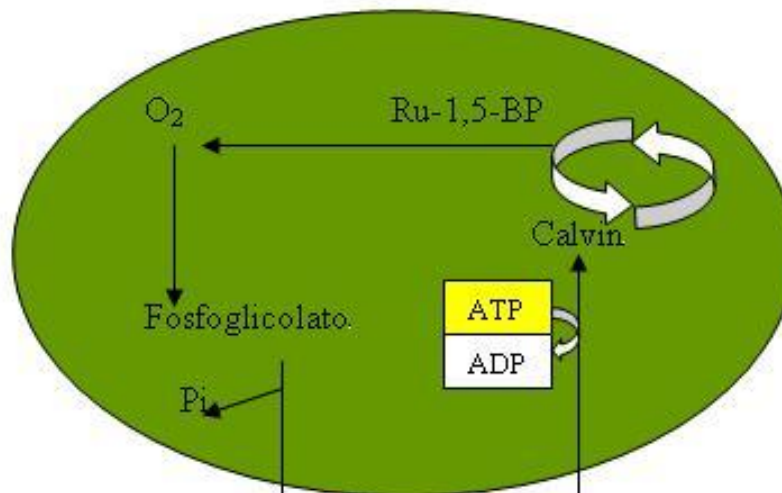
rispetto alla fissazione del carbonio



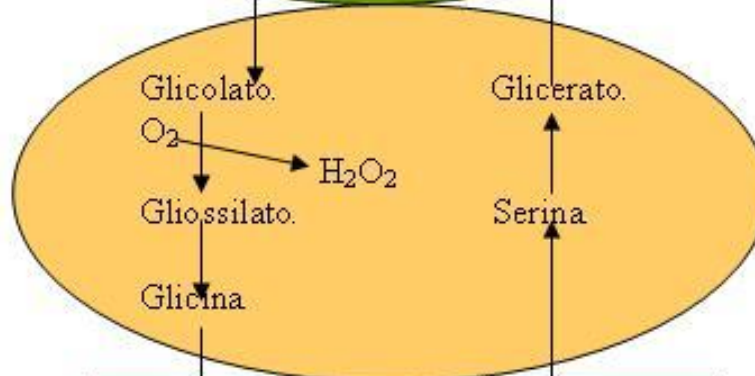
Nel **CICLO DI CALVIN** : **3 ATP e 2 NADPH** per **1 CO_2**

Nella **FOTORESPIRAZIONE** La spesa energetica è + del doppio
per **1 CO_2 prodotta** **6,8 ATP e 7 NADPH**

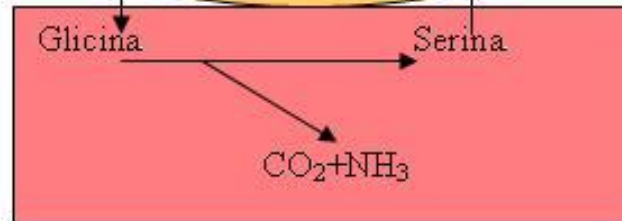
CLOROPLASTO



PEROSSISOMA



MITOCONDRIO



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

Le condizioni normali sono $\text{CO}_2 < 0,03\%$ 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%**


II PUNTO DI COMPENSAZIONE indica l'intensità luminosa e la
concentrazione di CO_2

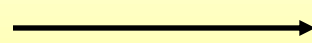
 alla quale **L'attività fotosintetica è pari a quella respiratoria**

La CO_2 fissata con il Ciclo di Calvin (C3) = CO_2 liberata dal C2

tutta la sostanza organicata con la fotosintesi è consumata
dalla respirazione e la pianta non cresce

