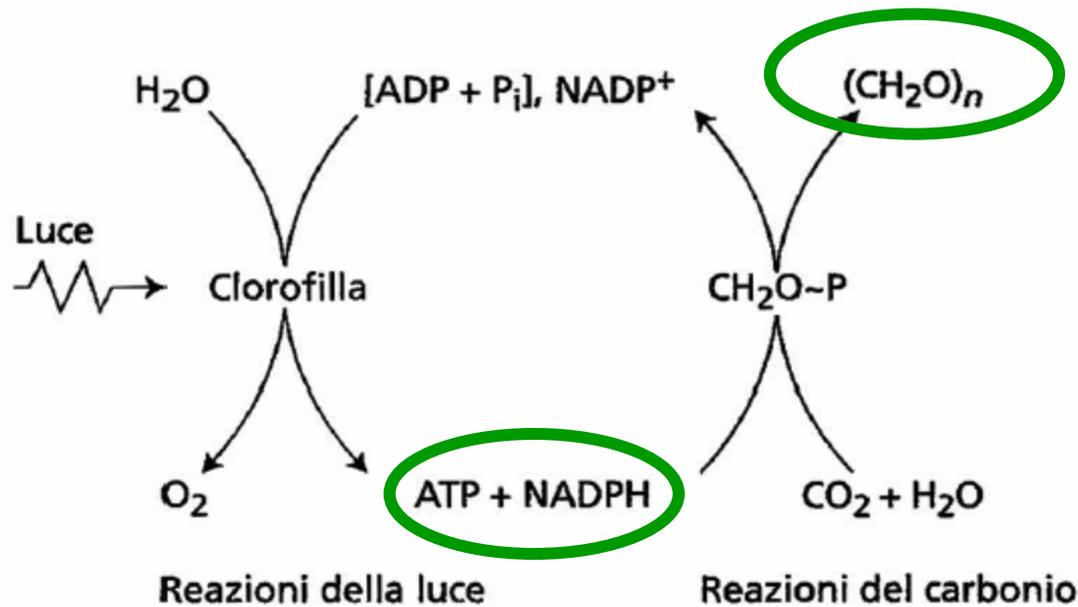


## La fase “luminosa” della fotosintesi

- **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.

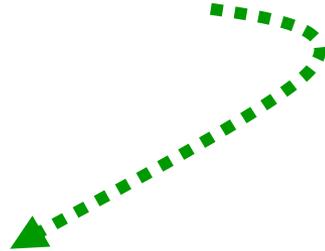


Questa reazione si realizza nello stroma del cloroplasto

Nelle reazioni della **fissazione del carbonio** , definita anche **organicazione del carbonio**: 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.**

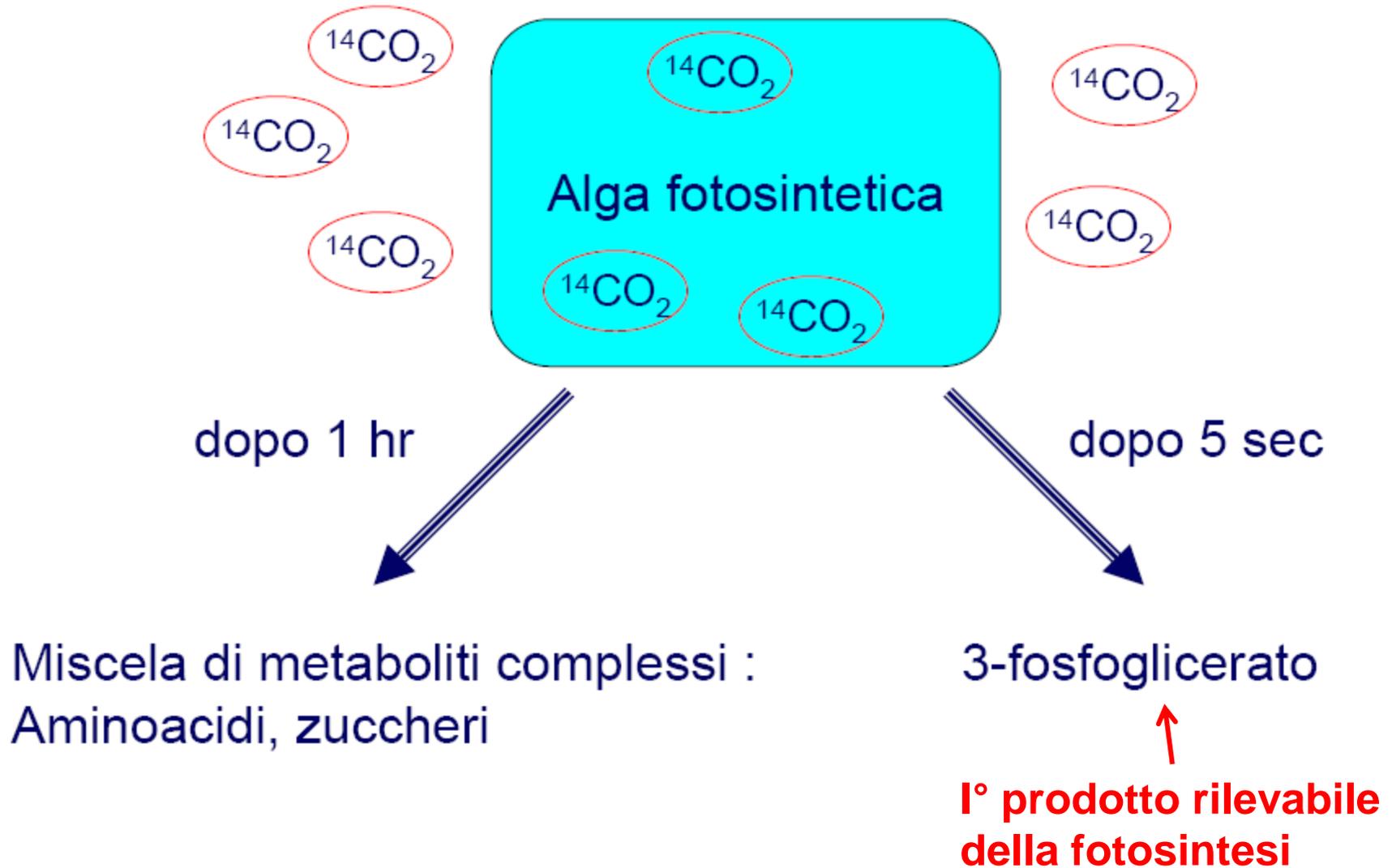
Il loro alto contenuto energetico le rende estremamente instabili, devono essere "spese" rapidamente, subito dopo essere state "guadagnate"

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

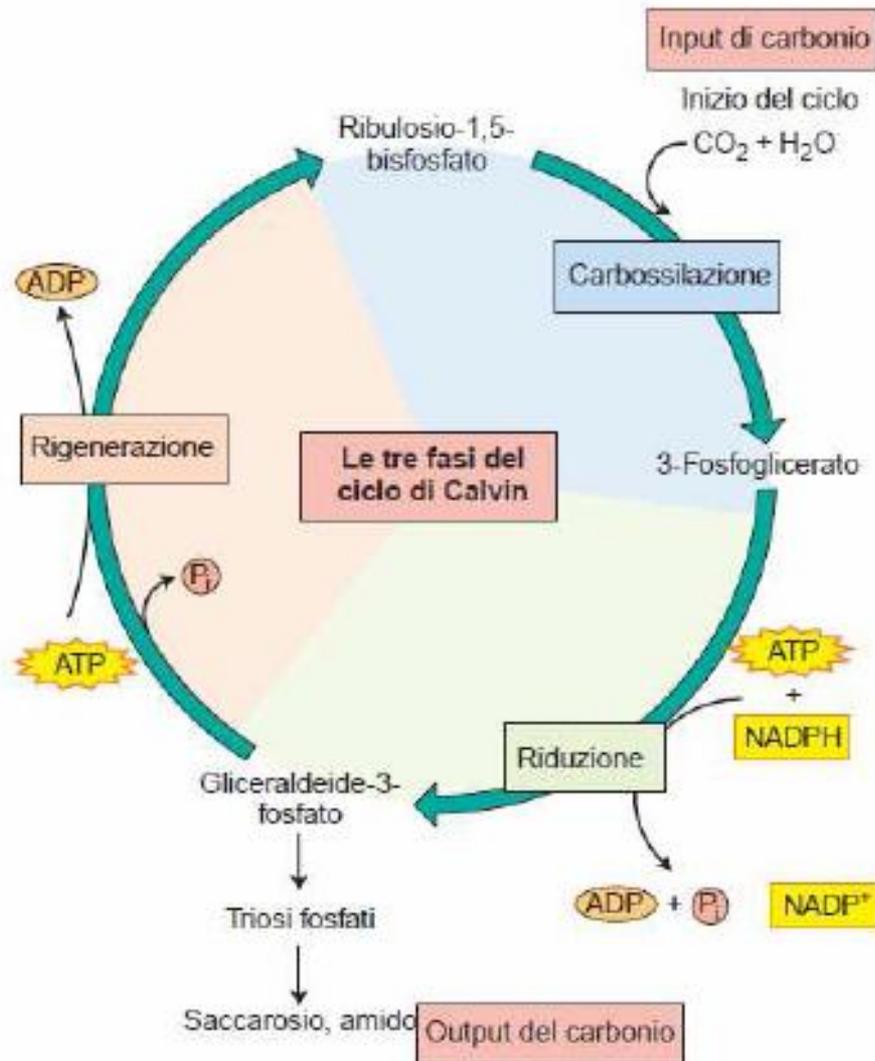
**costituiscono gli scheletri carboniosi** di base per le le molecole organiche necessarie al metabolismo

