



FOTOSINTESI

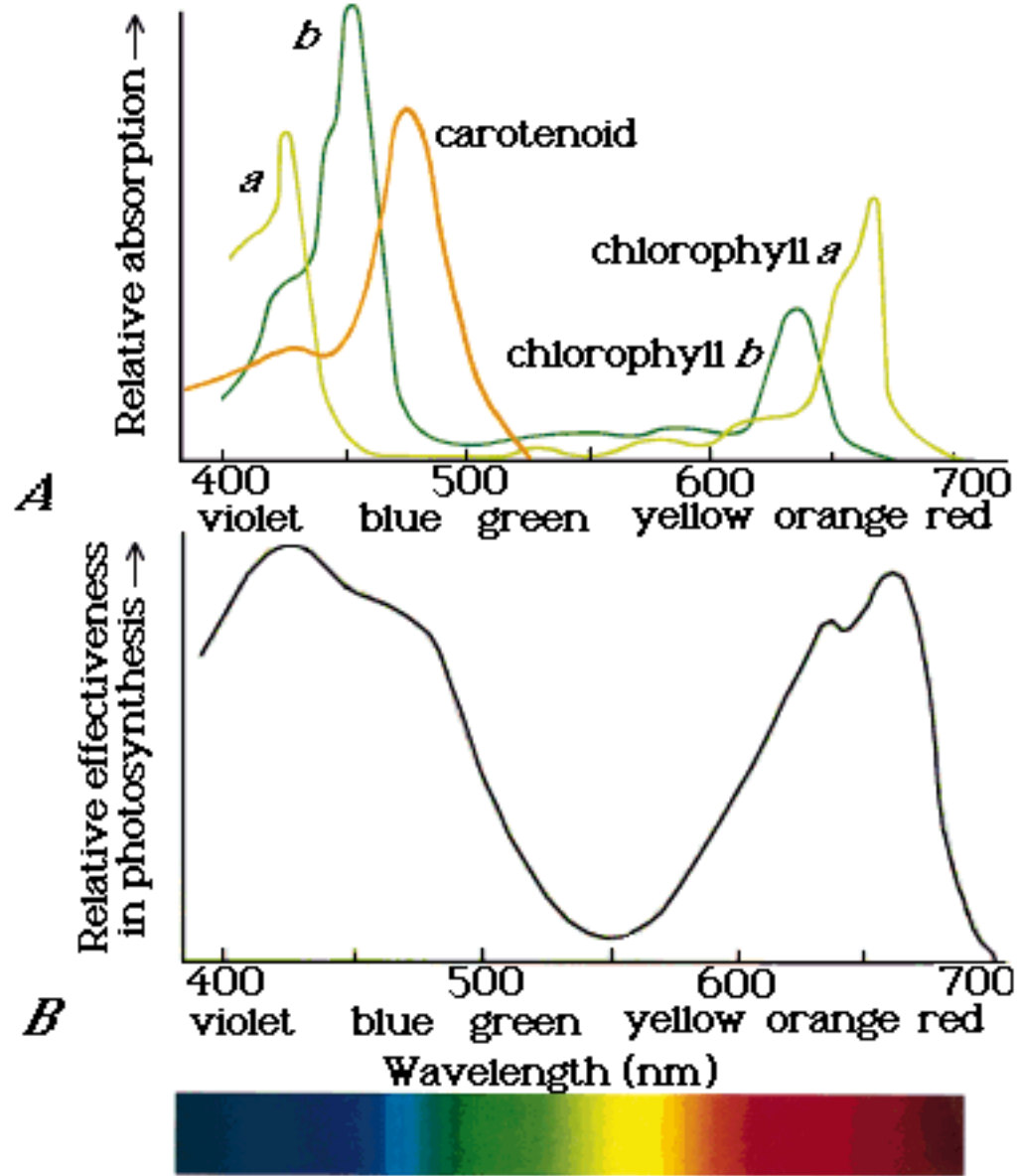


Un altro aspetto ormai consolidato legato alla fase luminosa derivò dagli esperimenti di **Emerson**, che descrisse (1957) un fenomeno ora noto come **effetto Emerson**: l'assorbimento della luce è legato alla presenza di due gruppi macromolecolari distinti, a cui sono associate specifiche reazioni fotochimiche.