Per le piante C3 il punto di compensazione è 50 ppm di CO_2

 $A(CO_2) < 50 \text{ ppm}$



Senescenza della foglia



Fotossidazione

per il mantenimento del ciclo C2

degli zuccheri di riserva

(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

La fotorespirazione consumando O_2

dissipazione innocua dell'energia luminosa

Riduzione dell' O_2 e della produzione di specie radicaliche

dell'O e della fotodistruzione dei pigmenti

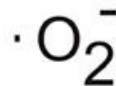
SPECIE RADICALICHE DELL'OSSIGENO



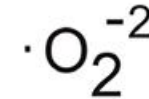
Oxygen



Superoxide anion



Peroxide



Hydrogen Peroxide



Hydroxyl radical



Hydroxyl ion



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

Piante C4

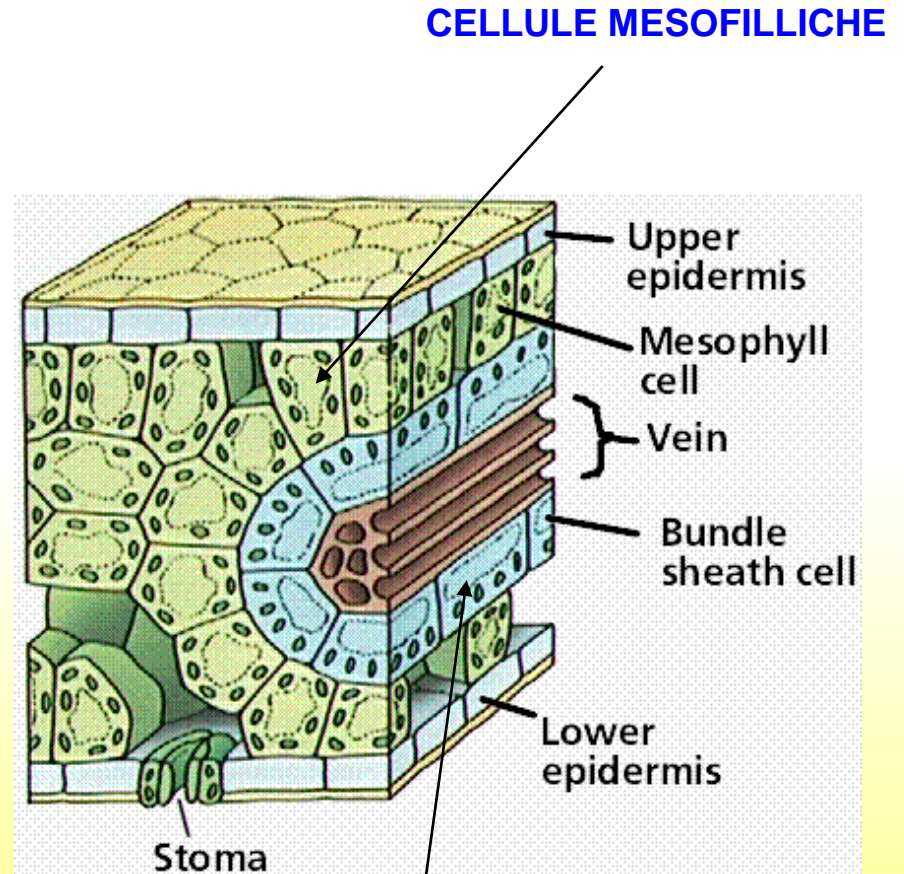
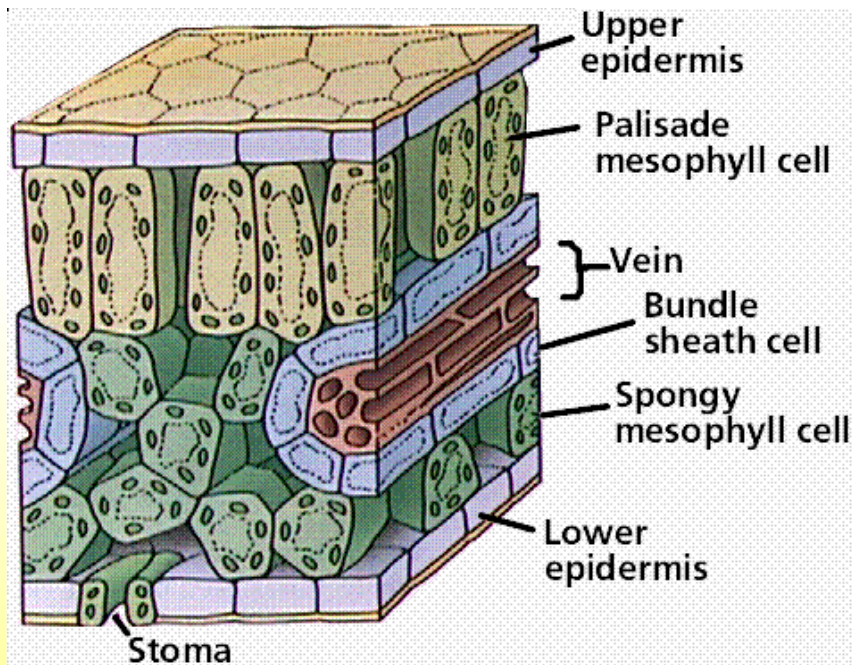
Via scoperta da Hatch e Shack nel 1960