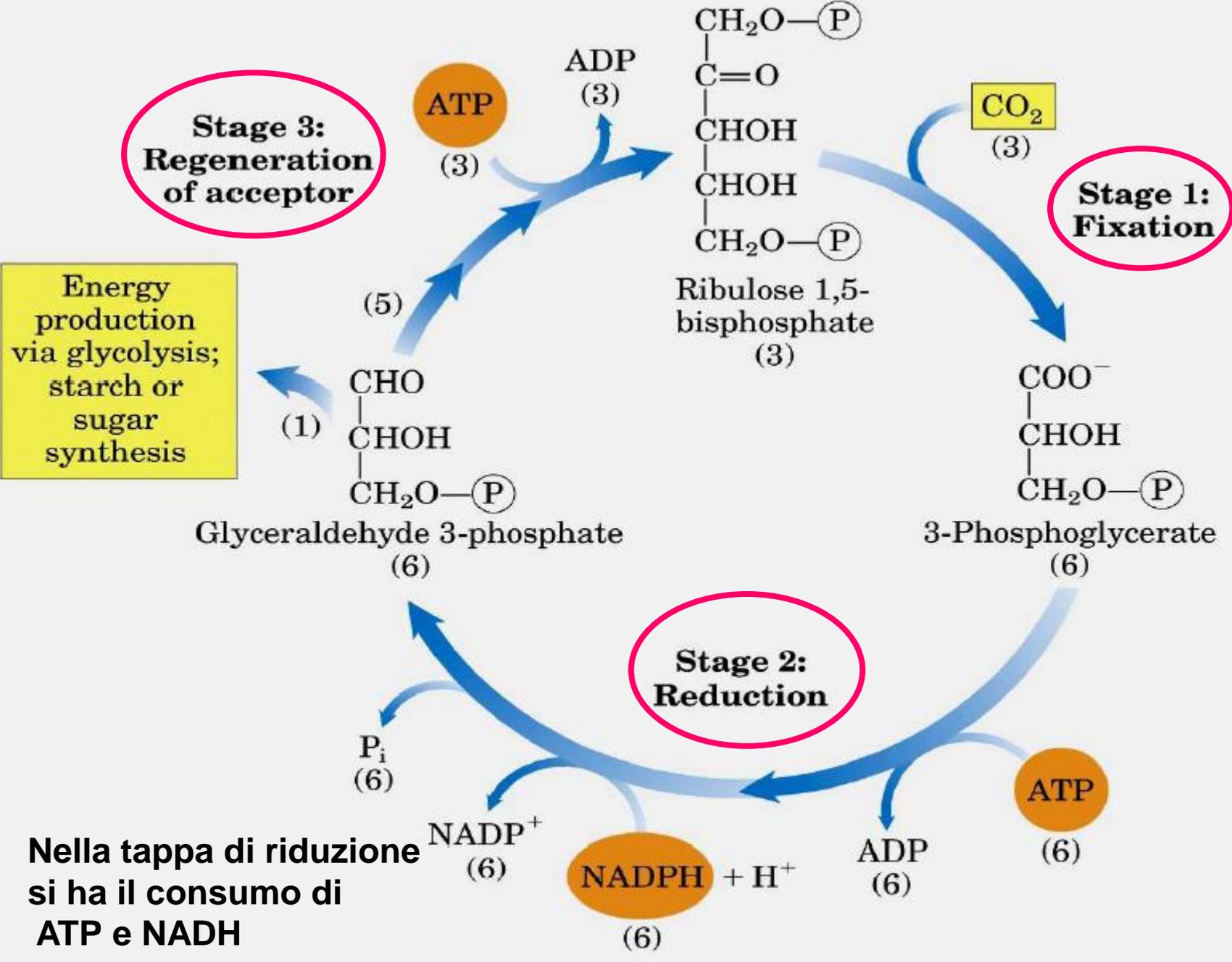
# CICLO DI CALVIN

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



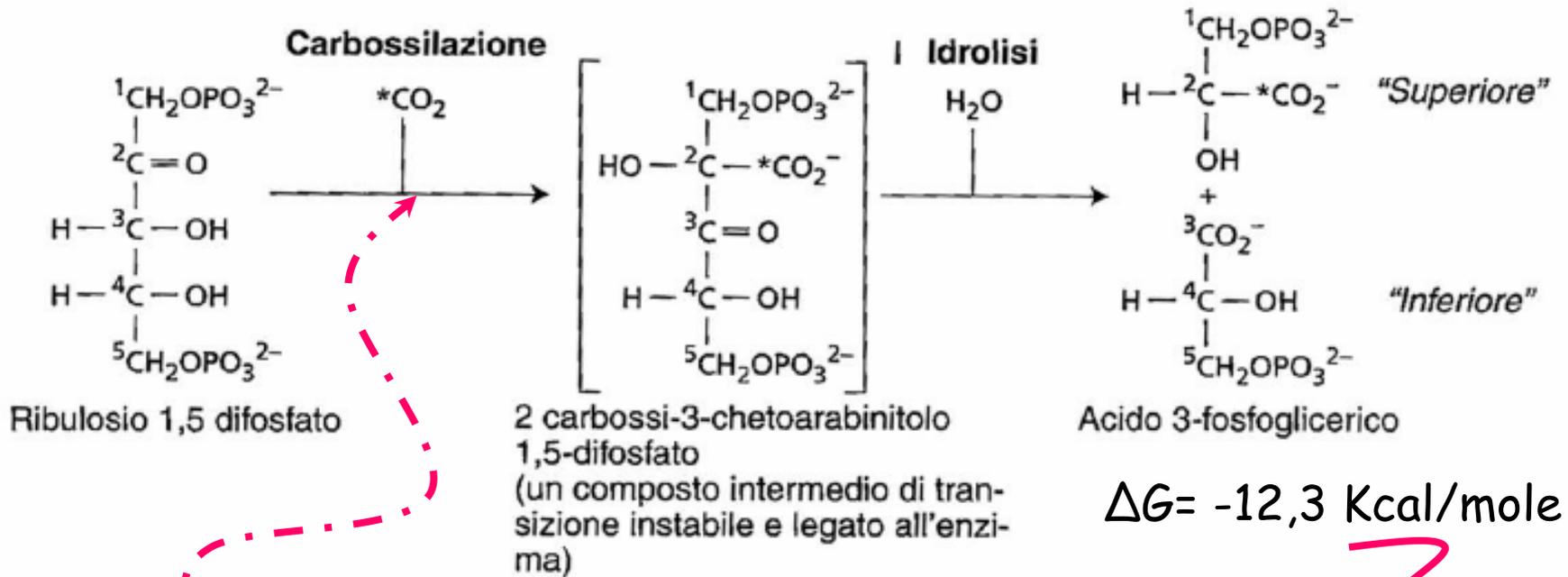
**Gli enzimi del ciclo di Calvin sono proteine solubili che si trovano nello stroma dei cloroplasti**





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

# Carbossilazione



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

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

E' favorita  
la reazione  
irreversibile

# RUBISCO

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

Le piante producono quantità enormi di questo enzima:

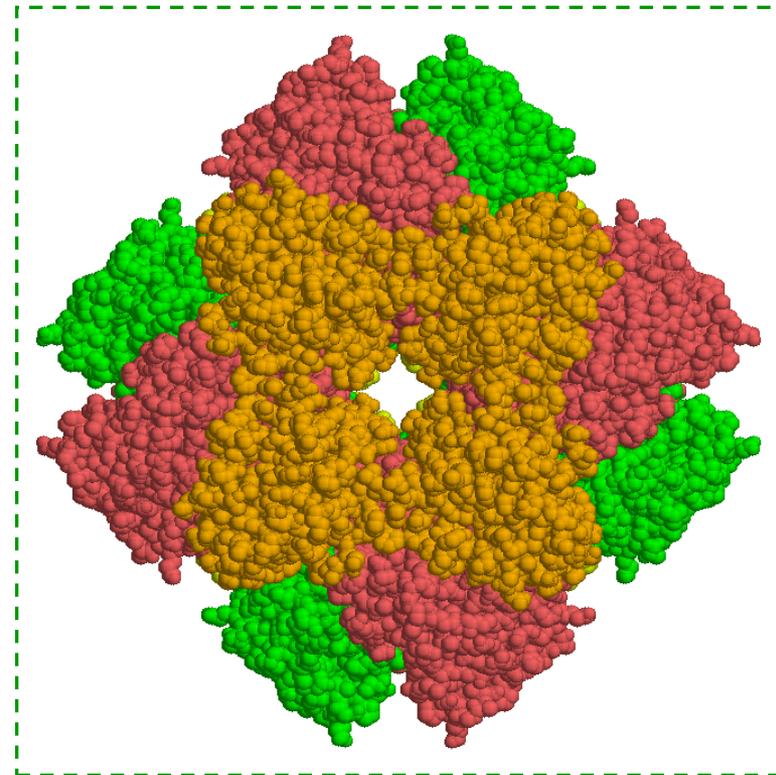
*circa il 25% di tutto il materiale proteico  
presente nei cloroplasti  
ed il 50% di quello dello stroma.*

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

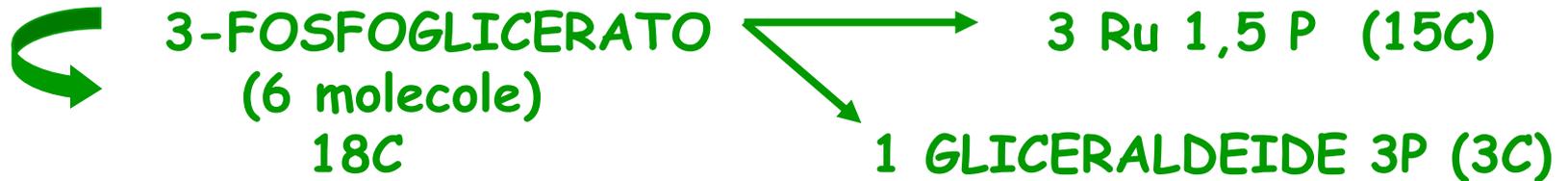
**PM= 660000:**

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

**8 subunità piccole (???) = 14000**



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

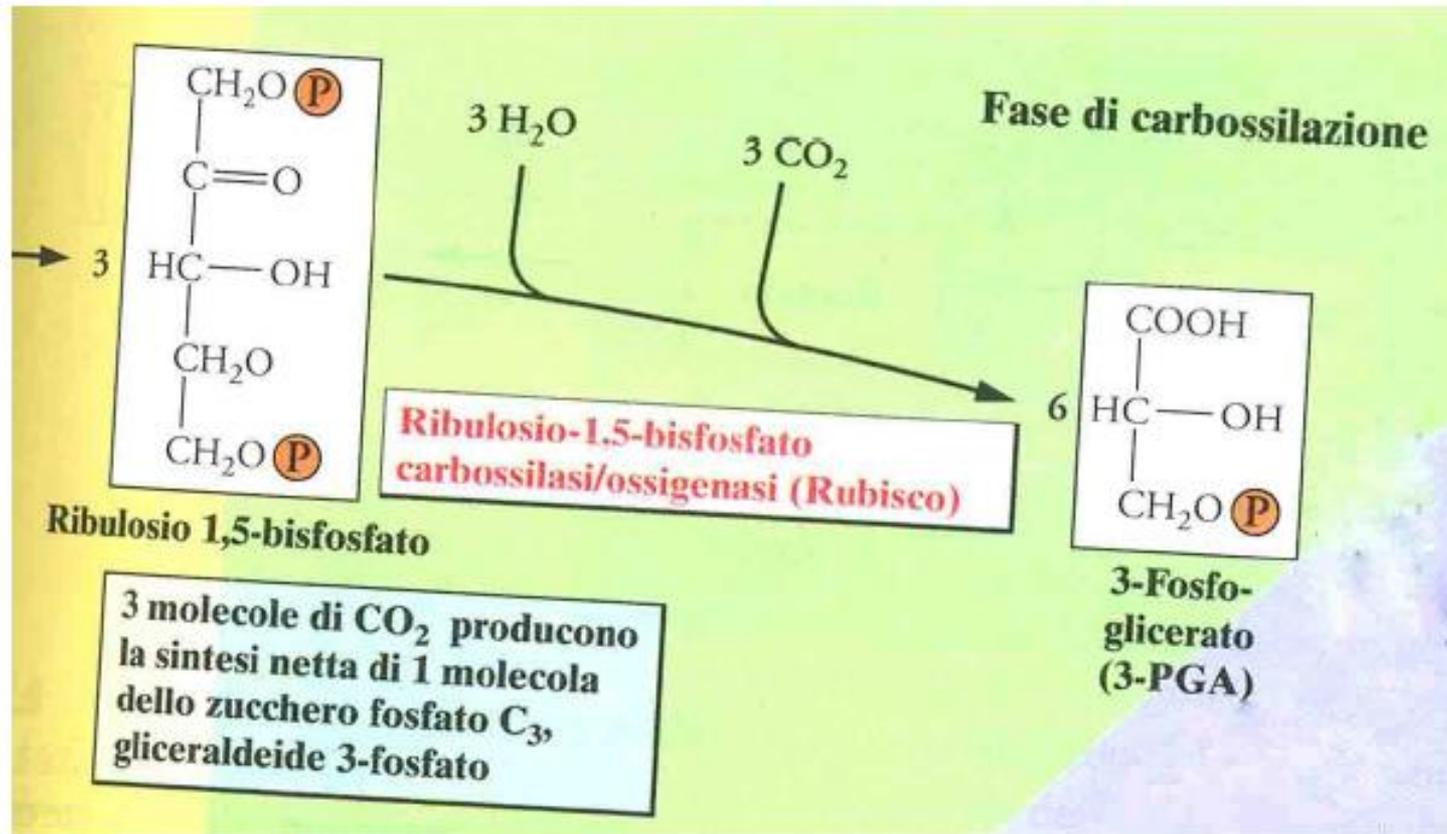
**Il Ciclo di Calvin** ha la proprietà importante di aumentare la sua velocità all'aumentare dei suoi composti intermedi

**diventa autocatalitico**

La fissazione di  $\text{CO}_2$  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*

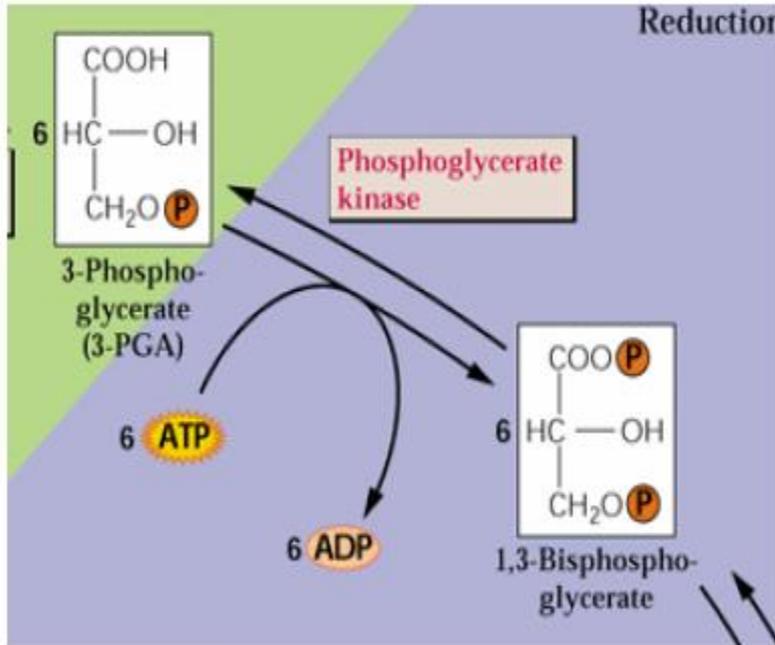
# CARBOSSILAZIONE DI 3 MOLECOLE DI CO<sub>2</sub>



