

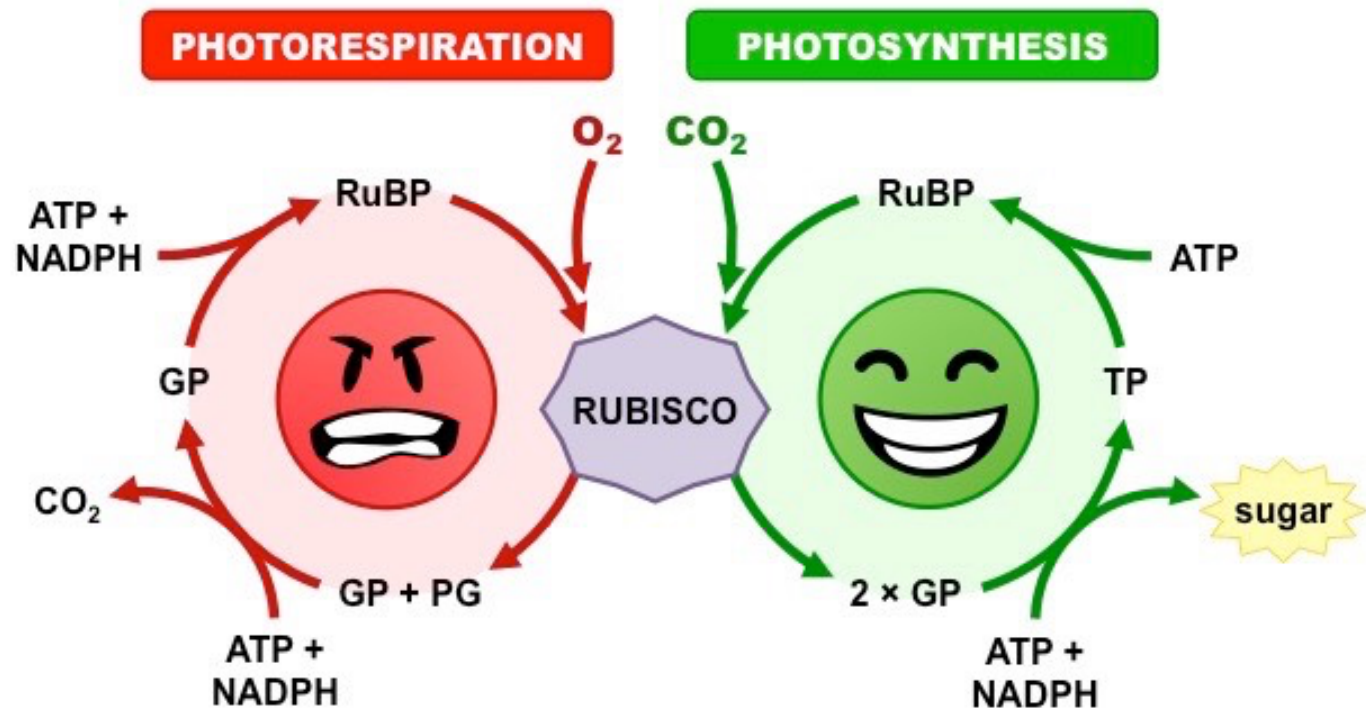


# FOTOSINTESI



# Fotosintesi C3, C4 e CAM







La estrema variabilità delle condizioni ambientali sul pianeta ha spinto le piante ad adattarsi per prosperare in ambienti diversi, sviluppando adattamenti che incrementassero l'efficienza fotosintetica anche in condizioni ove la fotorespirazione renderebbe la strategia C3 limitante, o addirittura inadatta alla sopravvivenza. Per questo si sono evoluti dei metabolismi aggiuntivi al classico ciclo **C3**, denominati **C4** e **CAM**.

La fotosintesi nelle piante C4 prevede una **separazione spaziale** della fase luminosa da quella oscura, separazione che consente il “distanziamento” della fotolisi dell'acqua dal ciclo di Calvin.

Le piante CAM invece operano una **separazione temporale** tra la cattura dell'anidride carbonica (di notte) e la fotosintesi (di giorno), con conseguente possibilità di tenere gli stomi chiusi durante tutto il giorno.



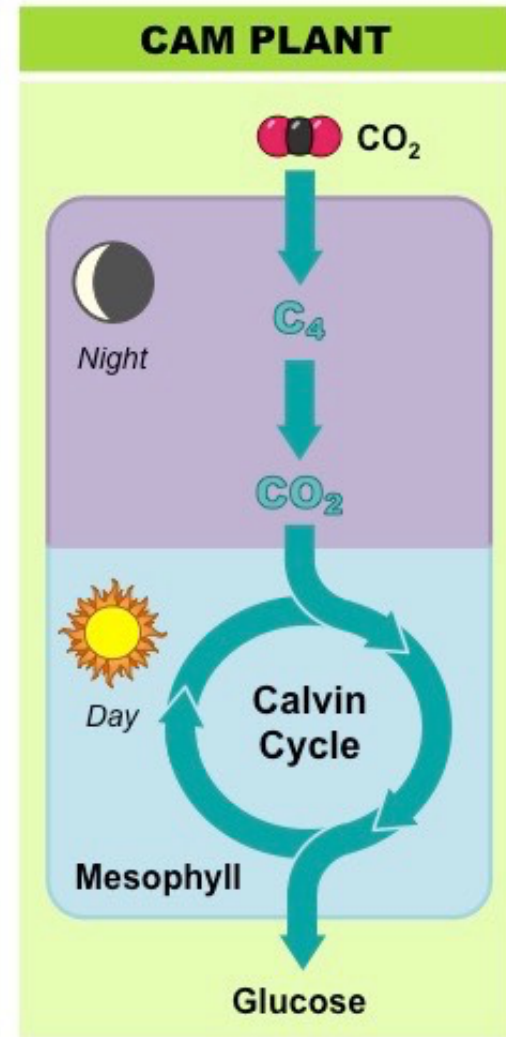
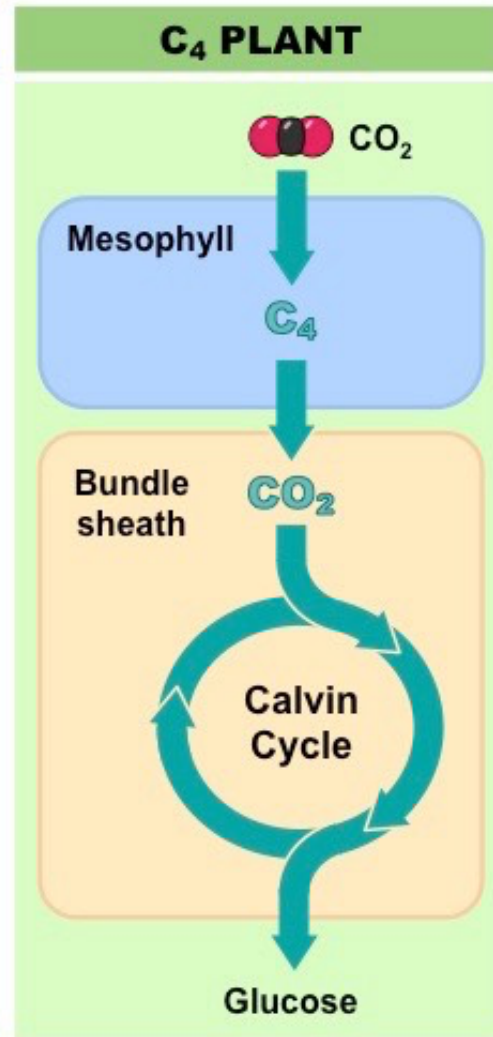
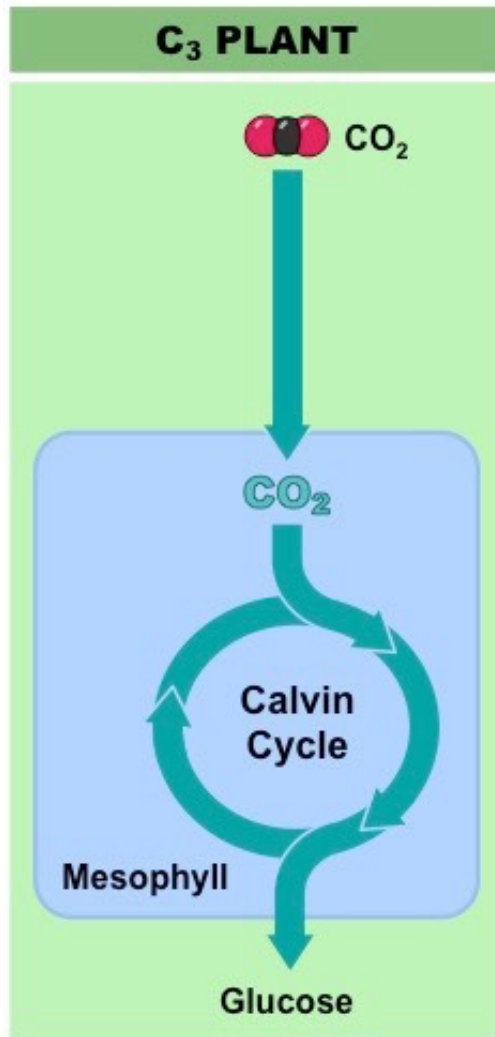


Si tratta di adattamenti fisiologici di piante che vivono in ambienti caratterizzati in genere da forte irraggiamento luminoso e temperature elevate.

Introducendo delle fissazioni temporanee pre-Ciclo di Calvin, alcune specie hanno raggiunto:

- i più elevati ratei fotosintetici (piante C4);
- il più efficiente uso dell'acqua (piante CAM).







# Comparison of C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, and CAM plants

| C3 plants   | C4 plants   | CAM plants  |
|---|---|---|
| Most plants   | Tropical grasses like corn, sugarcane                   | Succulents, pineapple, agave                          |
| Fix carbon in Calvin cycle - attach CO <sub>2</sub> to RuBP | Fix carbon in cytoplasm - attach CO <sub>2</sub> to PEP | Fix carbon at night only, fix it to organic molecules |
| Enzyme - Rubisco  | Enzyme - PEP-ase  | Enzyme - PEP-ase                                      |
| Most energy efficient method                                | 1/2 way between these two                               | Best water conservation                               |
| Loses water through photorespiration                        | Loses less water<br>←→                                  | Loses least water                                     |