- Piante **originarie dei tropici** (grano, canna da zucchero, sorgo, mais)
- 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,

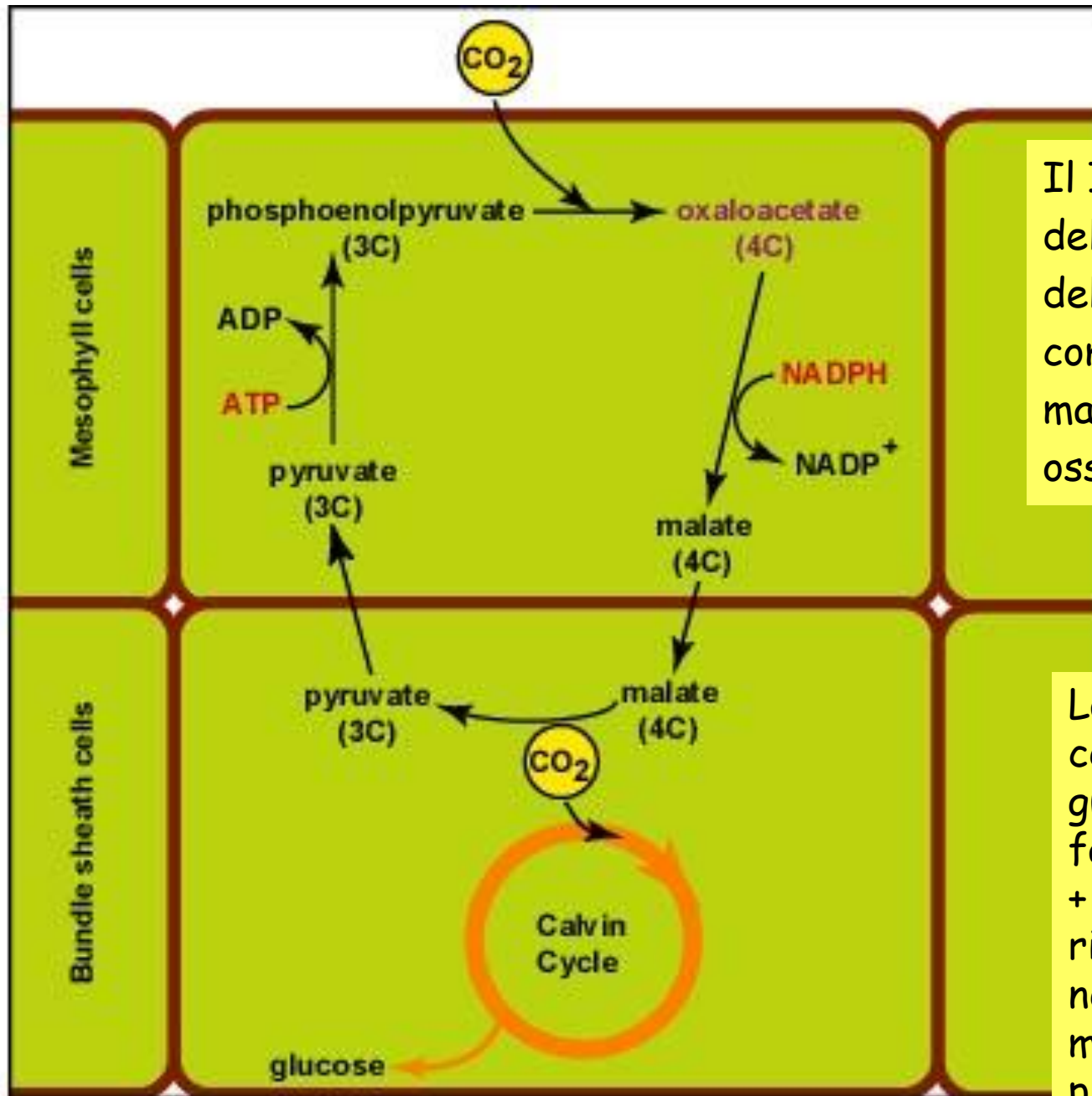


morfologia fogliare diversa

C3 and C4



CELLULE DELLA GUAINA
DEL FASCIO VASCOLARE

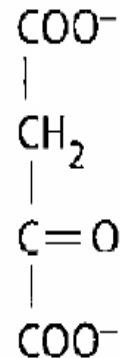