vengono prodotte 6 mol di 3-PGA

**Le 6 molecole di acido 3 P Glicerico sono ridotte a Gliceraldeide 3 P (GAP) nella fase di riduzione**

## RIDUZIONE



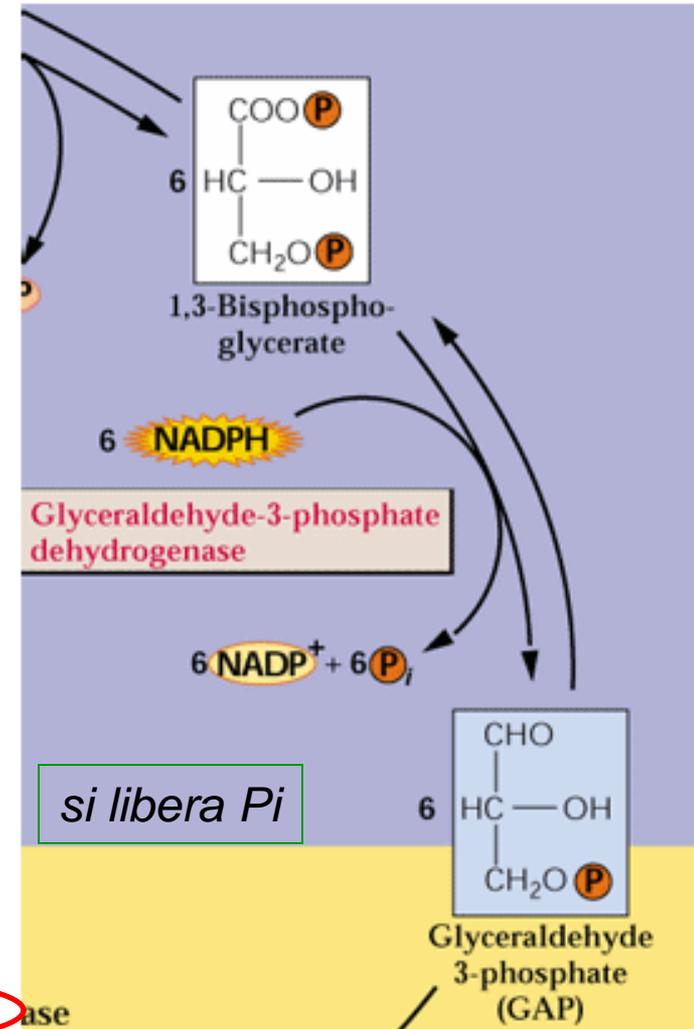
La fosfoglicerato chinasi fosforila il 3-PGA consumando ATP

$$6 \text{ mol di ATP} / 3 \text{ mol CO}_2; = 2 \text{ mol ATP} / \text{CO}_2$$

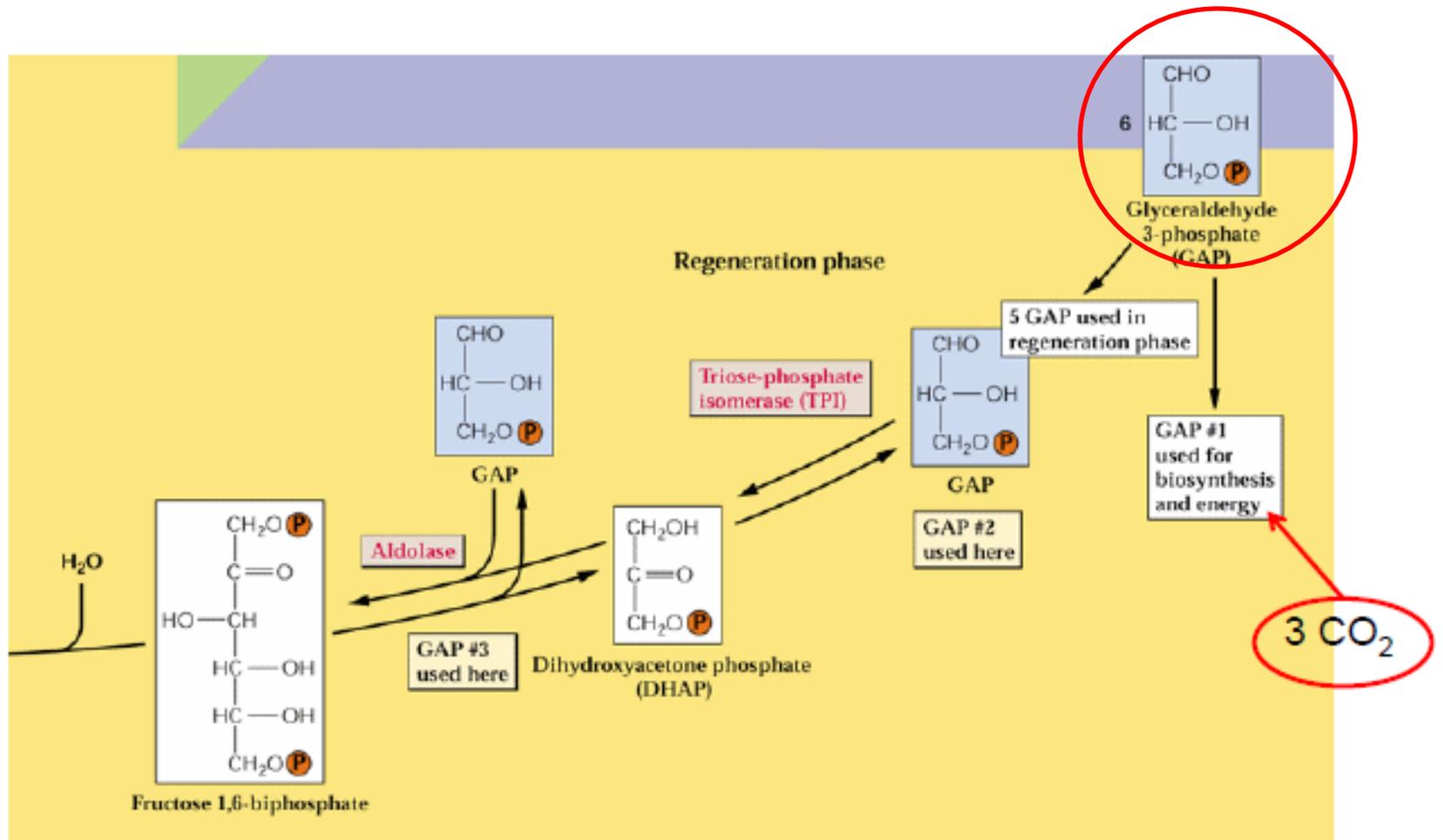
La riduzione libera 6 Pi e consuma 6 NADPH

$$6 \text{ NADPH} / 3 \text{ CO}_2; 2 \text{ NADPH} / \text{CO}_2$$

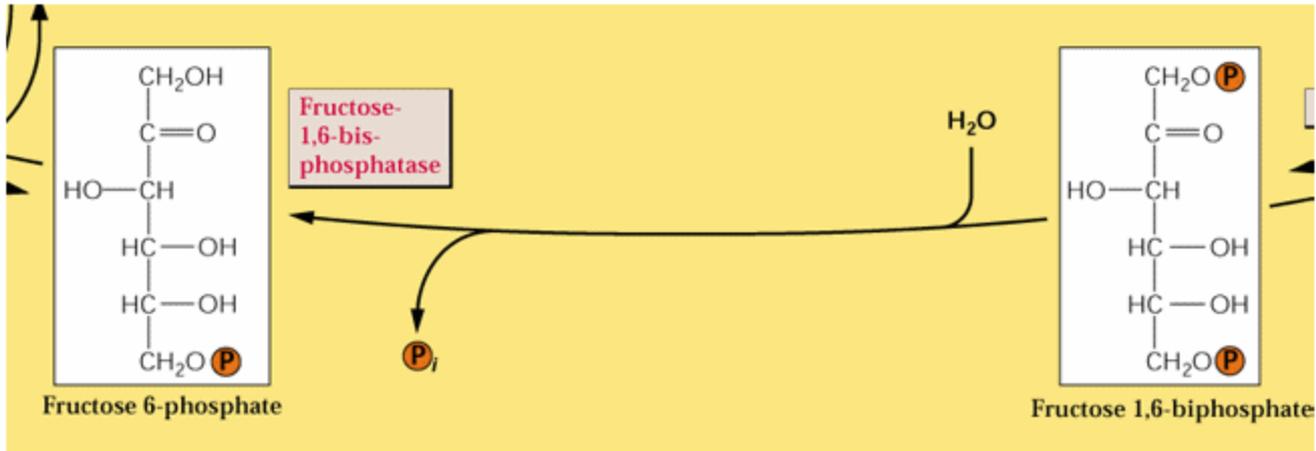
*La riduzione non è diretta  
c'è prima una fosforilazione*