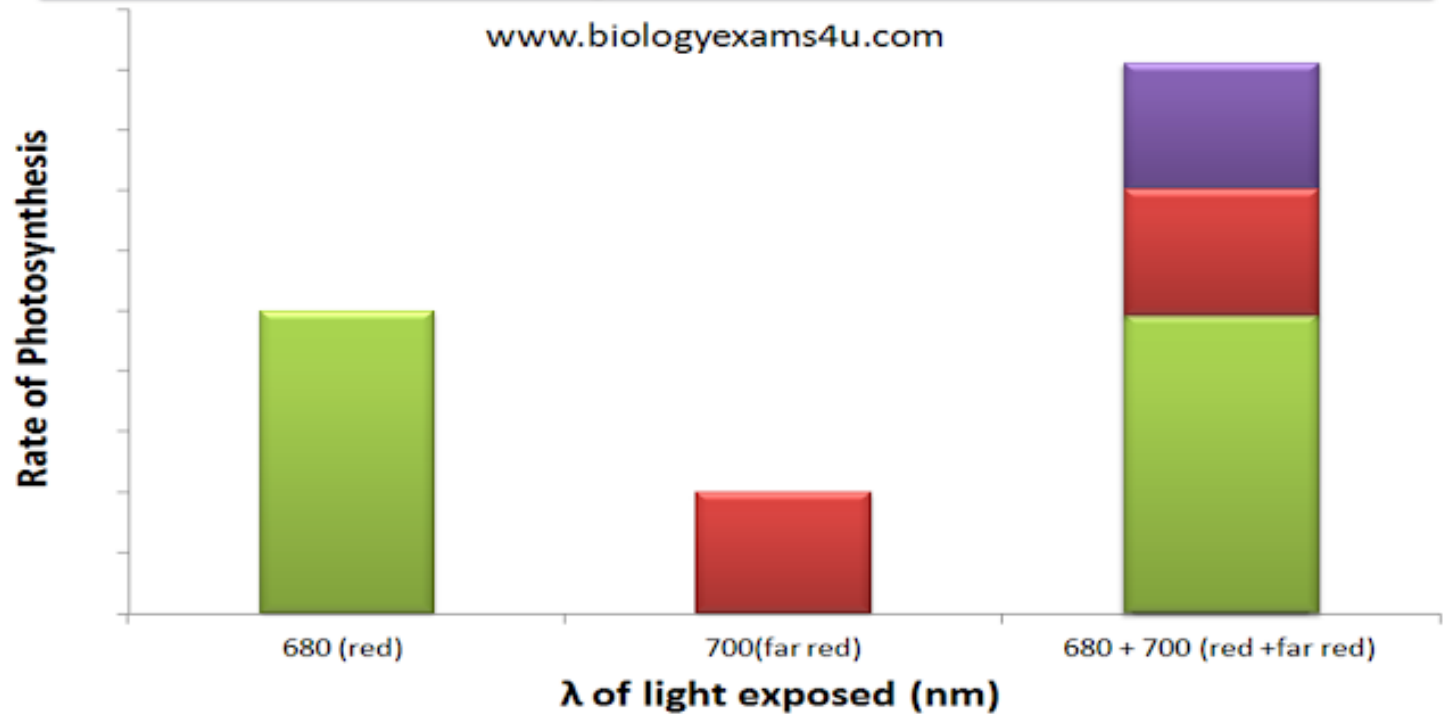
Emerson giunse a queste conclusioni studiando l'efficienza fotosintetica nella porzione rossa dello spettro. Questa scelta era dovuta a due fattori:

1. In questa porzione l'assorbimento è quasi interamente a carico delle clorofille. L'azione di pigmenti accessori è nulla o limitata, e quindi praticamente ininfluente sui risultati.
2. Questa banda dello spettro contiene quanti di luce con minore energia, e ci si aspetta che quasi tutta la loro energia venga utilizzata per i processi fotochimici.





Emerson Red Drop and Enhancement Effect



Emerson osservò che fornendo solo luce a lunghezza d'onda superiore ai 680 nm, l'efficienza del processo fotosintetico in *Chlorella* (un'alga) diminuiva bruscamente (**red drop effect**), mentre era molto alto e costante per lunghezze d'onda tra 600 e 680 nm. Questo poteva essere dovuto al quantitativo di energia troppo basso dei quanti di luce oltre questa lunghezza d'onda.





Tuttavia, egli notò anche che, contrariamente alle sue ipotesi, fornendo contemporaneamente luce delle due lunghezze d'onda (680 e 700 nm) l'effetto non era additivo, ovvero il risultato non era la somma delle due efficienze, come ci si sarebbe potuti aspettare. Al contrario l'efficienza risultava molto maggiore della somma delle due efficienze misurate in condizioni di isolamento. La radiazione a 700 nm, se supplementata da quella a 680 nm, non solo non causava il **red drop**, ma permetteva una migliore efficienza totale del processo fotosintetico (**effetto Emerson**).

Le osservazioni di **Emerson** su *Chlorella* furono completate da **French & Myers** i quali osservarono che le due luci collaborano insieme con effetto più che additivo anche se non vengono date contemporaneamente, bensì separate da un intervallo buio lungo sino a 1 secondo.

La spiegazione più plausibile è che esistano due serie di reazioni fotochimiche distinte che vengono messe in moto a due diverse lunghezze d'onda. Le due reazioni sono però connesse l'una all'altra, anzi una sta a valle dell'altra.





Oggi noi sappiamo che il fotosistema I (che contiene clorofilla a con un picco di assorbimento a 700 nm) da solo funziona, ma ha una efficienza bassa, in quanto non è in grado di produrre tutti i metaboliti necessari alla fase oscura (produce solo ATP, ma non NADPH+, che deve essere prodotto per altre vie, consumando energia).