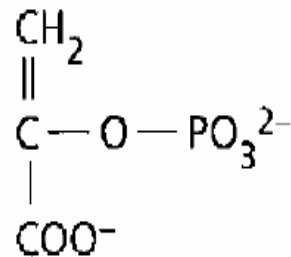
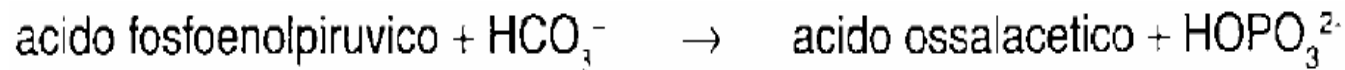


Il I° prodotto della fissazione della CO_2 non è un composto a 3 C, ma l'acido ossalacetico, a 4 C

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.

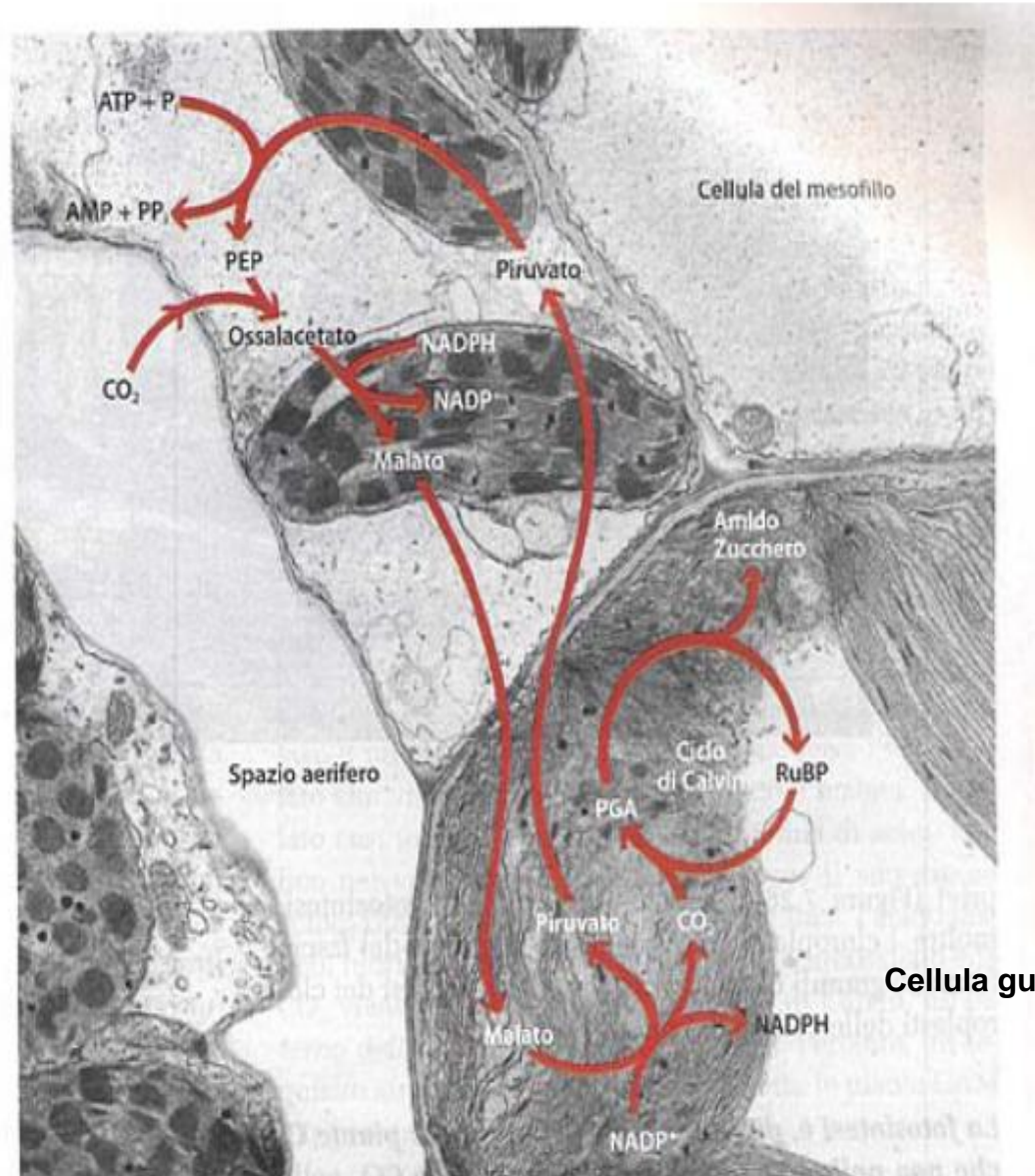
L' O_2 non e' un competitore della reazione.