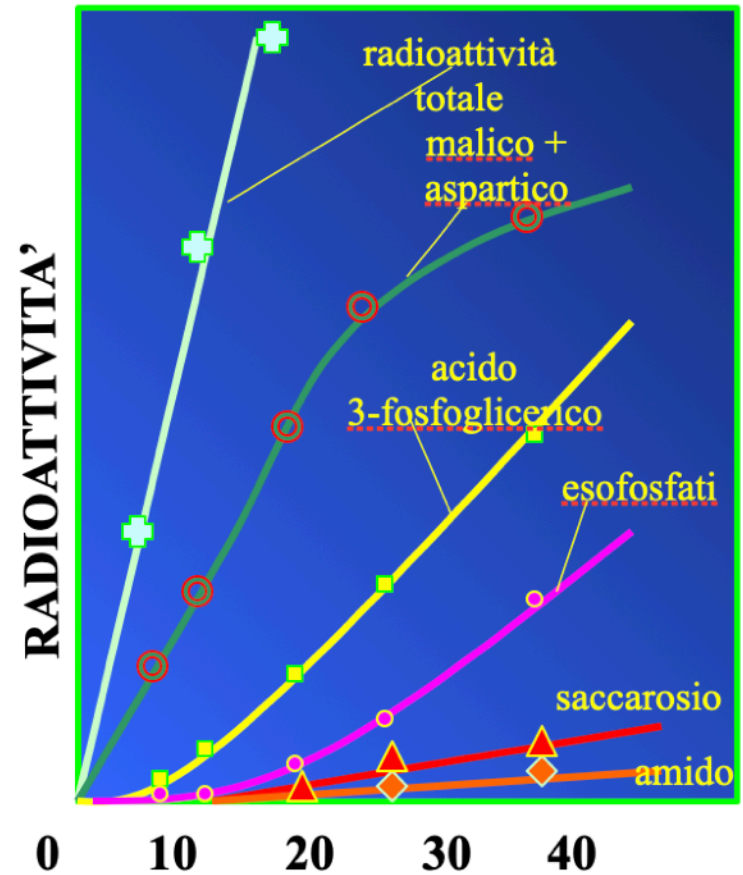
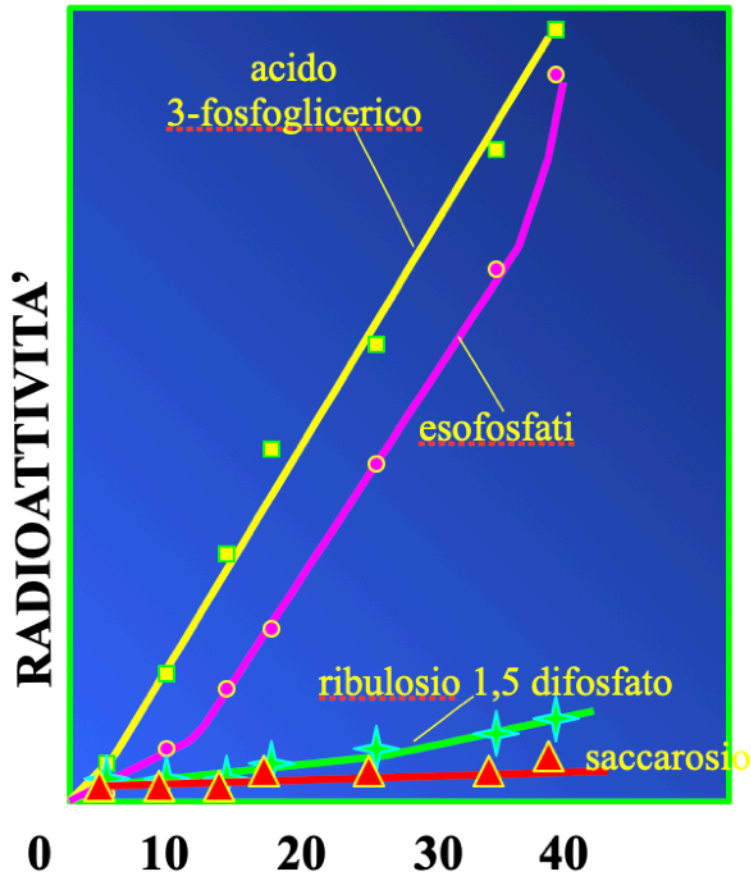
# Fotosintesi nelle piante C4







Il loro primo prodotto di fissazione (temporanea) della CO<sub>2</sub> è un acido organico a 4 atomi di carbonio anziché acido 3-fosfoglicerico.





Se compariamo i prodotti che si formano dopo una breve esposizione a  $\text{CO}_2$  radioattiva in una pianta che possiede solo il ciclo di Calvin (*Chlorella*, un'alga unicellulare) e in una pianta  $\text{C}_4$  (canna da zucchero), noteremo che in *Chlorella* il primo prodotto fotosintetico che compare, già dopo un'esposizione brevissima alla  $\text{CO}_2$  radioattiva è l'acido 3-fosfoglicerico.

Al contrario, nella canna da zucchero compaiono per primi gli acidi malico e aspartico.

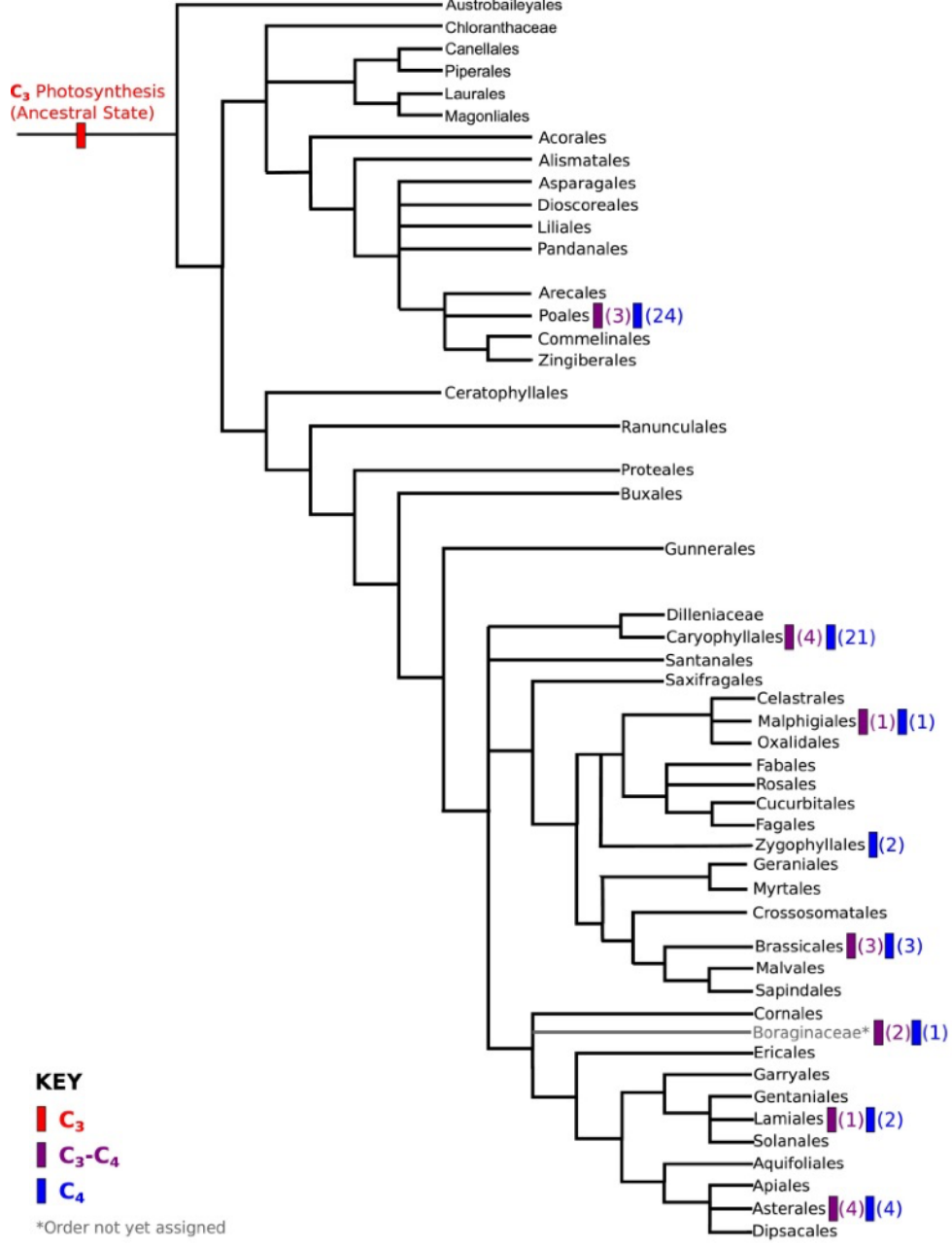
Questi derivano dalla fissazione provvisoria della  $\text{CO}_2$  ad opera della PEP carbossilasi.

Saccarosio e amido, i prodotti finali della fotosintesi compaiono notevolmente più tardi in entrambi i casi. Il comportamento di tutte le piante  $\text{C}_3$  è simile a quello di *Chlorella*.





**C<sub>3</sub> Photosynthesis  
(Ancestral State)**



**KEY**

- █ C<sub>3</sub>
- █ C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>
- █ C<sub>4</sub>

\*Order not yet assigned





La via metabolica C4, o di **Hatch–Slack**, si è evoluta indipendentemente diverse volte. Le piante C4 quindi non sono un clade monofiletico tra le piante.

Questa via metabolica si è evoluta, stando alle ultime evidenze, 62 volte diverse in 19 diverse famiglie di mono- e dicotiledoni.

Il nome di questa via metabolica deriva dal nome dei due ricercatori che nel 1966 ne chiarirono gli aspetti: Marshall Davidson Hatch, e Charles Roger Slack.

Il fatto di essersi evoluto diverse volte da piante C3, ha fatto sì che, nonostante la strategia rimanga la stessa in tutte le piante C4, vi siano diverse varianti.





## Quali sono le piante C4?

Solo un numero ridotto delle 250.000 angiosperme sono piante C4.

Si trovano ad esempio tra le Poaceae e le Chaenopodiaceae, indicando una origine polifiletica, che è relativamente recente (10 milioni di anni fa...).

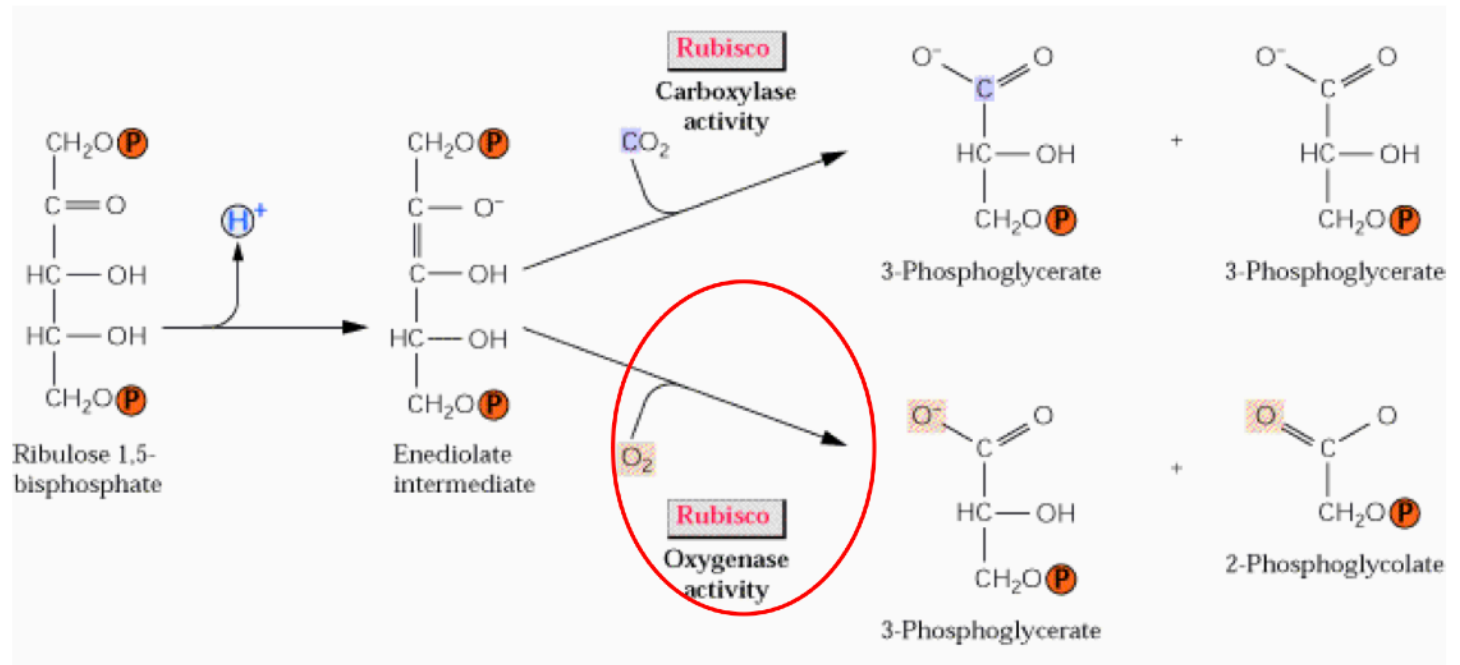
Le graminacee C4 sono in buona parte erbe tropicali (tra cui il “nostro” **mais**, **la canna da zucchero**, **il sorgo**, ma anche molte “malerbe” dei nostri campi...).