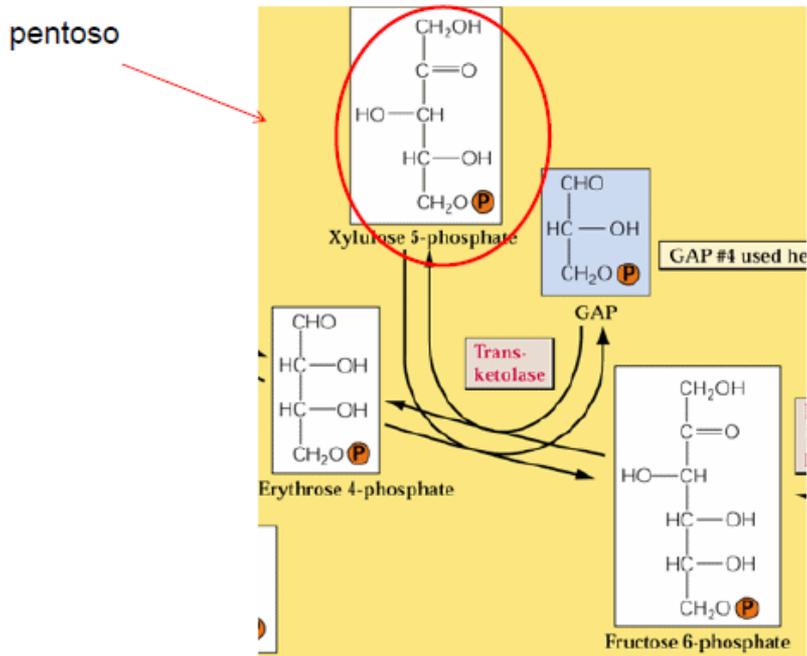
# RIGENERAZIONE



**1 mol di DA 3-P** si combina con una **terza mol di GA-3P** :  
**condensazione aldolica catalizzata dall'aldolasi**

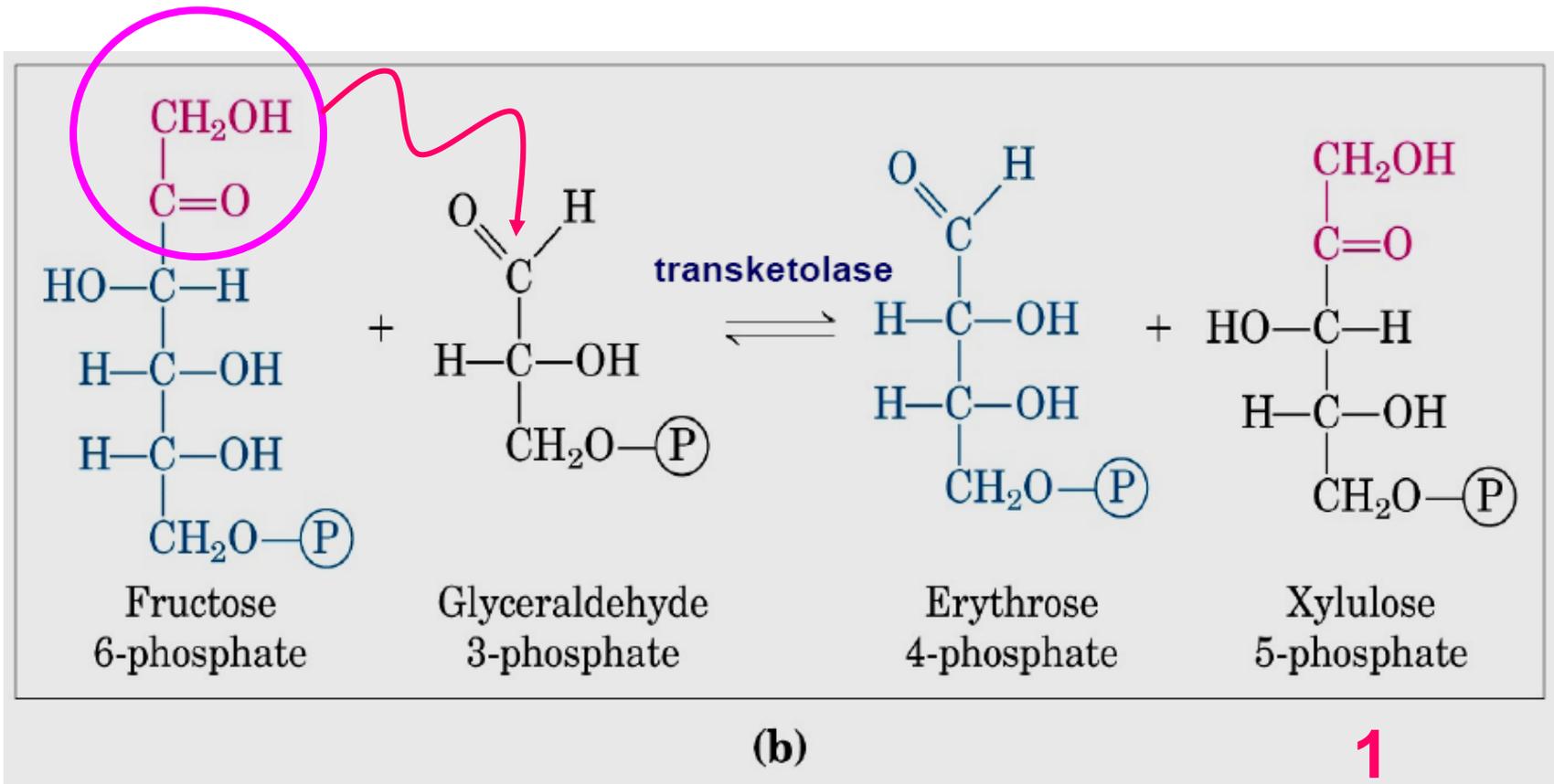


Il fruttosio 1, bisfosfato viene defosforilato: **fruttosio 1,6 bisfosfatasi**

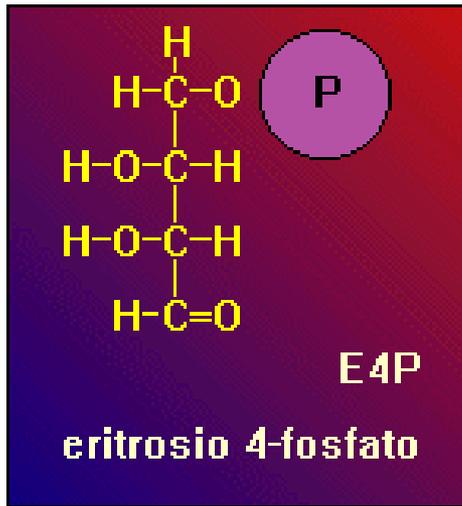


Il C1 e C2 del Fru 6 P vengono trasferiti su una 4 molecola di GAP

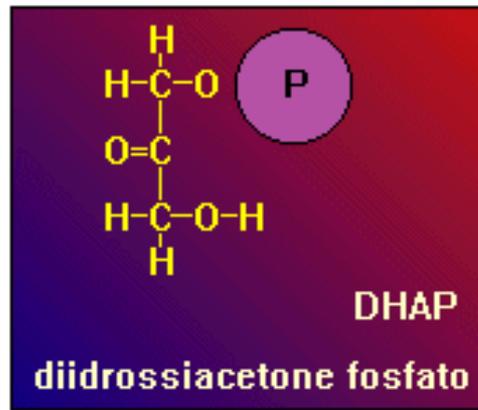
Il C1 e C2 del fruttosio 6 P vengono trasferiti ad una molecola di GAP



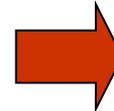
La **transchetolasi** trasferisce un gruppo a due atomi di C di un chetoso donatore al gruppo prostetico dell'enzima e poi ad un aldoso accettore.