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

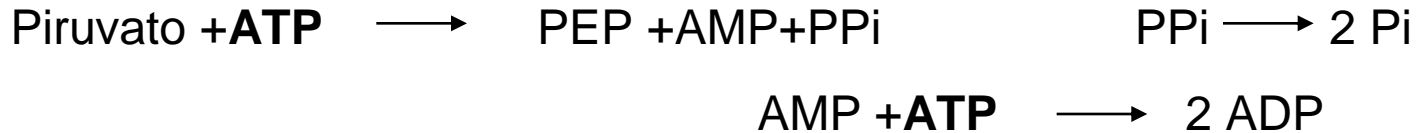
Figura 7.24 Via metabolica per la fissazione dell'anidride carbonica nel mais (*Zea mays*), una pianta C_4 . L'anidride carbonica viene inizialmente fissata nelle cellule del mesofillo in ossalacetato che, a sua volta, viene convertito rapidamente in malato. Il malato è trasportato alle cellule della 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.

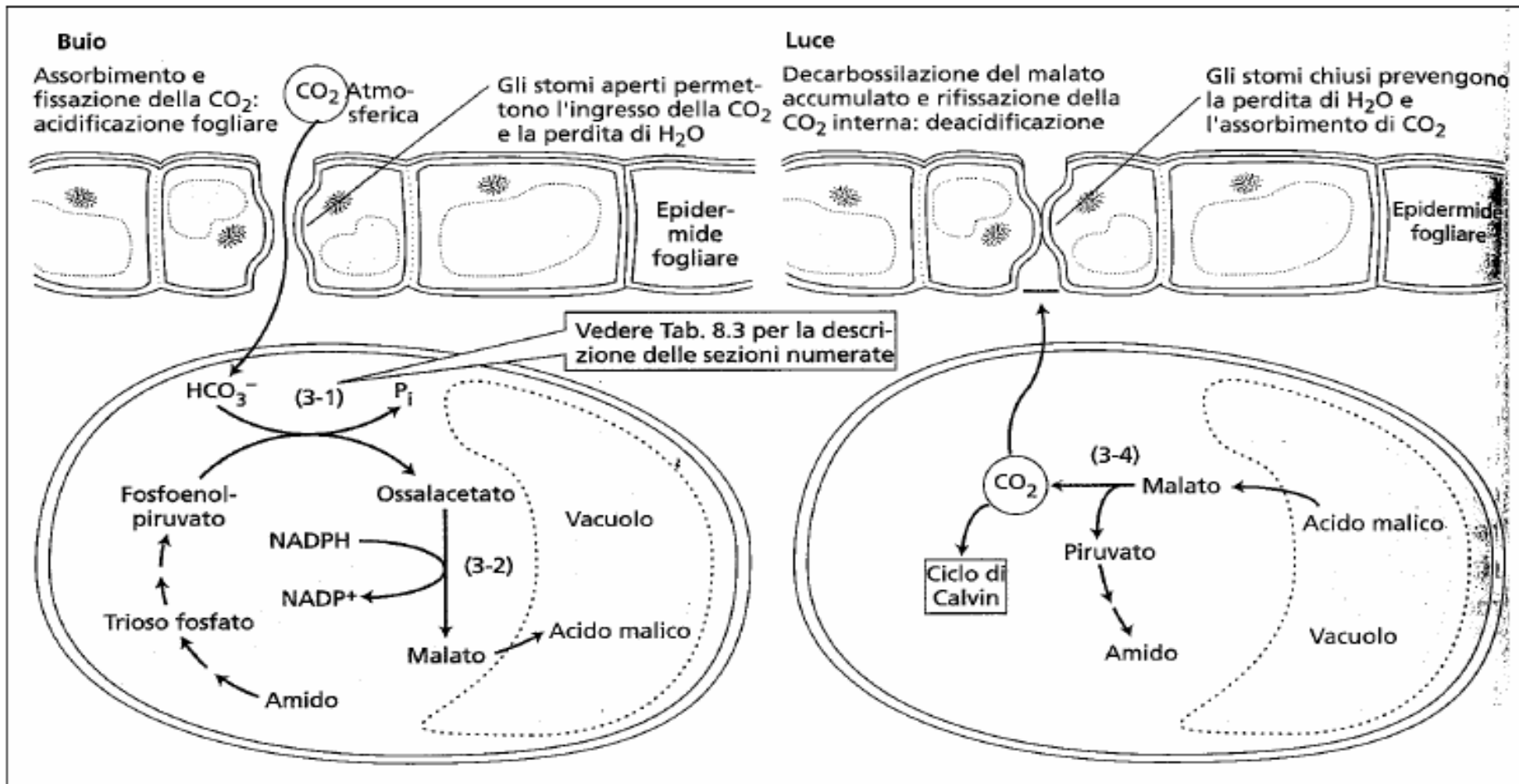
- Dove la luce è un fattore dominante e le **temperature più basse** (ad es. zone temperate) sono le C3 ad avere vantaggio,
- **le C4 sono quasi tutte specie erbacee o arbusti presenti in zone aperte o in microclimi più caldi.**

Curiosità

- Molti autori ipotizzano che la via C4 si è evoluta in 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 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, 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 separato nel tempo**



- Come le piante C₄, usano la PEP carbossilasi per fissare CO₂, formando OAA. OAA è poi convertito in malato, che è conservato nei vacuoli.
- Durante il giorno, quando gli stomi sono chiusi, CO₂ è rimossa dal malato ed entra nel ciclo di Calvin.