Le chenopodiacee C4 sono in gran parte piante che vivono sulle spiagge o nelle depressioni saline nei deserti e semideserti.



Canna da zucchero  
*Saccharum officinarum* L.







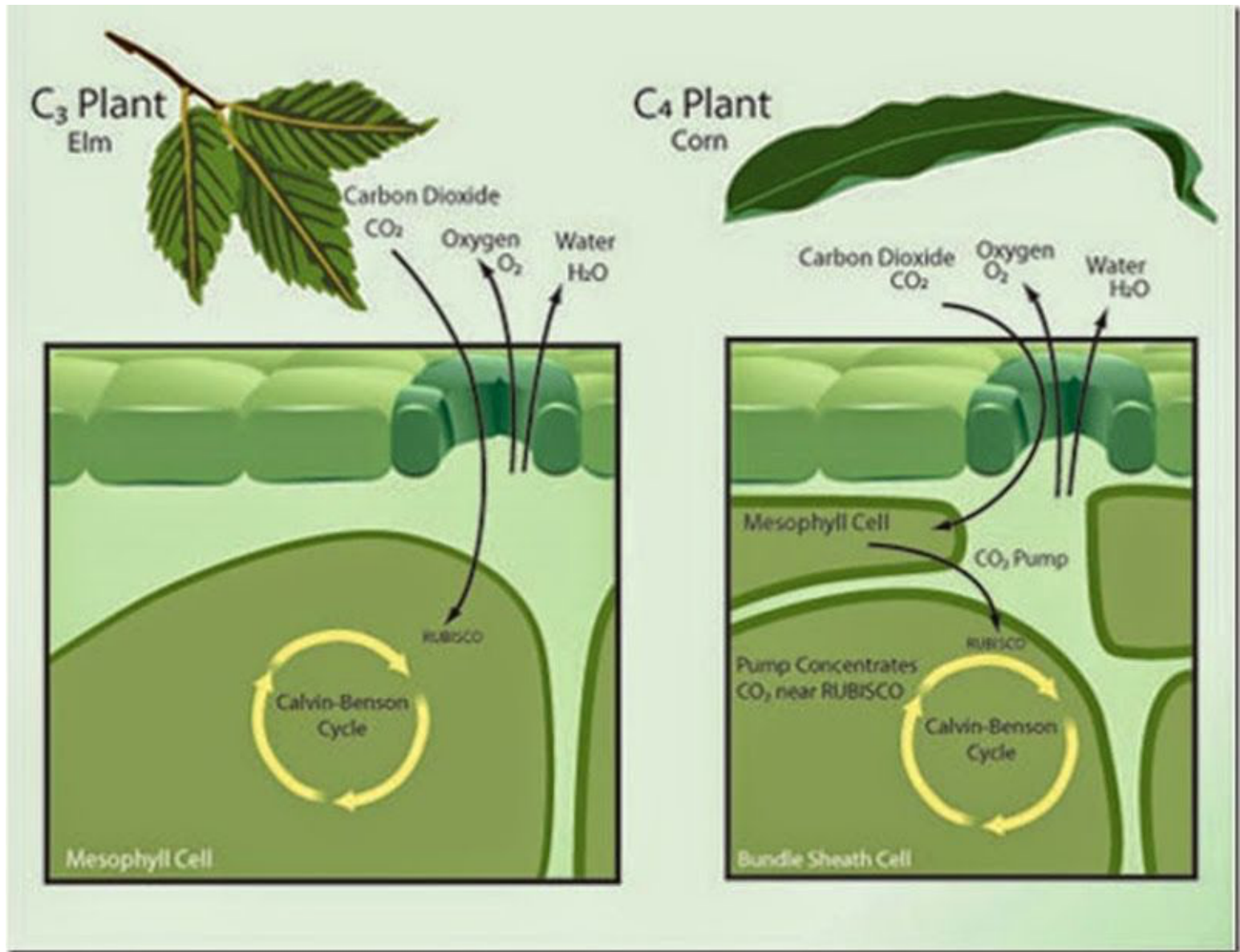
Nelle piante C4 si osserva un meccanismo che incrementa la pressione parziale della  $\text{CO}_2$  in alcune cellule specializzate, in modo da ottimizzare l'attività carbossilasica della RuBisCO.

A monte del ciclo di Calvin compare infatti una precedente fissazione provvisoria di  $\text{CO}_2$ , per opera di un enzima particolare (nelle cellule del mesofillo), cui segue (in un diverso distretto, le cellule della guaina del fascio) la fissazione definitiva di  $\text{CO}_2$ .

Il tutto avviene grazie ad una compartimentazione spaziale, in due tipi di cellule diverse, che sono anche provviste di cloroplasti con ultrastruttura diversa, e quindi con funzioni diverse.