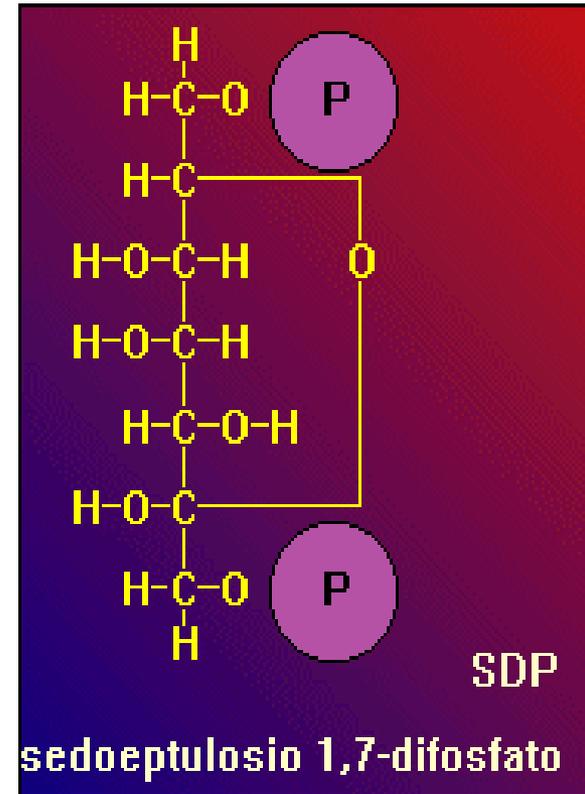
+



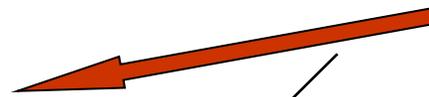
Trans aldolasi



5

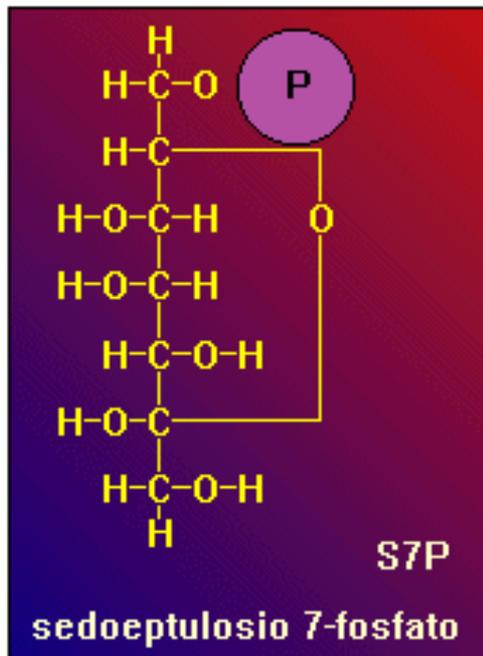


L'eritrosio si somma ad una molecola di DHAP

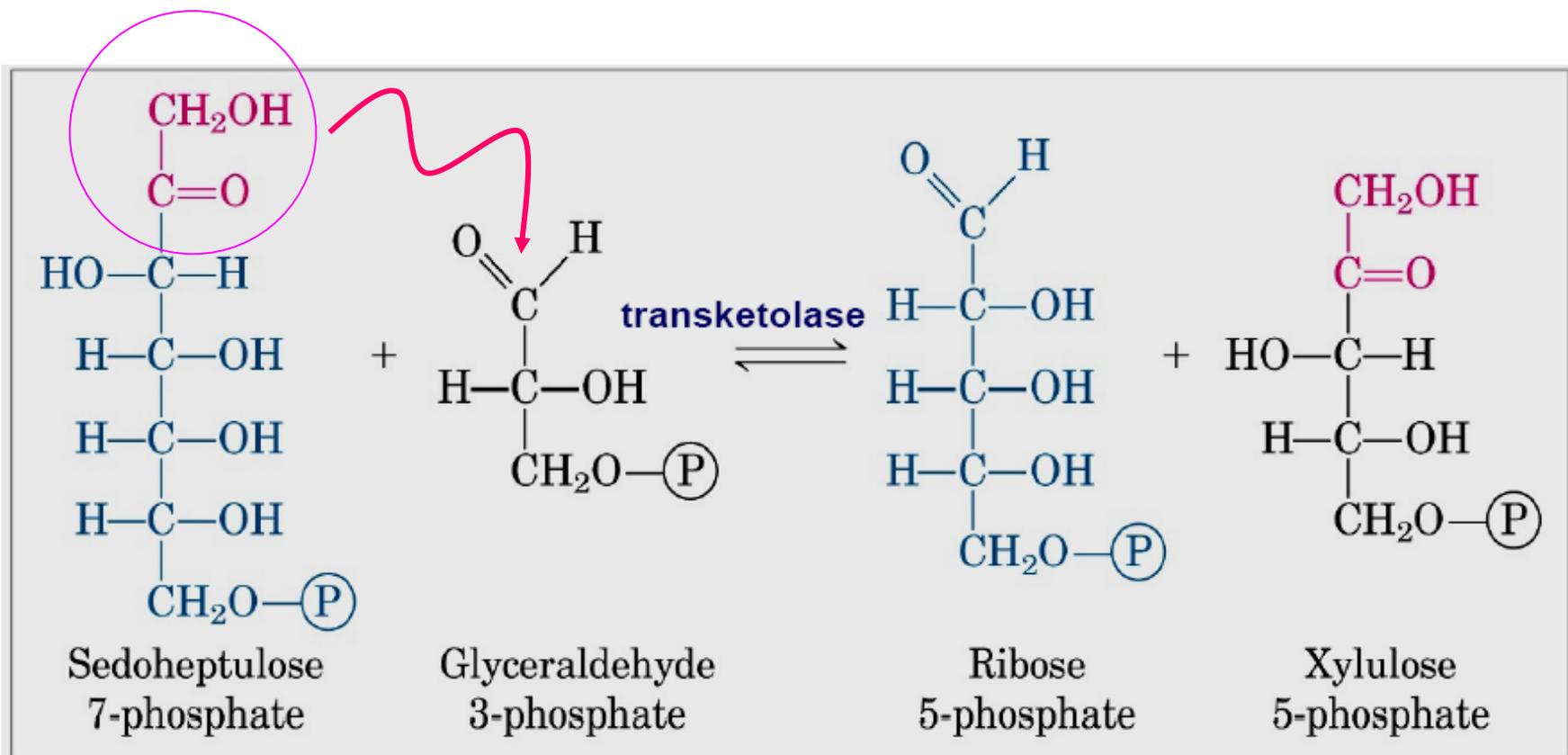


Pi

Fosfatasi



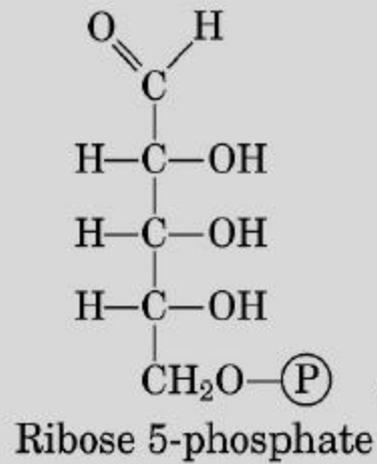
Il sedoeptulosio 1,7 P si defosforila



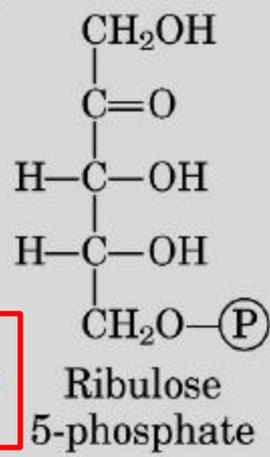
6

2

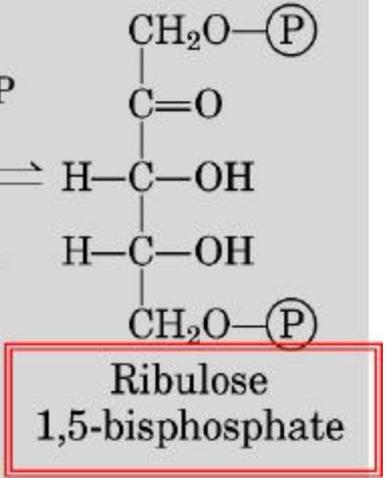
3



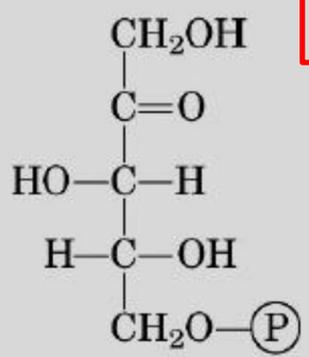
ribose  
5-phosphate  
isomerase

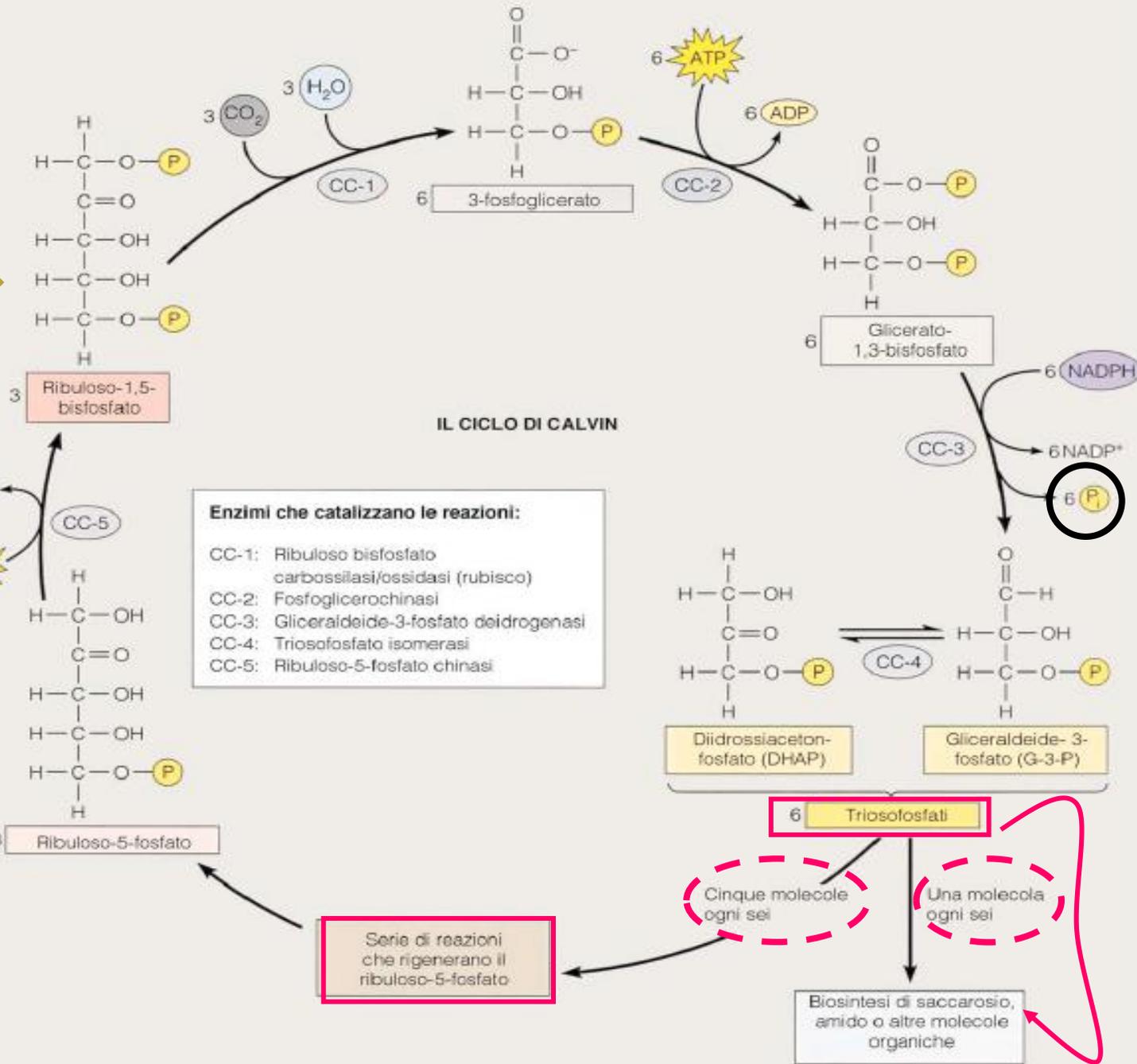


ATP → ADP  
ribulose  
5-phosphate  
kinase

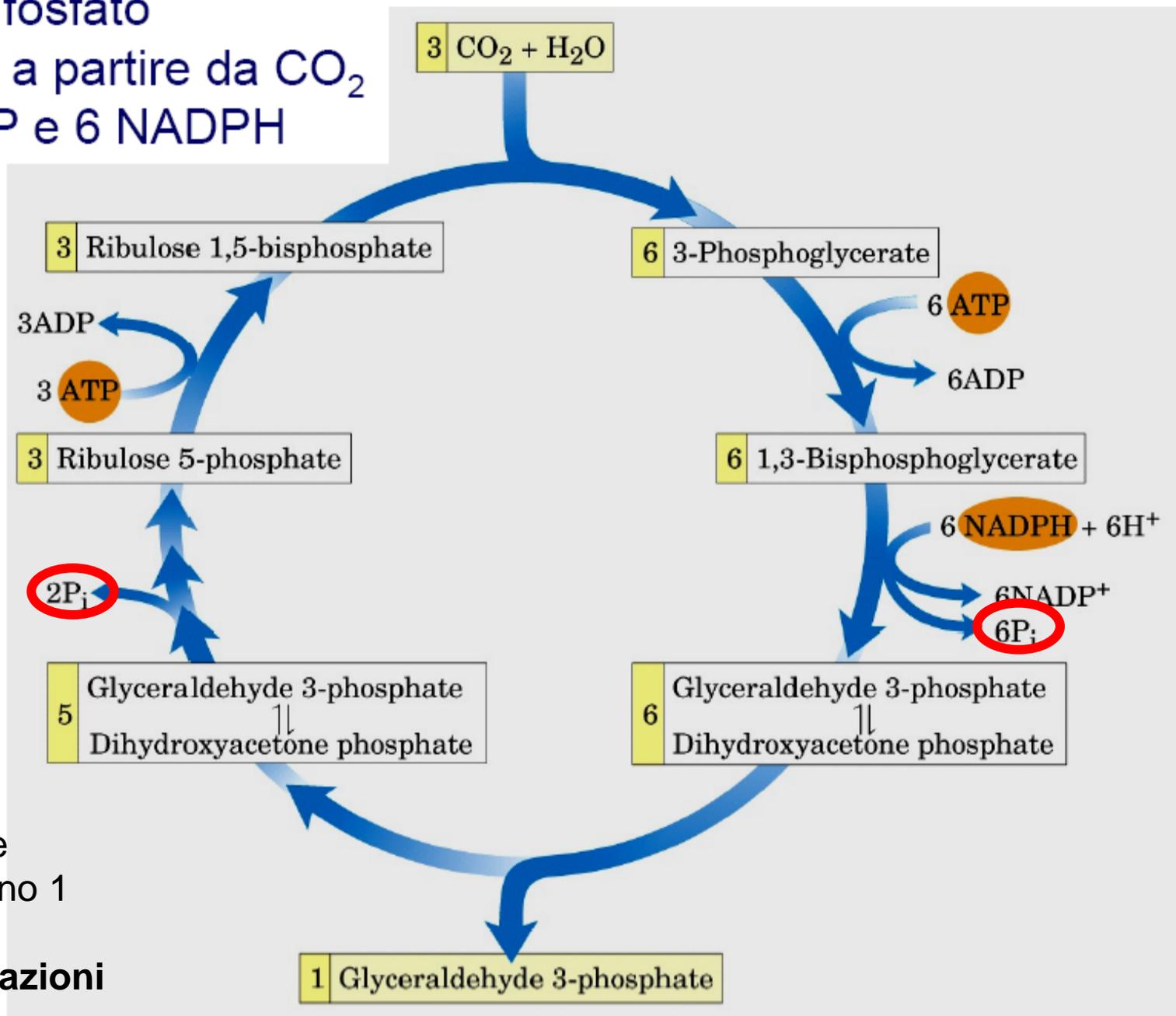


ribose  
5-phosphate  
epimerase



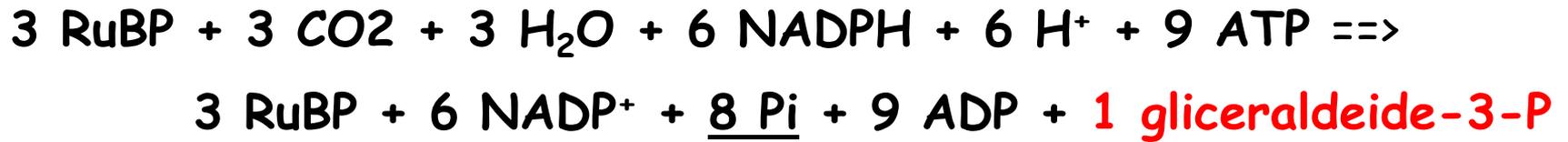


Ogni trioso fosfato sintetizzato a partire da  $\text{CO}_2$  costa 9 ATP e 6 NADPH



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.

**Consumo energetico complessivo:**

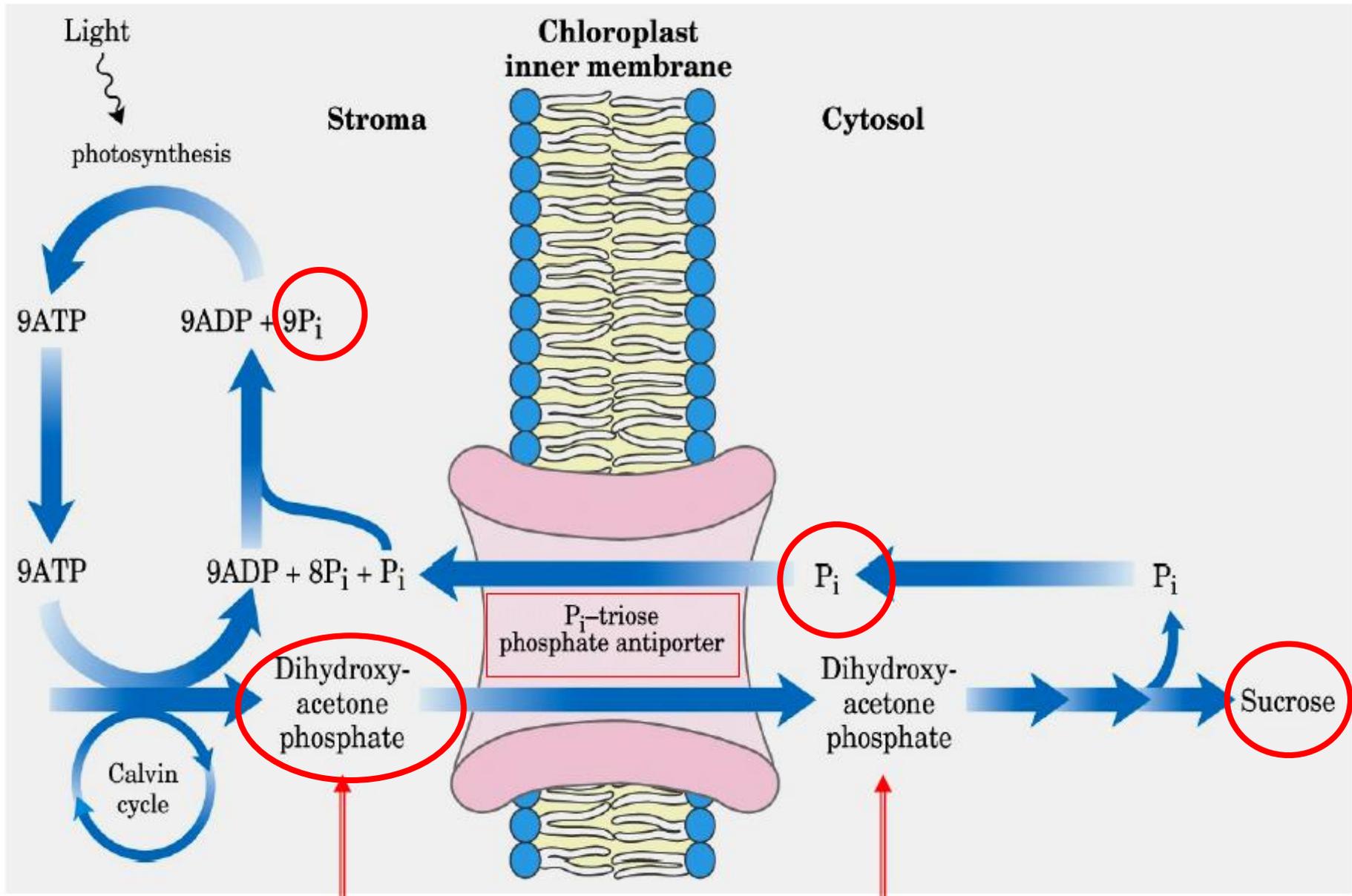
9 ATP                      9 × 7 Kcal = 63 Kcal

6 NADPH                 6 × 52 Kcal = 312 Kcal

**375 Kcal Totali**

*L'ADP, il P<sub>i</sub> e il NADP<sup>+</sup> ottenuti*

*sono di nuovo disponibili per le reazioni della fase luminosa e vengono quindi riciclati per formare nuovi ATP e NADPH.*



## REGOLAZIONE DEL CICLO DI CALVIN:

1. Rubisco;

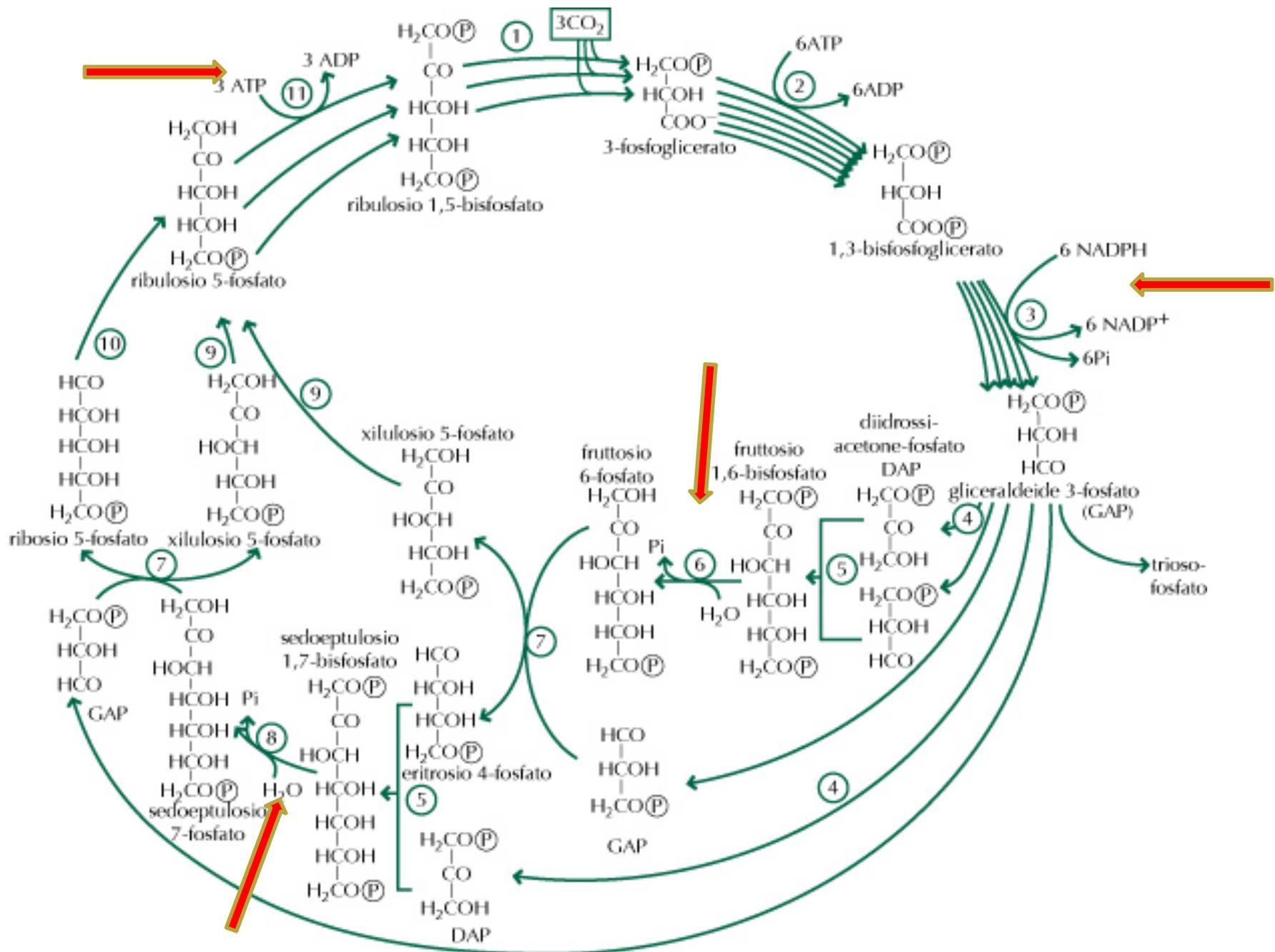
2. NADP:gligeraldeide-3-P deidrogenasi;