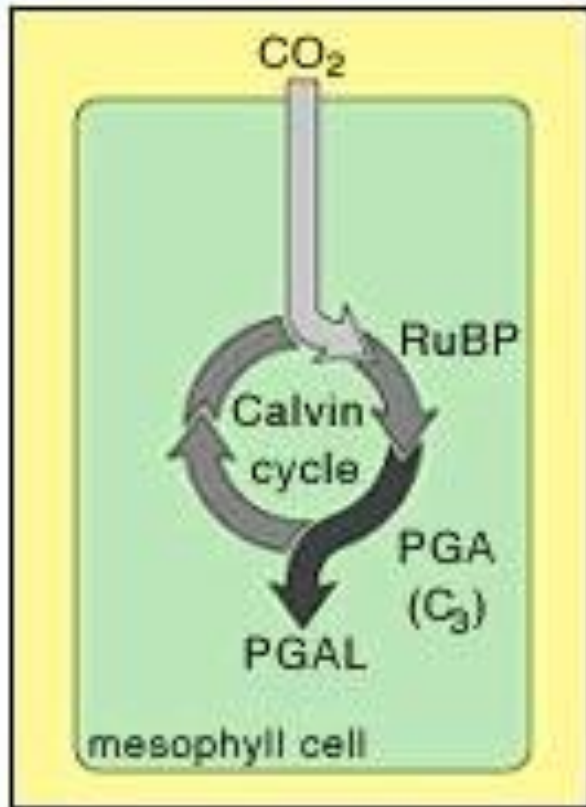
Metabolismo CAM

- **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.**

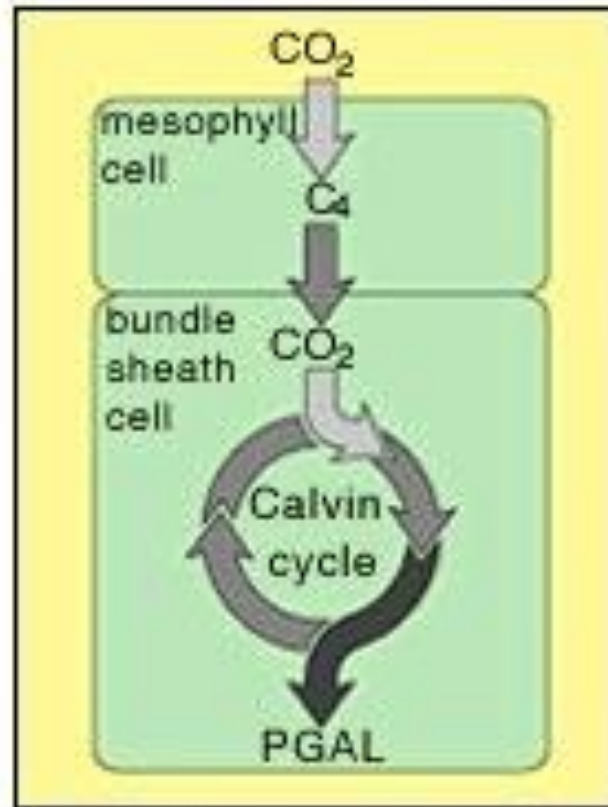
Un'eccezione è la dicotiledone succulenta C4 *Portulaca oleracea*, capace di scegliere la migliore via biosintetica (C4 o CAM) a seconda delle condizioni ambientali.



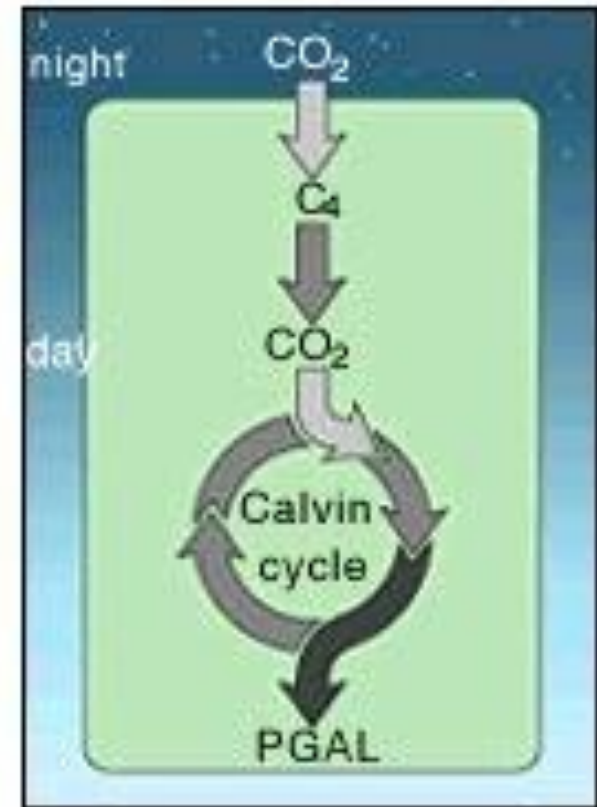
C3, C4 e CAM: un riassunto



CO₂ fixation in a C₃ plant



CO₂ fixation in a C₄ plant



CO₂ fixation in a CAM plant