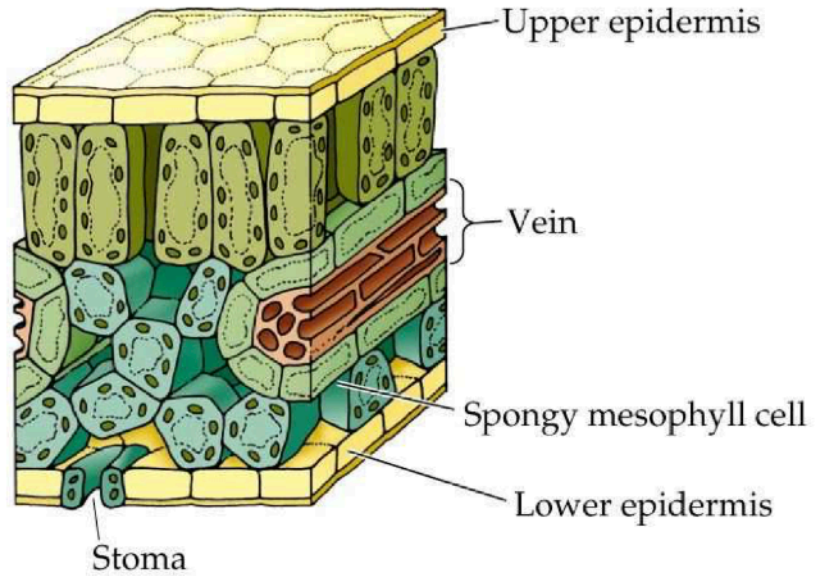




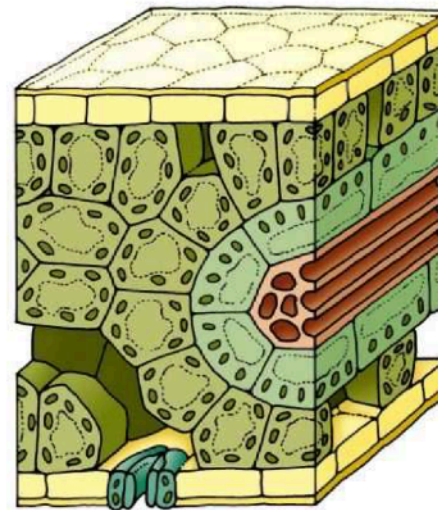




(a) Arrangement of cells in a  $C_3$  leaf

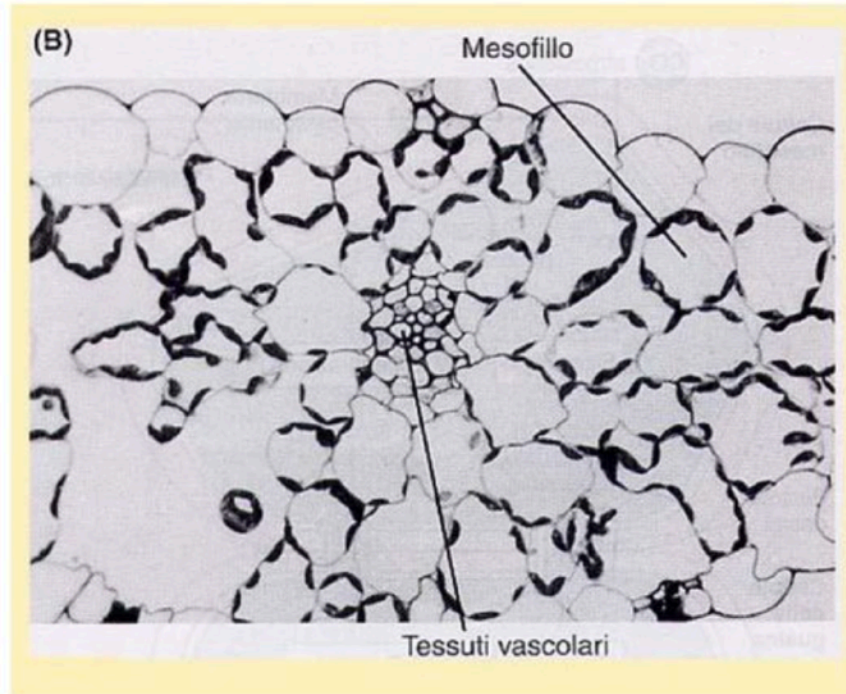


(b) Arrangement of cells in a  $C_4$  leaf



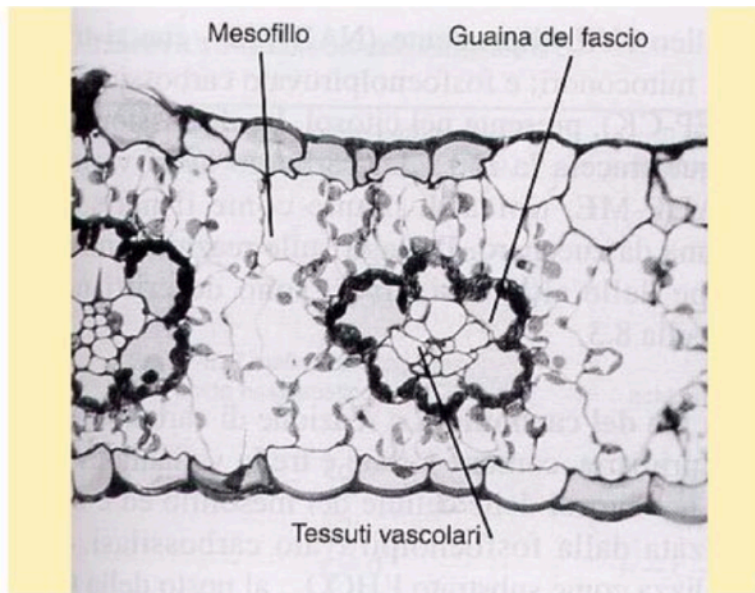
## Anatomia Kranz





## ***Avena sativa* (C3)**



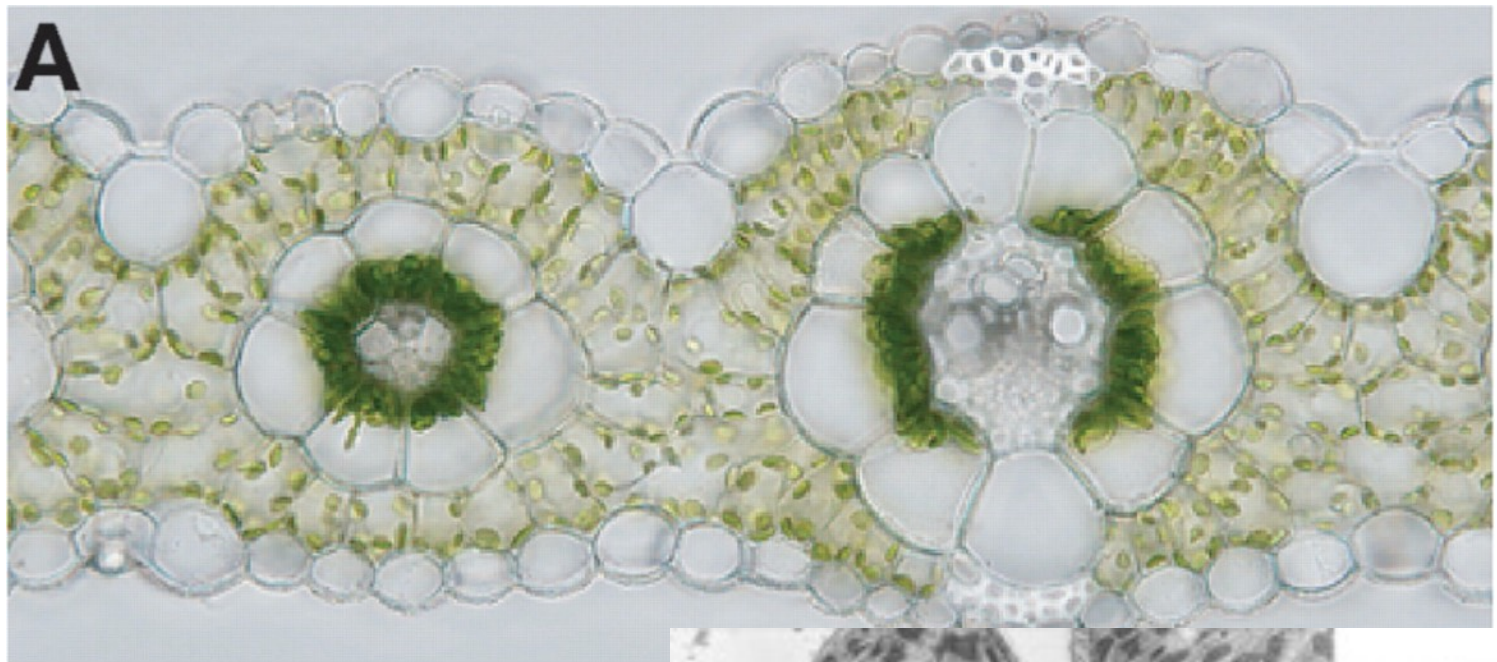


*Zea mays* (C4)  
monocotiledone

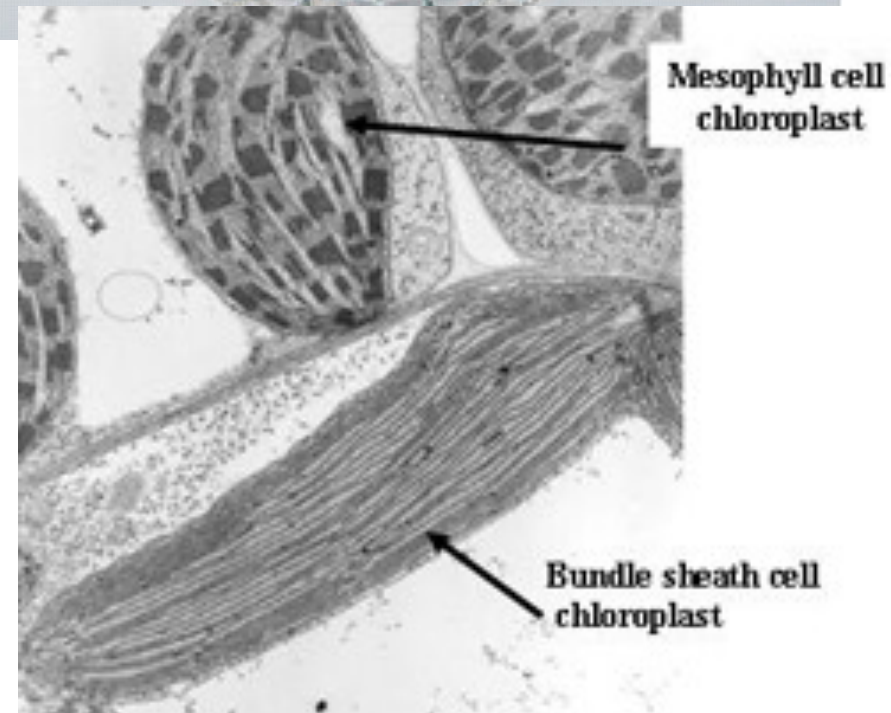


*Gomphrena* (C4)  
dicotiledone



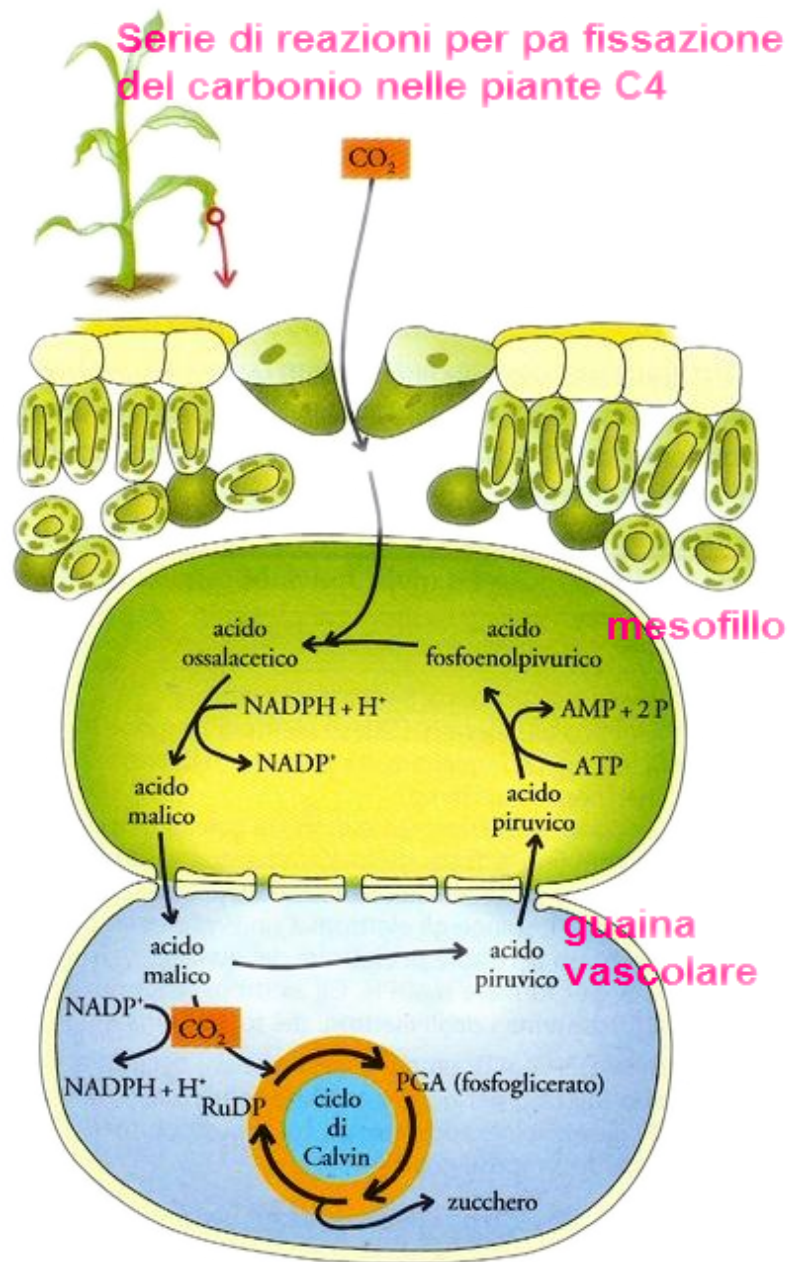


Le cellule della guaina del fascio contengono (spesso) cloroplasti senza grana e pieni di granuli d'amido. Questi cloroplasti non contengono il PS II (questo fotosistema è localizzato nei tilacoidi dei grana che qui mancano).





## Serie di reazioni per la fissazione del carbonio nelle piante C4





**Il bello del mondo reale:  
é QUASI sempre così, ma....**





*Flaveria brownii*  
Asteraceae

Questa pianta è sia una C3 che una C4. A seconda della quantità di luce, si comporta più come una C3 o più come un C4. Questo dimostra che il passaggio da C3 a C4 non è troppo complesso, motivo per cui è avvenuto diverse volte nella storia evolutiva delle piante.





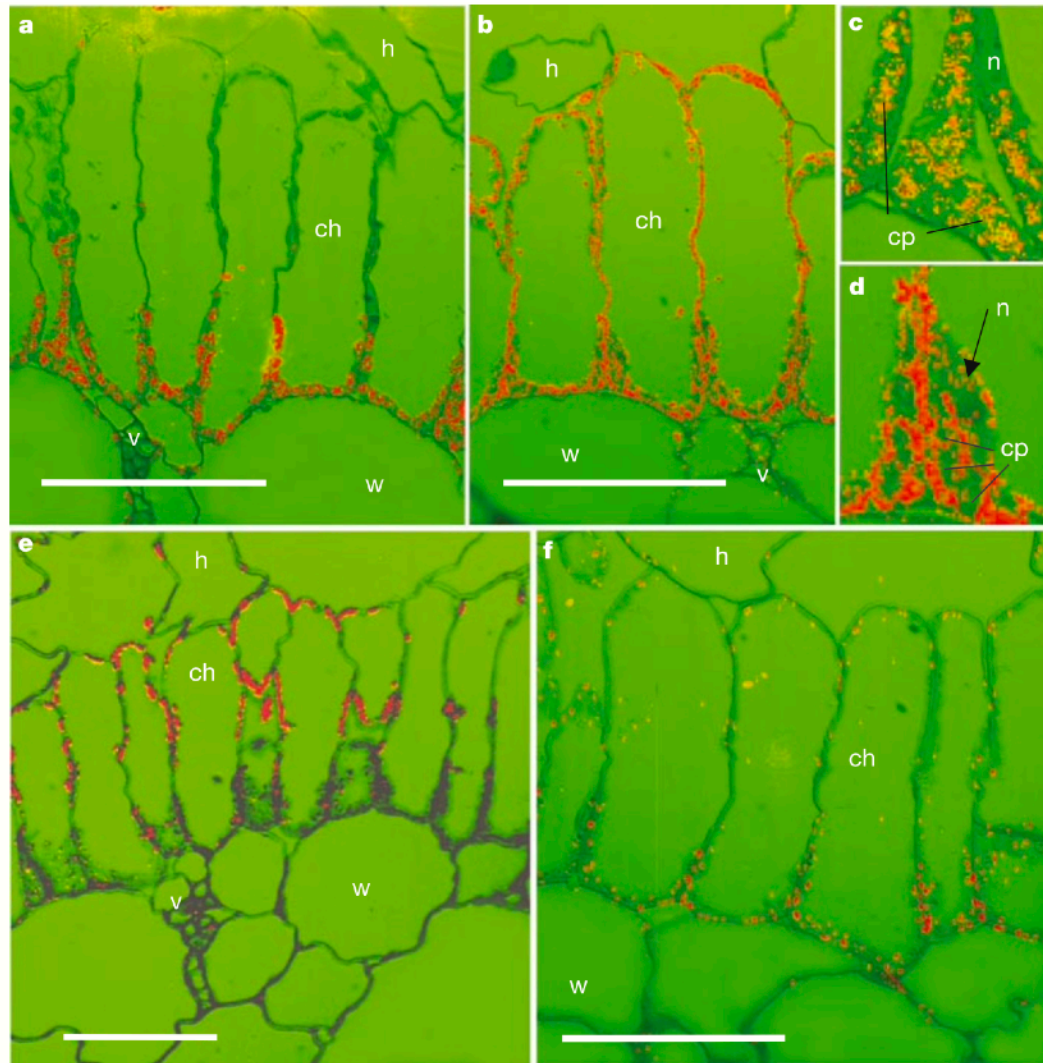


Un altro caso interessante è quello di *Suaeda* (*Borszczowia*) *aralocaspica*, una Amaranthacea che è nota per i deserti dell'Asia centrale.