3. Fruttosio 1,6-bisfosfato fosfatasi;

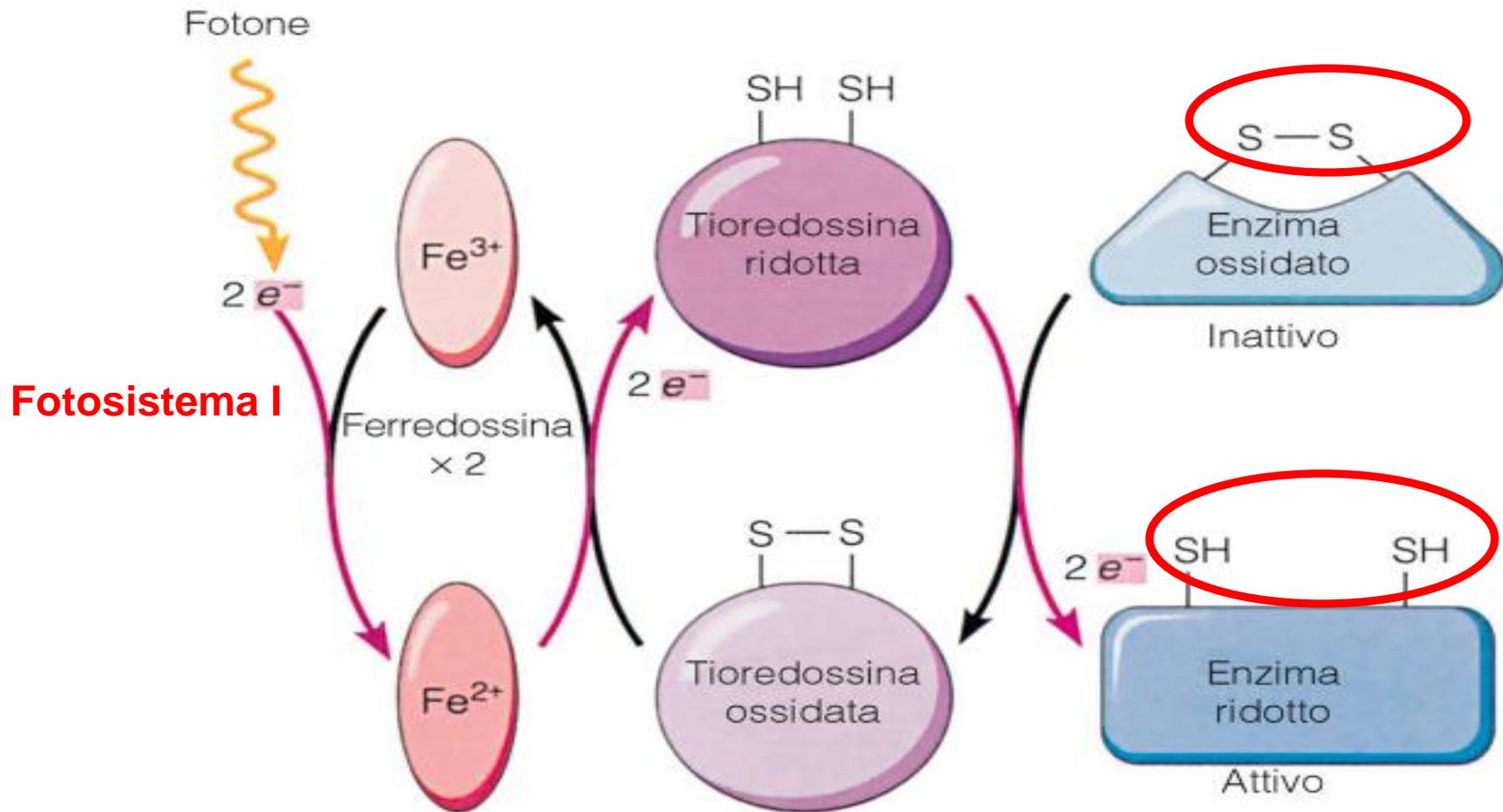
4. Sedeptuloso-1,7-bisfosfato fosfatasi;

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)



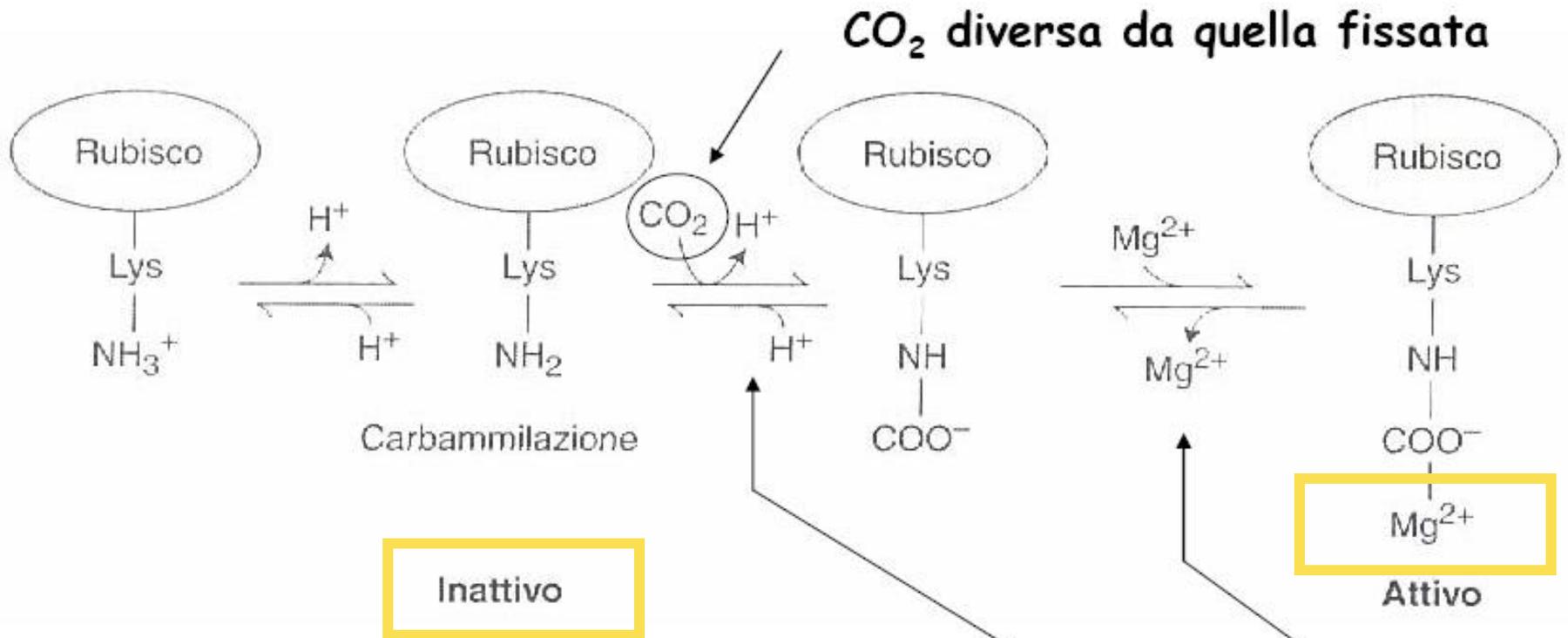
**La riduzione dei ponti disolfuro a gruppi SH determina modificazione della struttura dell'E. e aumento dell'attività enzimatica**



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

# ATTIVAZIONE DELLA RUBISCO

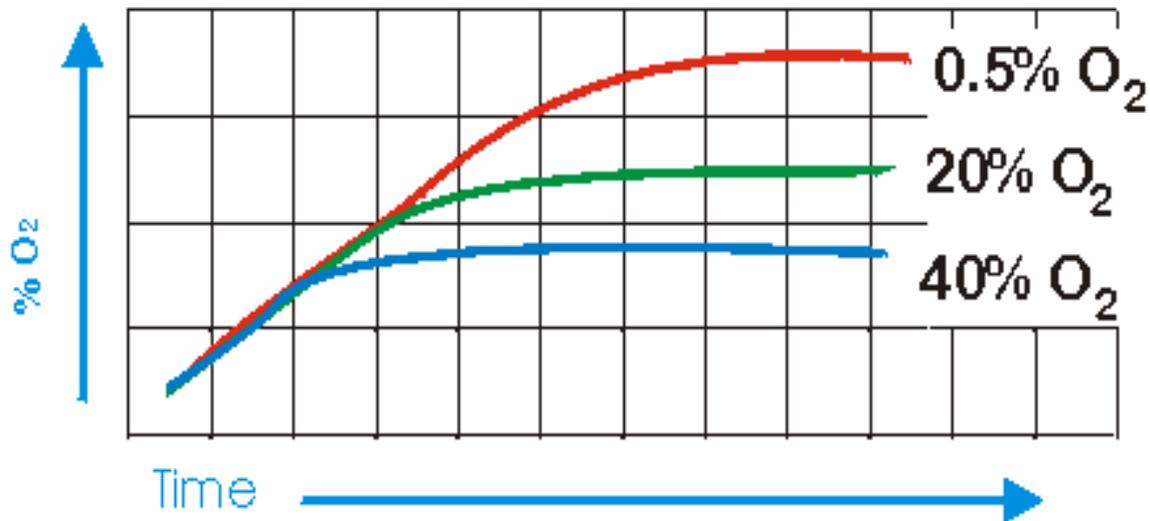
- Carbammilazione
- Presenza di  $Mg$
- pH alcalino



L'attivazione e' promossa dall'aumento del pH del  $Mg^{2+}$

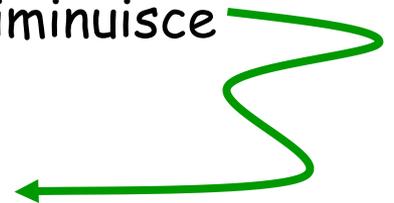
LA RUBISCO funziona anche da **OSSIGENASI** nella

## FOTORESPIRAZIONE



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

**INIBIZIONE DELLA FOTOSINTESI**



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%**

- In condizioni atmosferiche normali il rapporto

**carbossilazione/ ossigenazione è 4:1**

**Ciclo C3**

**>**

**Ciclo C2**

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

Liberazione di O<sub>2</sub>

- Il sito attivo della rubisco è incapace di discriminare tra  $O_2$  ( $K_m = 300 \mu\text{m}$ ) e  $CO_2$  ( $K_m = 10 \mu\text{m}$ )

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

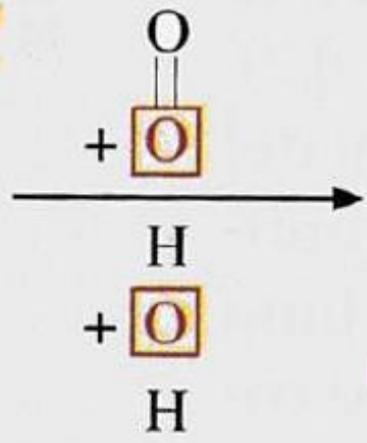
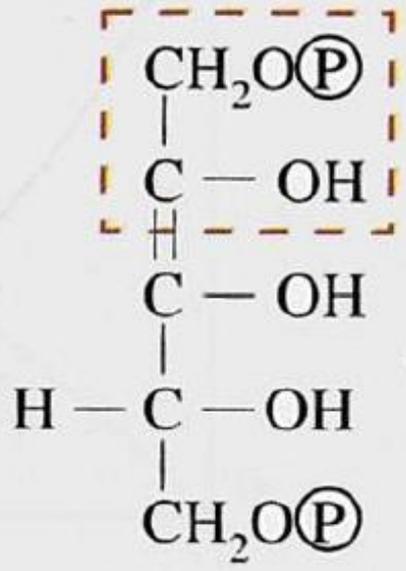
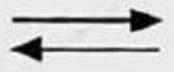
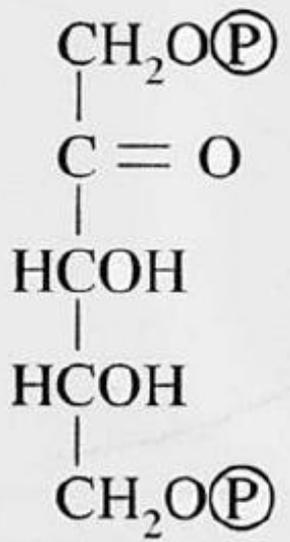
livelli attuali



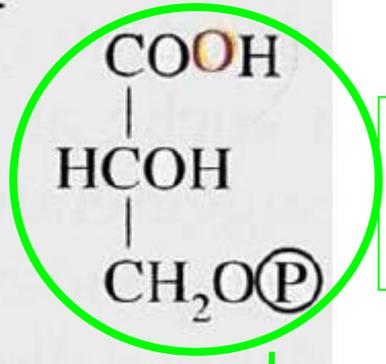
**Le piante si sono adattate  
aumentando la quantità di rubisco**

- 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





## La fotorespirazione :

- *non provoca la fissazione di  $\text{CO}_2$  : circa  $1/3$  di RuBP è utilizzato senza fissare  $\text{CO}_2$ .*
- **Non viene conservata energia**, al contrario, il ciclo è molto più costoso energeticamente

*il recupero degli atomi di C dal fosfoglicolato richiede energia rispetto alla fissazione del carbonio*

Nel **CICLO DI CALVIN** : **3 ATP e 2 NADPH** per **1  $\text{CO}_2$**

Nella **FOTORESPIRAZIONE** La spesa energetica è + del doppio per **1  $\text{CO}_2$  prodotta** **6,8 ATP e 7 NADPH**

*considerando il costo energetico per il riciclo della  $\text{CO}_2$  nel Ciclo C3 e la spesa per la riassimilazione della  $\text{NH}_3$*

**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  $CO_2$**

  $A(CO_2) < 50 \text{ ppm}$   $\longrightarrow$  **Senescenza della foglia**

**Fotossidazione**

per il mantenimento del ciclo C2

**degli zuccheri di riserva**

(attività ossigenasica della Rubisco)

## FOTORESPIRAZIONE



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

## SIGNIFICATO DELLA FOTORESPIRAZIONE

**Attraverso il ciclo C2 (del Fosfoglicolato) la pianta :**

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

**•La fotorespirazione, consumando  $O_2$  dissipando energia e potere riducente**



**previene la fotoinibizione dell'apparato fotosintetico**

**In situazioni di stress:** riduzione della conc di  $CO_2$  (stress idrico)

**l'en luminosa  $\longrightarrow$  riduzione dell' $O_2$  e formazione di specie radicaliche(ROS)**

# FOTOINIBIZIONE

Se lo stato eccitato della Chl non viene estinto, si può formare  $^3\text{Chl}^*$

che può reagire con l' $\text{O}_2$  formando  $^1\text{O}_2^*$

$\text{Chl} + h\nu \rightarrow \text{Chl}^*$  (clorofilla nello stato eccitato di singoletto – situazione normale)

$\text{Chl}^* \rightarrow ^3\text{Chl}$  (clorofilla nello stato di tripletto – prodotta quando non ci sono molecole accettrici per l'energia derivante dalle molecole di clorofilla energizzate)

$^3\text{Chl} + \text{O}_2 \rightarrow ^1\text{O}_2 + \text{Chl}$  (Il radicale idrossile  $^1\text{O}_2$  è estremamente reattivo e danneggia la clorofilla ("chlorophyll bleaching"), le membrane lipidiche e le proteine dei fotosistemi).

$^1\text{O}_2^*$  **danneggia i lipidi di membrana**

**I carotenoidi sono in grado di  
estinguere lo stato eccitato  
della Chl**

Nei cloroplasti, i carotenoidi svolgono l'importante ruolo di pigmenti accessori nella cattura dell'energia luminosa, ma forse il loro ruolo più importante consiste nella loro abilità a detossificare le varie forme attivate dell'ossigeno e lo stato tripletto della clorofilla che sono prodotti durante l'eccitazione dei componenti del trasporto elettronico alla luce

Si pensa che il principale ruolo protettivo del beta-carotene nei tessuti fotosintetici sia connesso all'abbattimento diretto dello stato tripletto della clorofilla:



**ESTINZIONE NON  
FOTOCHEMICA**

*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

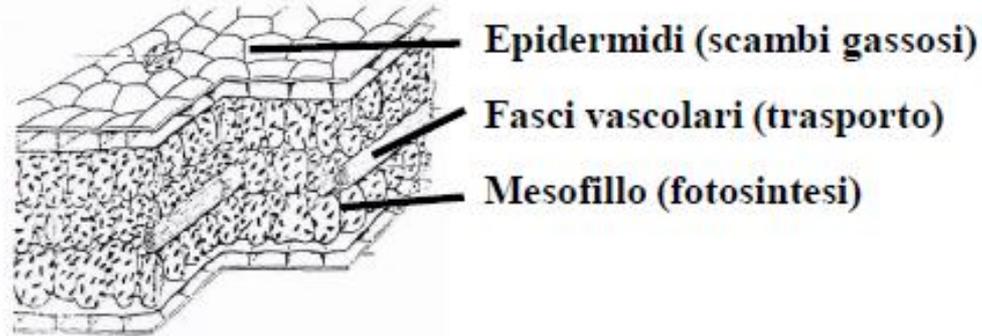
- Piante **originarie dei tropici** (grano, canna da zucchero, sorgo, mais)
- Le C4 appartengono a **specie filogeneticamente non correlate**.  
Anche alcune alghe, come *Anacystis nidulans*, e alcuni dinoflagellati hanno un metabolismo C4.
- Crescono in **condizioni di illuminazione intensa e temperature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



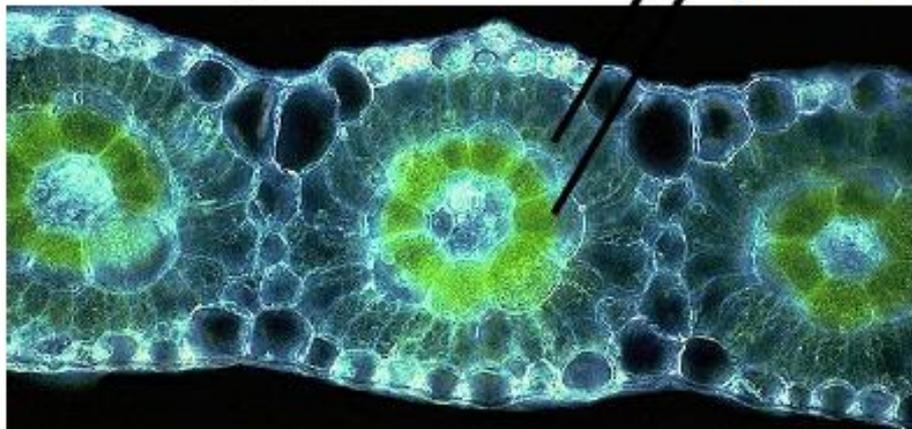
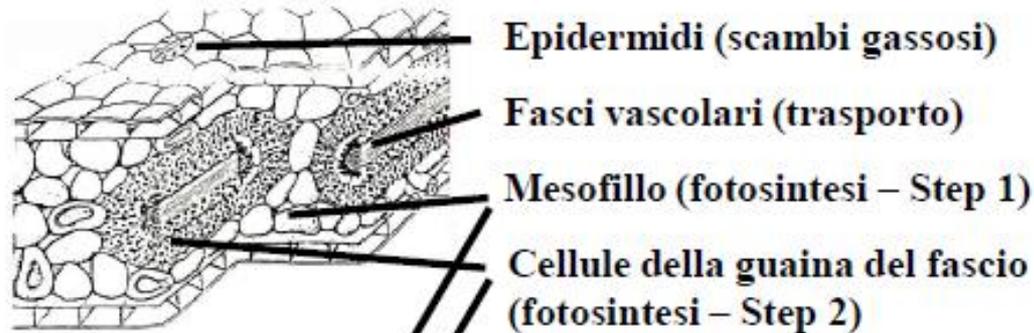
**morfologia fogliare diversa**

# Caratteristiche anatomiche e citologiche delle foglie C4

**Foglia C3  
(Fotosintesi normale)**



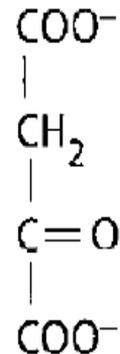
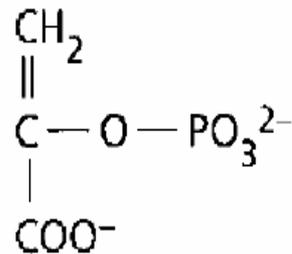
**Foglia con  
metabolismo C4**



**Anatomia Kranz**

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

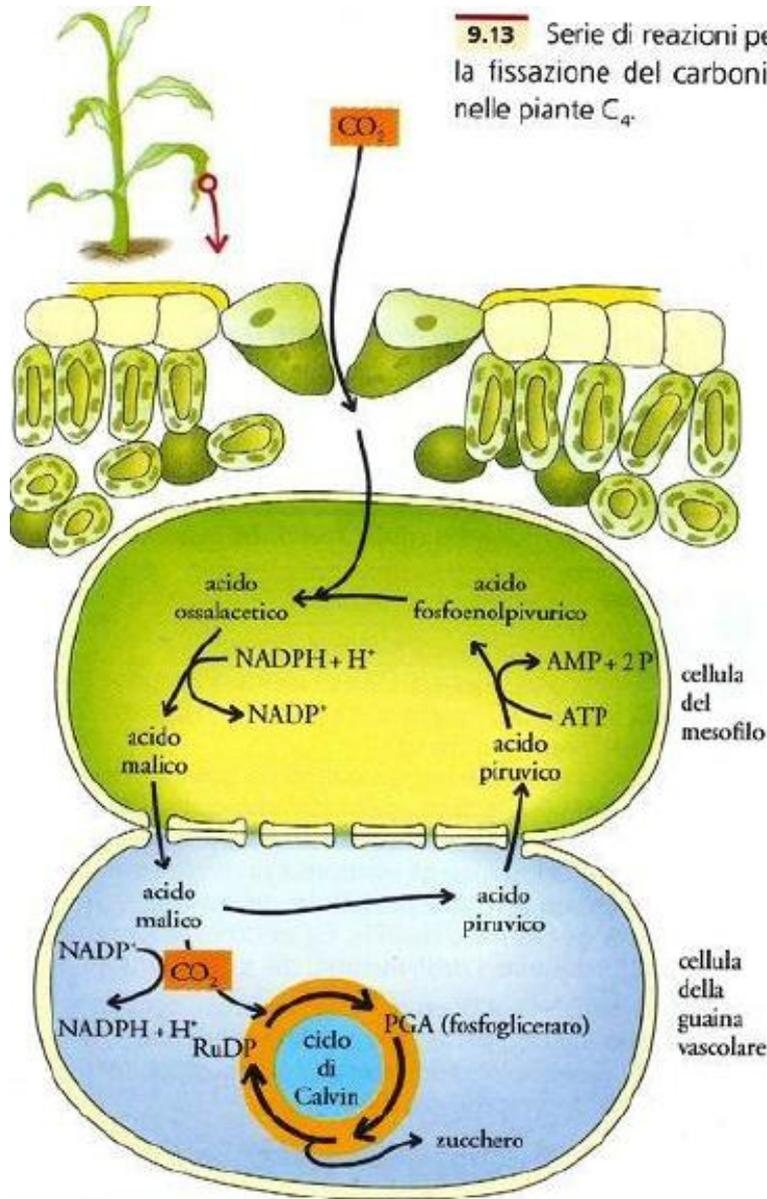
L'enzima carbossilante e' la **fosfoenolpiruvato carbossilasi**.