In questa piante abbiamo fotosintesi C4 senza anatomia Kranz. Questo è un caso affascinante, in cui assistiamo a una compartimentazione all'interno della stessa cellula, anziché in cellule diverse.

Uno studio ha infatti evidenziato come i diversi enzimi coinvolti nella fotosintesi si distribuiscano in modo ineguale all'interno della stessa cellula. Inoltre, vi sono due diversi tipi di cloroplasti, e diversi organuli seguono la compartimentazione all'interno della cellula.





**Figure 2** Immunolocalization of photosynthetic enzymes in leaves of *Borszczowia aralocaspica* by confocal laser scanning microscopy. Immunolocalization of Rubisco (**a**), PEP carboxylase (**b**), higher magnification showing Rubisco in chloroplasts in proximal end of cell (**c**), higher magnification showing PEP carboxylase in cytosol (**d**), pyruvate, Pi

dikinase (**e**) and NAD-malic enzyme (**f**). Red dots indicate where the enzyme is present. cp, chloroplast; ch, chlorenchyma cell; h, hypodermal cell; n, nucleus; v, vascular tissue; w, water storage cell. Scale bars, 50  $\mu\text{m}$ .





**OOOK... ma....**

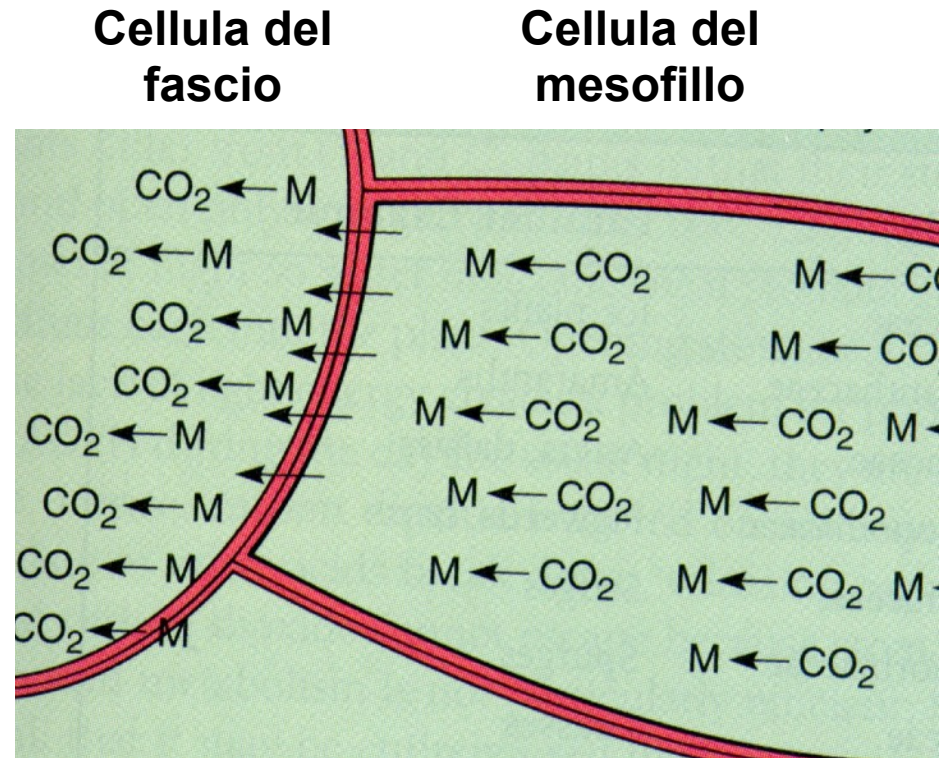
**Come funziona?**





La fissazione provvisoria della  $\text{CO}_2$  avviene nelle cellule del mesofillo per opera **dell'enzima PEP (fosfoenolpiruvico) carbossilasi**, che ha **altissima affinità per la  $\text{CO}_2$  in forma di ione bicarbonato**; il substrato è l'acido PEP.

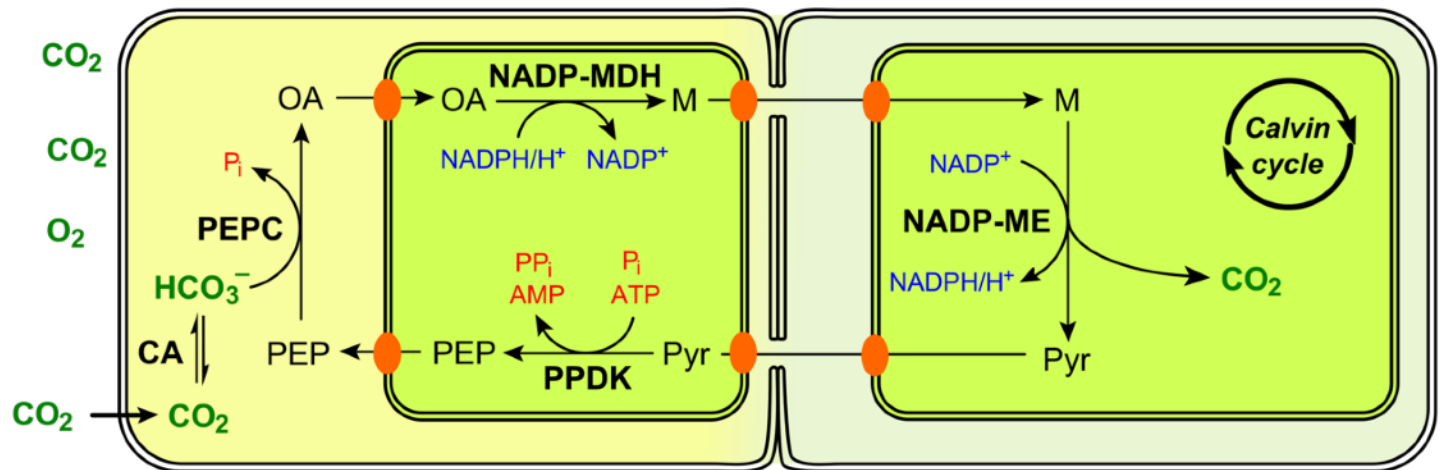
L'acido ossalacetico che ne deriva viene ridotto ad acido malico e quest'ultimo viene trasportato nelle cellule della guaina, dove viene decarbossilato ad acido piruvico, liberando  $\text{CO}_2$ .





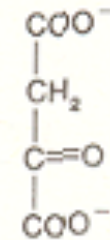
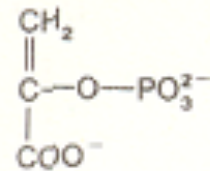
La  $\text{CO}_2$  liberata all'interno delle cellule del fascio entra nel «normale» ciclo di Calvin: viene fissata sul ribulosio-1,5-bifosfato dando acido 3-fosfoglicerico ecc ecc.

L'acido piruvico derivato dalla decarbossilazione del malico viene riportato nelle cellule del mesofillo e lì ritrasformato in PEP attraverso una reazione che richiede 2 molecole di ATP.

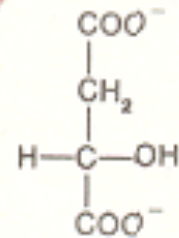
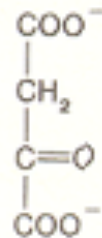




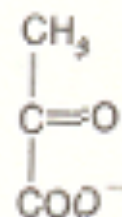
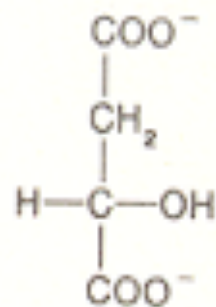
1. *Fosfoenolpiruvato carbossilasi*  
acido fosfoenolpiruvico +  $\text{HCO}_3^- \rightarrow$  acido ossalacetico +  $\text{HOPO}_3^{2-}$



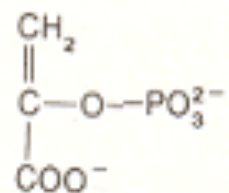
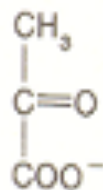
2. *NADP malico deidrogenasi*  
acido ossalacetico +  $\text{NADPH} + \text{H}^+ \rightarrow$  acido malico +  $\text{NADP}^+$



4. *Enzima NADP malico*  
acido malico + NADP<sup>+</sup> → acido piruvico + CO<sub>2</sub> + NADPH + H<sup>+</sup>



*Piruvato, ortofosfato dichinasi*  
acido piruvico + HOPO<sub>3</sub><sup>2-</sup> + ATP → acido fosfoenolpiruvico + AMP + H<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub><sup>2-</sup>





Questo processo, al completamento del ciclo che rigenera il PEP, consuma una molecola di ATP. Il NADPH viene speso nella conversione da ossalacetato a malato, ma viene rigenerato nella decarbossilazione del malato a piruvato.

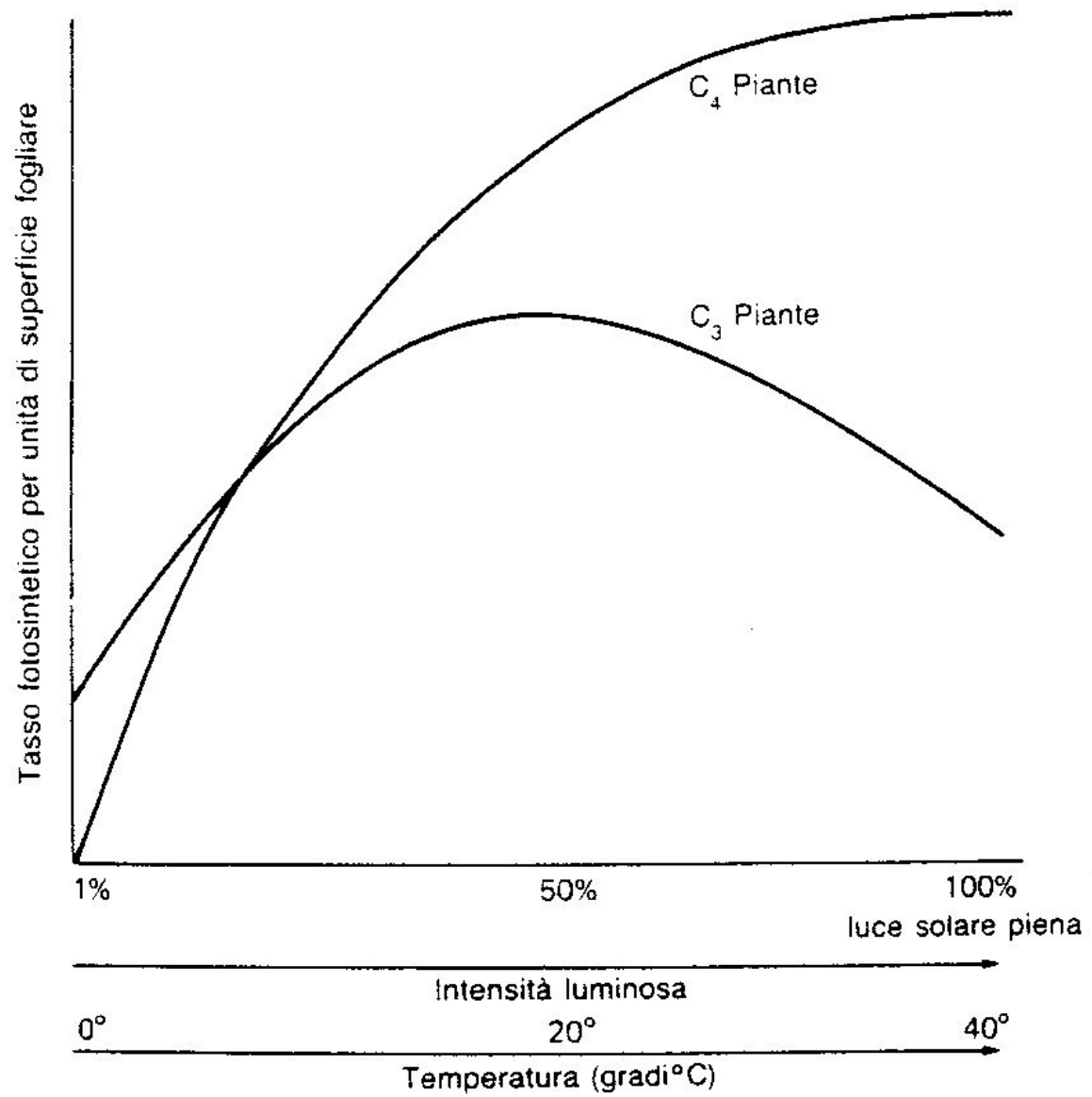
Di conseguenza, le piante C4 “spendono” un ATP in più rispetto alle piante C3 per ciascun atomo di carbonio fissato.

Ne vale la pena? Nelle condizioni in cui la “spesa” energetica per rigenerare il RuDP è elevata, sì.

Infatti, le piante C4 cominciano a essere performanti quanto le C3 quando le temperature superano i 10°C, e stravincono la competizione a temperature superiori ai 20°C.

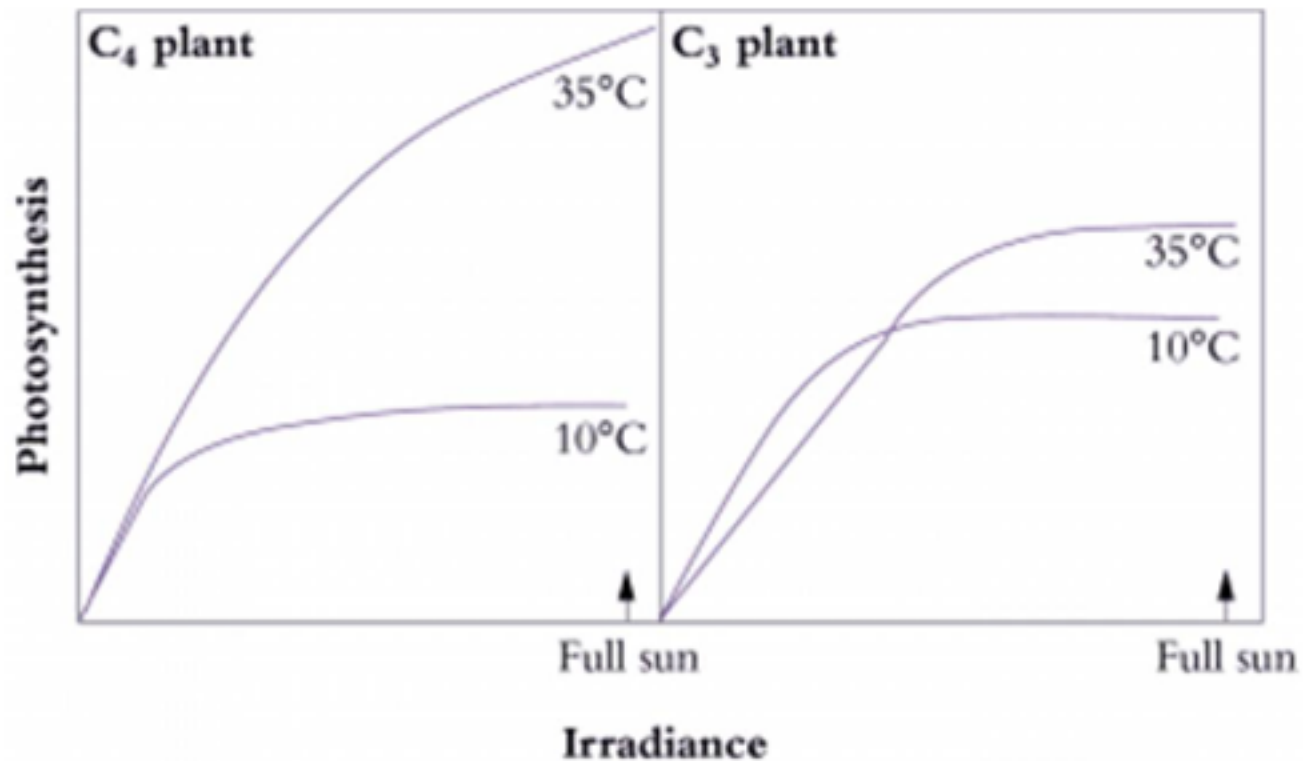








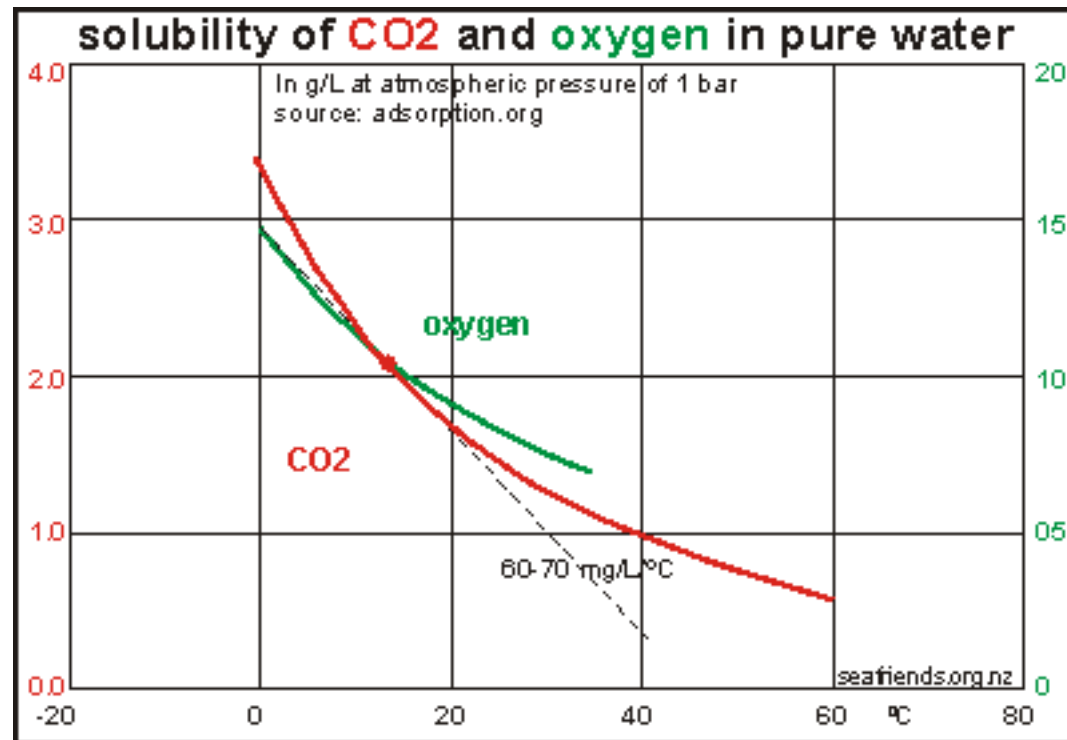
A temperature elevate le piante C4 sono molto più performanti delle C3. Queste sono invece più efficienti a basse temperature.





Questo a causa della ridotta solubilità dell'anidride carbonica, che decresce più rapidamente di quella dell'ossigeno, causando quindi un incremento della concentrazione relativa di quest'ultimo.

Questa è anche incrementata dalla aumentata velocità della fase luminosa della fotosintesi con la temperatura.





In conclusione, nelle piante  $C_4$  la formazione di sostanze organiche da  $CO_2$  avviene esattamente come nelle altre piante: essa è però preceduta da una fissazione provvisoria di  $CO_2$  sotto forma di acidi organici, che vengono scambiati tra due tipi cellulari diversi: le cellule del mesofillo e le cellule della guaina.

Le piante  $C_4$  hanno il problema del costo di rigenerare l'acido fosfoenolpiruvico partendo dall'acido piruvico. Questo le fa consumare più ATP delle  $C_3$  a parità di numero di carboidrati sintetizzati. Come risultato, la fotosintesi  $C_4$  è competitiva solo in ambienti caldi e luminosi o nelle stagioni caratterizzate da questa combinazione di condizioni (per es. la nostra estate).





L'acido malico è praticamente un veicolo per trasportare la  $\text{CO}_2$  nelle cellule della guaina del fascio concentrandola in quest'ultime.

Questo trasporto è facilitato dai numerosissimi plasmodesmi che collegano le due tipologie di cellule. Una volta liberata dal suo veicolo in seguito alla decarbossilazione la  $\text{CO}_2$  non può più tornare indietro in quanto le cellule della guaina del fascio sono pochissimo permeabili alla  $\text{CO}_2$  grazie alla parete suberificata.

In questo modo si crea all'interno della cellula della guaina un ambiente ad alta concentrazione di  $\text{CO}_2$ , **favorendo l'attività carbossilasica della RuBisCO e inibendo quella ossigenasica.** In altre parole si crea un microambiente ideale per favorire la fotosintesi e inibire la fotorespirazione.





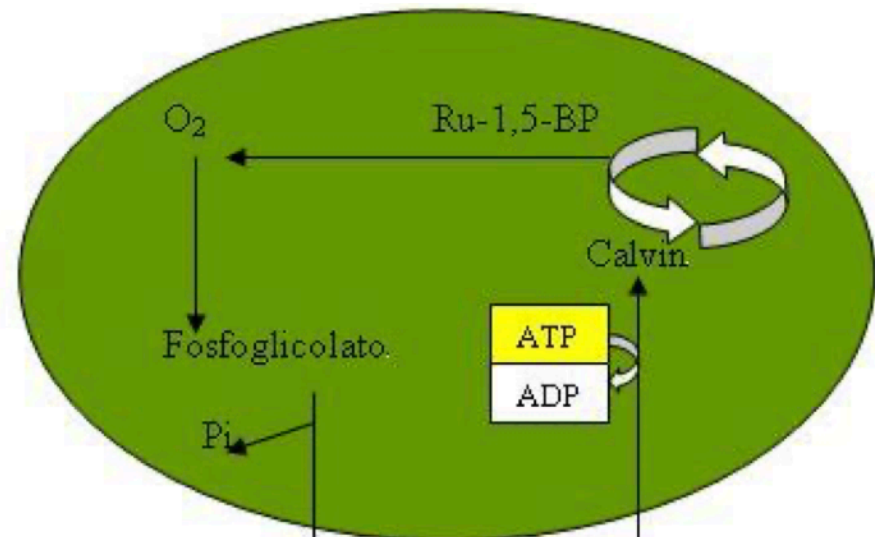
Le condizioni di “paradiso fotosintetico” delle cellule della guaina vengono ulteriormente esaltate dall’assenza del fotosistema II a livello dei cloroplasti delle cellule della guaina. Inoltre la presenza di perossisomi fa sì che l’anidride carbonica persa per fotorespirazione possa essere subito ricatturata prima che raggiunga gli stomi.

Questo grazie all’enzima PEP carbossilasi che lavora efficientemente anche a basse concentrazioni di substrato.