**PEP**

**OAA**

**9.13** Serie di reazioni per la fissazione del carbonio nelle piante  $C_4$ .



## Fotosintesi $C_4$

1. Carbossilazione dell'accettore PEP (C3) nel citoplasma delle cellule del mesofillo e formazione dell'ossalacetato (C4).
2. Trasferimento della  $CO_2$  organicata alle cellule della guaina del fascio sotto forma di malato (C4) attraverso i plasmodesmi
3. Decarbossilazione del malato nella cellula della guaina del fascio e ingresso della  $CO_2$  nei cloroplasti (ciclo di Calvin-Benson)
4. Trasporto e rigenerazione dell'accettore nelle cellule del mesofillo

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

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

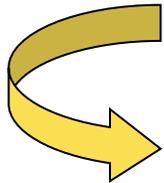
## Vantaggi

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

# 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

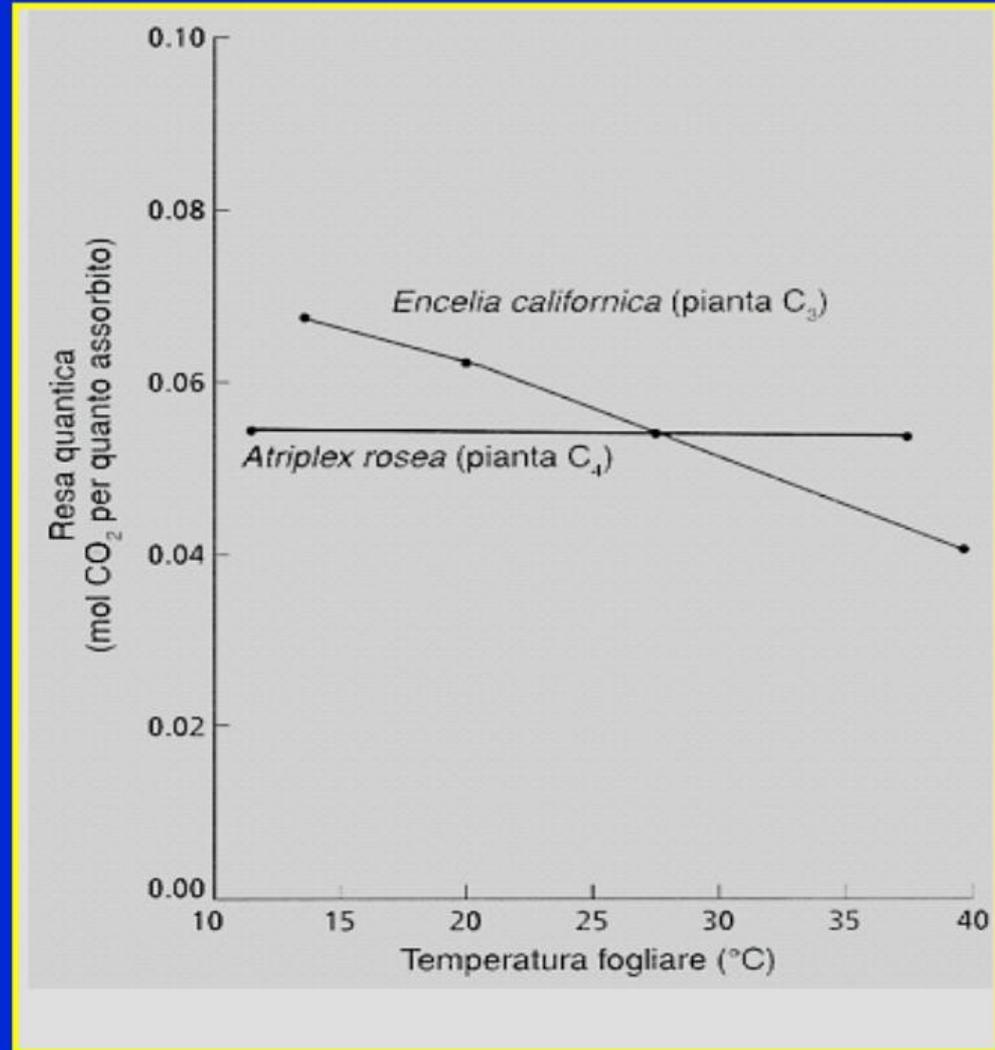
***5 ATP (contro i 3 ATP del C3)***

- 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

Nelle **regioni temperate** l'intensità luminosa è minore rispetto alle regioni tropicali: **vantaggio per le piante C3** rispetto alle C4

In queste condizioni le piante C3 hanno ridotta fotorespirazione e non necessitano di energia aggiuntiva per la fissazione della  $\text{CO}_2$  (Ehrlicher, 1978).  
Quindi **a bassa fotorespirazione C4 è meno efficiente**



# 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,

- C4 è il metabolismo più efficiente in condizioni di:
  - alta temperature
  - alte intensità luminosa

# 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 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

## Metabolismo Acido delle Crassulacee

- Le piante CAM vivono in ambienti ad elevata aridità
- 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.
- E' stato identificato in più di 1000 angiosperme di 17 famiglie.
- Al contrario delle altre piante, aprono i loro stomi solo durante la notte.
  - Le piante CAM hanno quindi un ciclo C4 separato nel tempo



***agave***



***ananas***

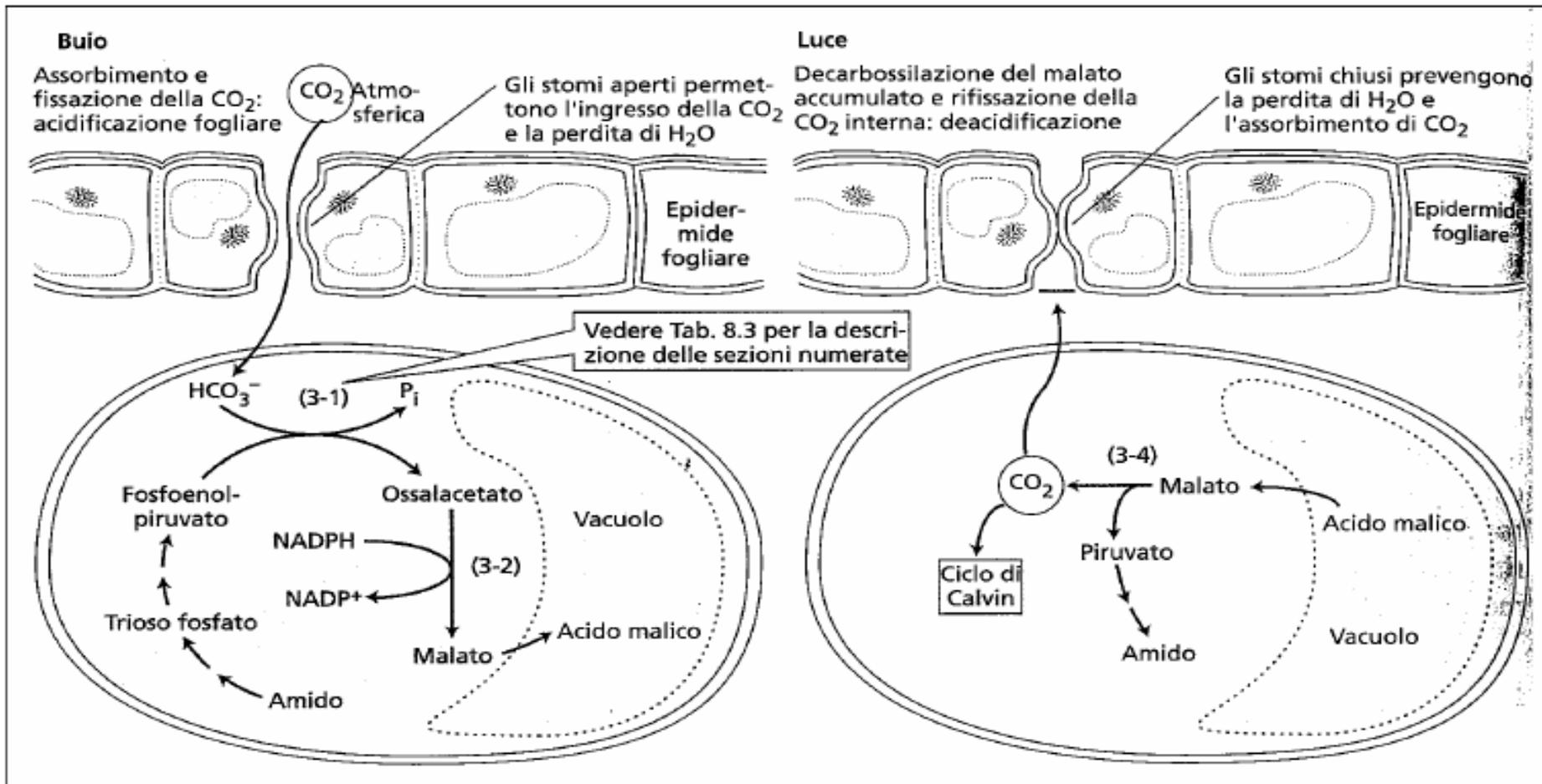


***vaniglia***

***non è limitato alle  
Crassulacee***



***orchidea***



- Come le piante C<sub>4</sub>, 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.

# RIDOTTA PERDITA H<sub>2</sub>O

**C3**

**500 g H<sub>2</sub>O / g CO<sub>2</sub> fissata**

**C4**

**400 g H<sub>2</sub>O / g CO<sub>2</sub> fissata**

**CAM**

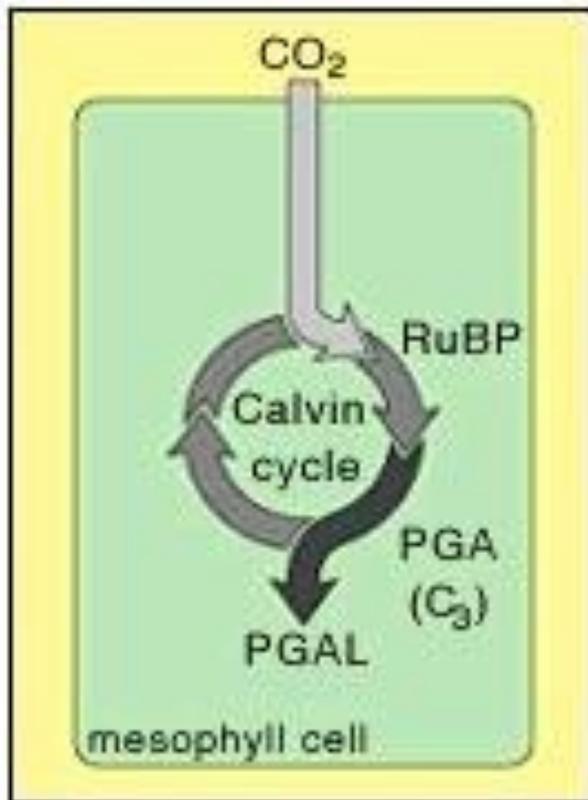
**100 g H<sub>2</sub>O / g CO<sub>2</sub> fissata**

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

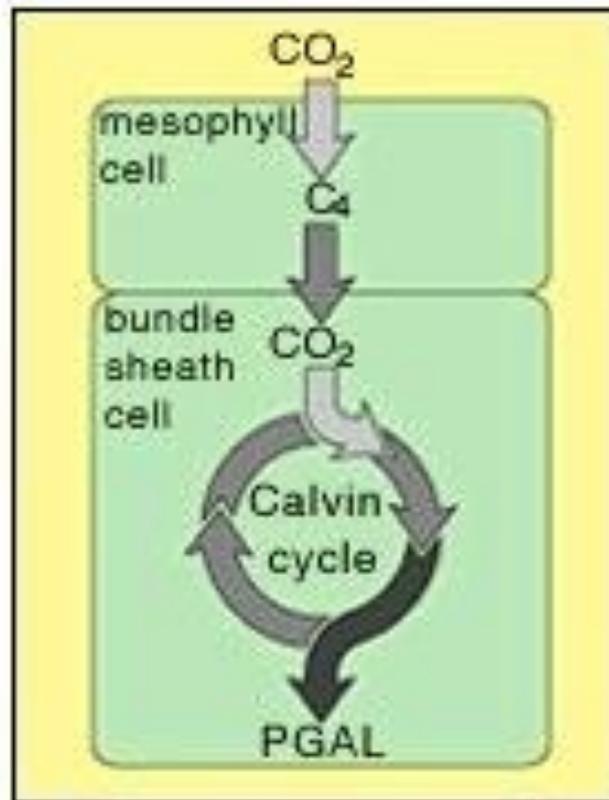
Un'eccezione è la dicotiledone succulenta C4 *Portulaca oleracea*, capace di scegliere la migliore via biosintetica ( C4 o CAM) a seconda delle condizioni ambientali.



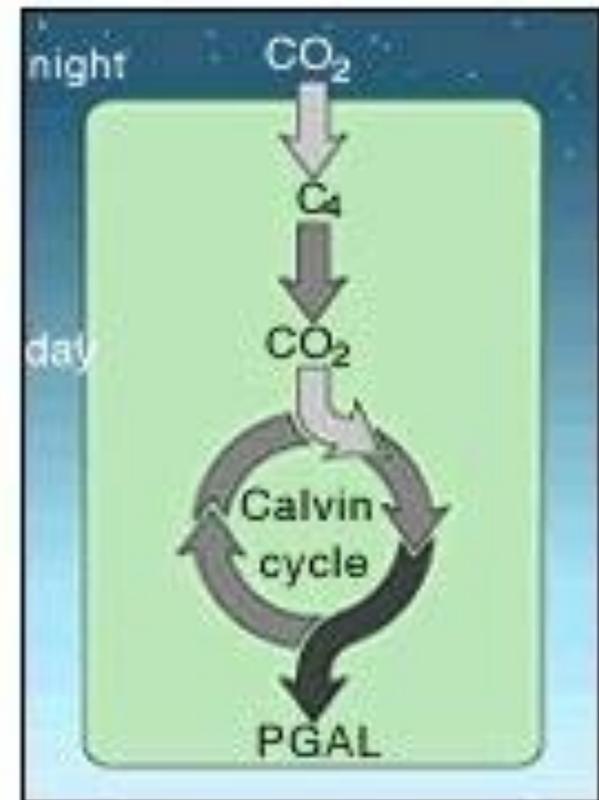
# C3, C4 e CAM: un riassunto



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