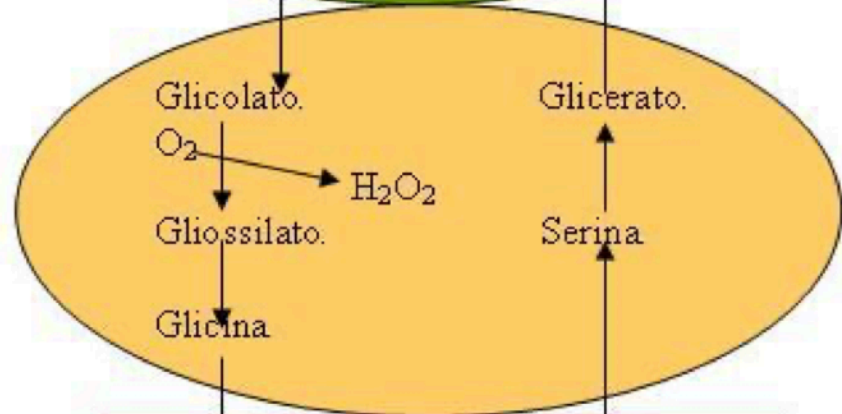




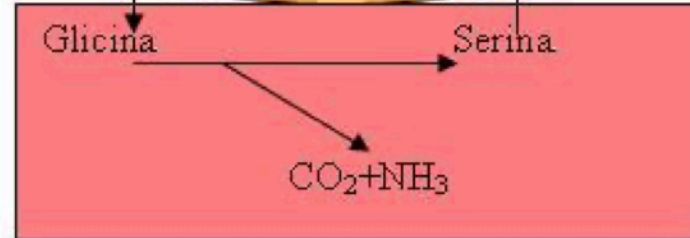
CLOROPLASTO



PEROSSISOMA



MITOCONDRIO





Le  $C_4$  permettono anche un discreto risparmio di acqua. Questo perchè l'enzima PEP carbossilasi è molto efficiente, e mantiene la concentrazione della  $CO_2$  molto bassa negli spazi intercellulari durante il giorno – più bassa che nelle piante  $C_3$ .

Si crea così un gradiente di concentrazione della  $CO_2$  tra aria esterna e spazi intercellulari della foglia particolarmente ripido, che consente una più rapida entrata della  $CO_2$  negli stomi. Una pianta  $C_4$  con stomi parzialmente chiusi può fotosintetizzare alla stessa velocità di una  $C_3$  con stomi completamente aperti ed evitare perdite eccessive di  $H_2O$ .

L'uso altamente economico della  $CO_2$  fatto dalle piante  $C_4$  è dimostrato anche dal punto di compensazione per la  $CO_2$  che in queste piante si avvicina a zero. Invece nelle  $C_3$  la fotosintesi netta si annulla quando la concentrazione per la  $CO_2$  è scesa al 10-20% rispetto a quella normale dell'atmosfera.







Il fatto che il metabolismo C4 si sia evoluto più volte nella storia delle angiosperme ha fatto sì che si sviluppassero diverse varianti, che differiscono principalmente per:

A) La natura del composto a 4 atomi di carbonio che fa da *carrier* per la CO<sub>2</sub> (**acido malico o aspartico**), e del composto a 3 atomi di carbonio che torna alle cellule del mesofillo (**piruvato o alanina**)

B) L'enzima che catalizza la decarbossilazione nelle cellule della guaina del fascio.

Inoltre, vi sono delle varianti intermedie.

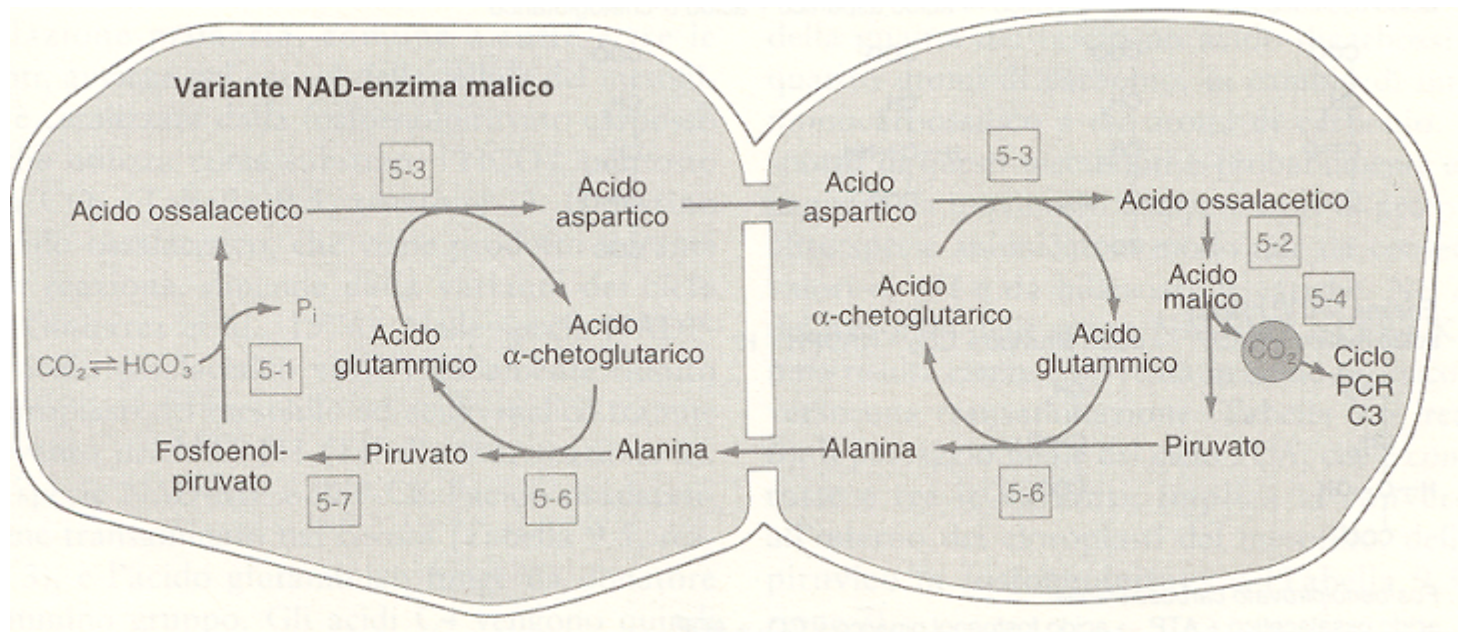
La tipologia di metabolismo C4 fino a ora vista è quella probabilmente più diffusa, in cui il carrier è l'acido malico, e l'enzima che catalizza la reazione di decarbossilazione è una **malato deidrogenasi (enzima NADP-malico)**.





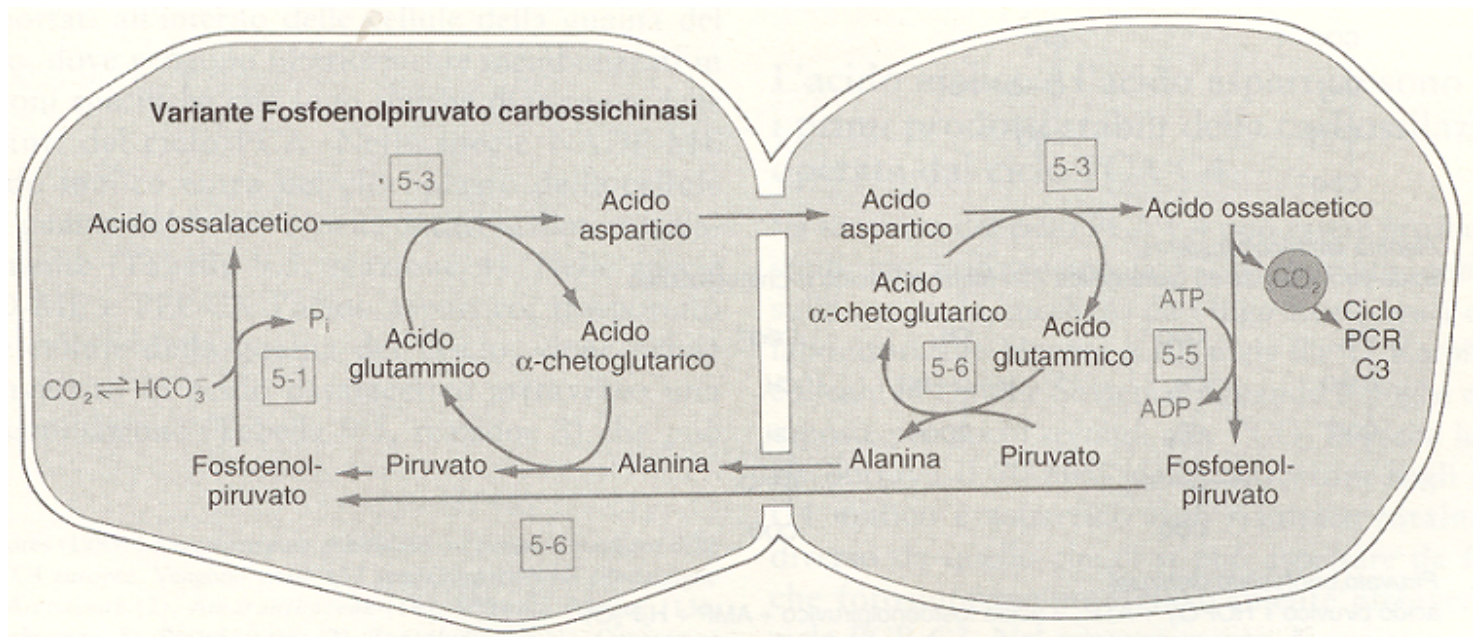
## Tipo NAD-ME

In questo caso l'enzima coinvolto è un'altra malato deidrogenasi, l'enzima NAD-malico. Il substrato in questo caso non è il NADP, ma il NAD.



## Tipo PEPCK

In questo caso l'enzima coinvolto è la **fosfoenolpiruvato carbossichinasi**. Il carrier è l'acido aspartico, che viene convertito in ossalacetato, poi decarbossilato nel citosol delle cellule della guaina del fascio con consumo di ATP.



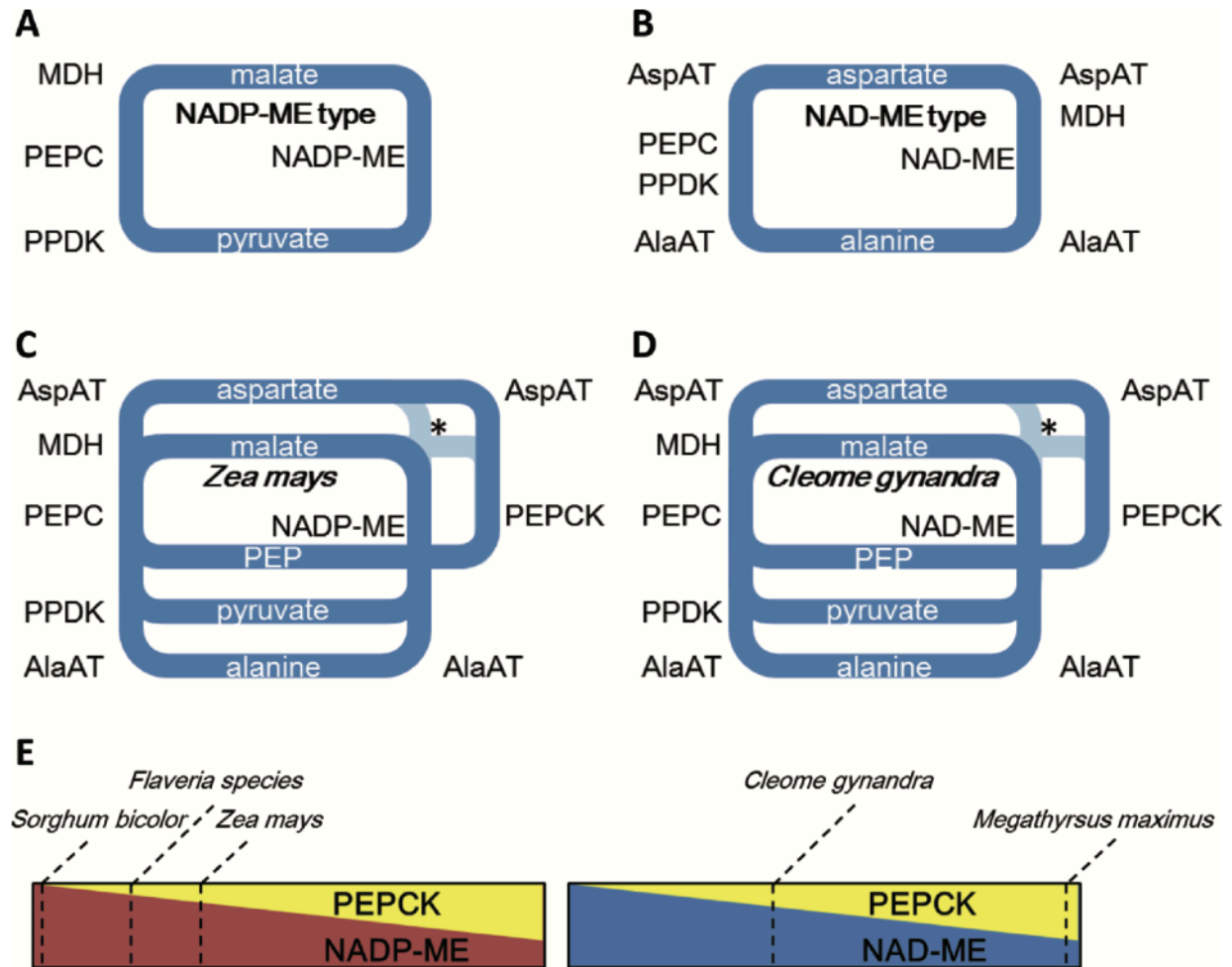


Tuttavia, come spesso in natura, la cose non sono così “semplici”.

Recenti studi hanno posto l’ipotesi che la terza “via”, quella che è contraddistinta dalla PEPCK, non sia mai presente come unica via metabolica C4, ma sia sempre accoppiata a una delle altre due, quale via supplementare per la decarbossilazione dell’ossalacetato nelle cellule della guaina del fascio. In diverse specie, questa via supplementare può essere completamente assente, o presente a vario grado.

Di fatto quindi, le classiche tre vie metaboliche C4 dovrebbero essere ridotte a due, con un ulteriore metabolismo supplementare che può andare a supportarle a vario grado in diverse specie.





**Fig. 8.** Textbook pathways (A, B) in comparison with the situation in the plant (C, D) for the NADP-ME type (A, C) and the NAD-ME type (B, D). Asterisks indicate where it is not clear whether the circles are also connected at this point by Asp aminotransferase and MDH. The  $C_4$  cycles have to be rewritten as branched cycles that split at the position of  $C_4$  transfer acid into aspartate and malate and at the position of  $C_3$  transfer acid into pyruvate, alanine, and (for PEPCK-using species) PEP. The proportions of different transfer acids probably vary with changing environmental conditions: for example, light for malate reduction or nitrogen availability for amino acids as transfer acids. (E) Contribution of PEPCK to malic enzyme activity in five different  $C_4$  species. AlaAT, alanine aminotransferase; AspAT, aspartate aminotransferase; MAL, malate; MDH, malate dehydrogenase; NADP-ME, NADP-malic enzyme; PEP, phosphoenolpyruvate; PEPC, phosphoenolpyruvate carboxylase; PEPCK, phosphoenolpyruvate carboxykinase; PPDK, pyruvate phosphate dikinase.



*Sorghum bicolor* (L.) Moench  
Poaceae

Coltivato anche in Italia come  
alimento per il bestiame. Nei  
paesi in via di sviluppo usato  
per l'alimentazione umana



*Megathyrsus maximus* (Jacq.) B.K.Simon & S.W.L.Jacobs  
Poaceae

Pianta erbacea perenne dei climi caldi e secchi, nativa del  
continente africano

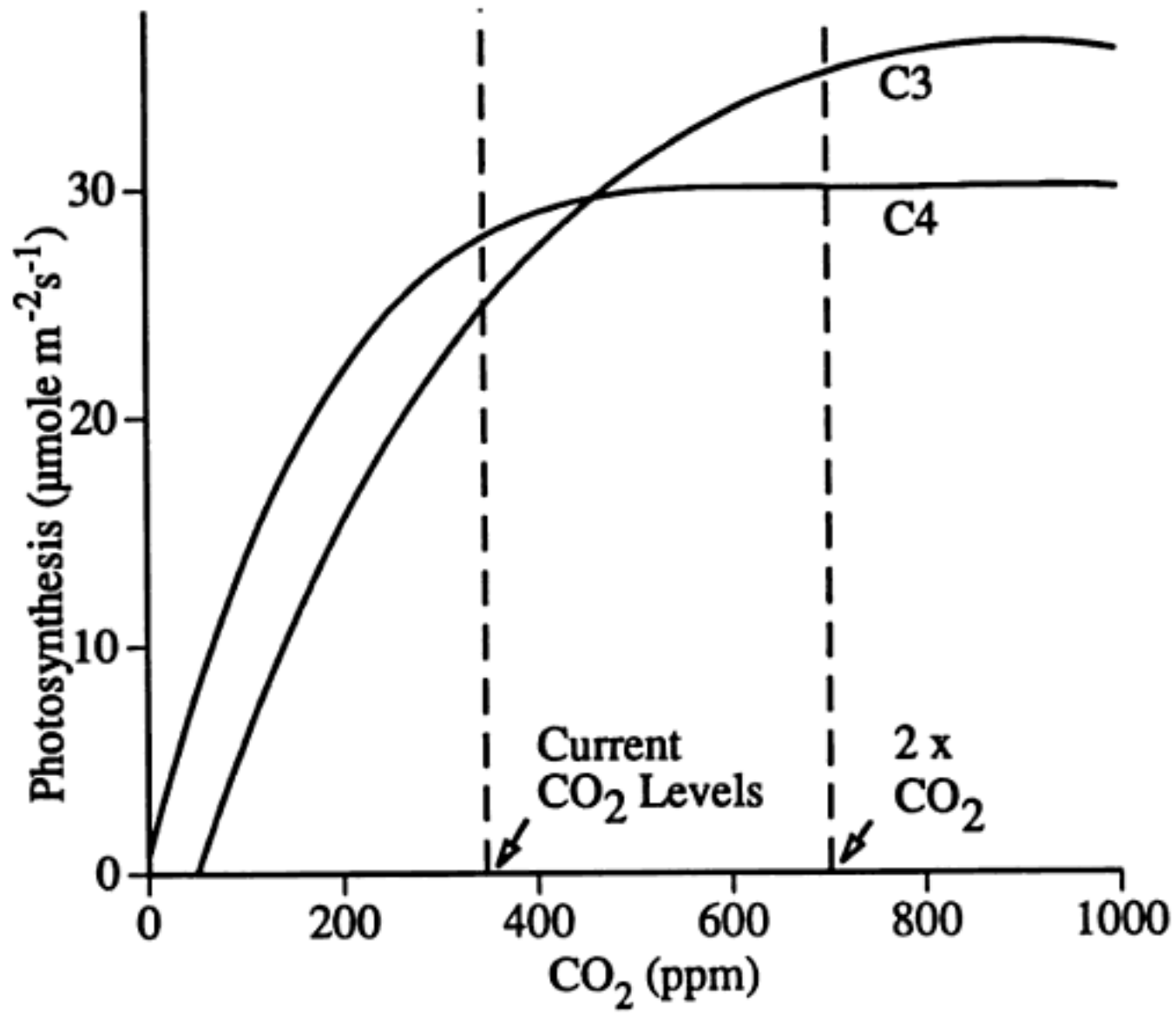




# Effetto del cambiamento climatico sulle piante C3 e C4









Diversi studi hanno messo in evidenza che un aumento della concentrazione di anidride carbonica in atmosfera favorisce maggiormente le piante C3 rispetto alle C4. Questo avviene come conseguenza della presenza stessa dei metabolismi di trasporto della anidride carbonica, che oltre una certa soglia raggiungono una velocità massima, che non può essere superata.

Quindi, considerato che un aumento di temperatura favorisce le C4, e un aumento di CO<sub>2</sub> favorisce le C3, quale potrebbe essere lo scenario futuro?

Obiettivamente difficile fare ipotesi, anche se l'aumento della CO<sub>2</sub> in atmosfera è stato enorme, circa il 30% negli ultimi 50 anni.

Tuttavia, i ricercatori scommettono molto sull'efficienza del metabolismo C4....



## Riso.... C4?

Il riso (*Oryza sativa*, con tutte le sue varietà coltivate) è una pianta C3.

Tuttavia, essendo il riso la principale fonte di calorie per una enorme fetta della popolazione mondiale, un aumento della produttività per ettaro conseguente a una aumentata efficienza fotosintetica sarebbe una panacea per la fame nel mondo. Attualmente in Asia circa 600 milioni di persone sono a rischio malnutrizione, e la popolazione totale dell'Asia è destinata a aumentare di circa 1,5 miliardi da qui al 2050.

Per questo motivo, i ricercatori stanno analizzando la possibilità di indurre in un cultivar di riso delle modificazioni che portino a una anatomia Kranz, e all'evoluzione di un metabolismo C4, che nelle condizioni ottimali rende le piante fotosinteticamente più efficienti di circa il 50% (un miglioramento della produttività per ettaro sufficiente a risolvere i problemi alimentari dell'Asia da qui al 2050).



*Oryza sativa* L.  
Poaceae





# Fotosintesi nelle piante CAM





## Piante CAM

Un altro gruppo di specie che fissano  $\text{CO}_2$  in modo provvisorio è costituito dalle piante CAM (**C**rassulacean **A**cid **M**etabolism = Metabolismo Acido delle Crassulacee).

Mentre le piante C4 sono circa il 3% del totale delle piante vascolari, le CAM sono circa il 6%.

Sono praticamente delle C4 che “non ce l’hanno fatta”, perché hanno un metabolismo C4, ma non la separazione spaziale. Infatti, sia la cattura della  $\text{CO}_2$  in forma di malato che la sua decarbossilazione avvengono nelle cellule del mesofillo, e manca l’anatomia Kranz.





Tra le piante CAM più note troviamo:

- le tipiche piante succulente della famiglia delle **Crassulaceae**, adattate a vivere in ambienti aridi, anche di casa nostra;
- le **Cactacee**;
- piante epifite (es. **Bromeliaceae**) delle foreste tropicali, tra cui qualche felce, e la mitica *Welwitschia*.

Si noti che mentre le C4 sono tutte angiosperme, le CAM sono anche gimnosperme, isoete e felci



*Sedum album* L.  
Crassulaceae





*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.  
Cactaceae



*Ananas comosus* (L.) Merr.  
Bromeliaceae



*Welwitschia mirabilis* Hook.f.  
Welwitschiaceae





Le piante CAM separano nettamente nel tempo il momento dell'entrata della  $\text{CO}_2$  nella foglia da quello della sua fissazione nel ciclo di Calvin.

Il funzionamento è relativamente semplice:

**Di notte** esse aprono gli stomi, fanno entrare la  $\text{CO}_2$  e la fissano in modo analogo alle  $\text{C}_4$  formando acidi organici a 4 atomi di C (tipicamente acido malico).

**Di giorno** esse tengono gli stomi chiusi (tanto ormai la  $\text{CO}_2$  è stata assorbita e immobilizzata negli acidi organici) e decarbossilano gli acidi generati durante la notte liberando nuovamente la  $\text{CO}_2$ . Questa viene ora fissata normalmente attraverso la RuBisCO nel ciclo di Calvin.