Le esperienze di **Emerson** e **Arnold** con flash di luce portarono a un'altra importante conclusione. Se si calcola il rapporto tra quantità di ossigeno emessa dalle alghe unicellulari dopo un brevissimo lampo di luce e quantità di clorofilla in esse contenuta si ottiene un valore costante.

La costanza del rapporto “ossigeno : clorofilla” (1 molecola di O₂ prodotto per 2500 molecole di clorofilla nelle particolari condizioni sperimentali dei due ricercatori) suggeriva che fosse necessaria la collaborazione di più molecole di clorofilla per evolvere una sola molecola di ossigeno.



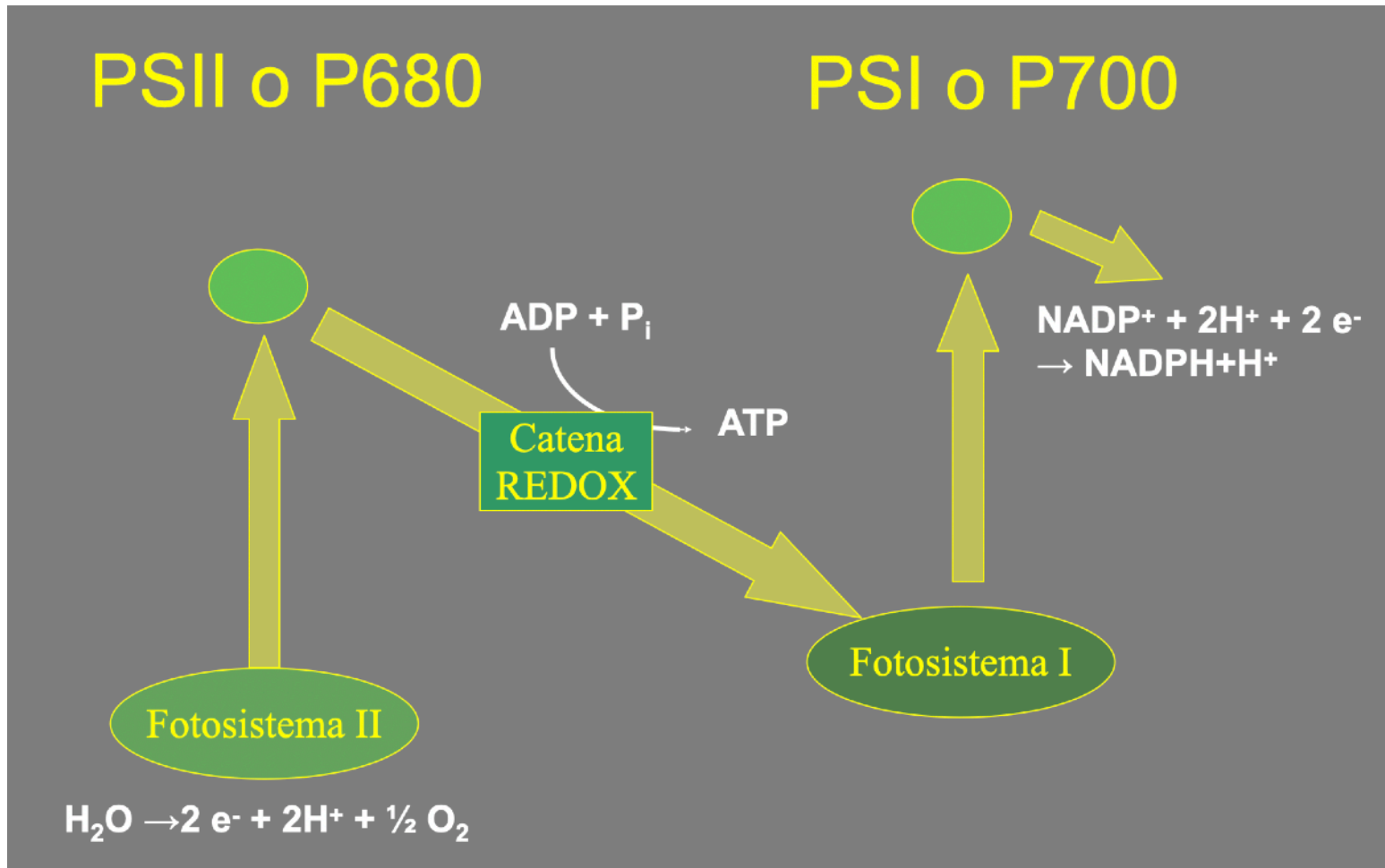


Nasceva così l'idea di
unità fotosintetiche o
FOTOSISTEMI,
che sono di due tipi (I e II).

L'acronimo è **PS**, che sta per
PhotoSystem(s)



Lo schema a Z del trasporto di elettroni tra i due fotosintesi fu proposto per la prima volta da **Hill & Bendall** nel **1959**.





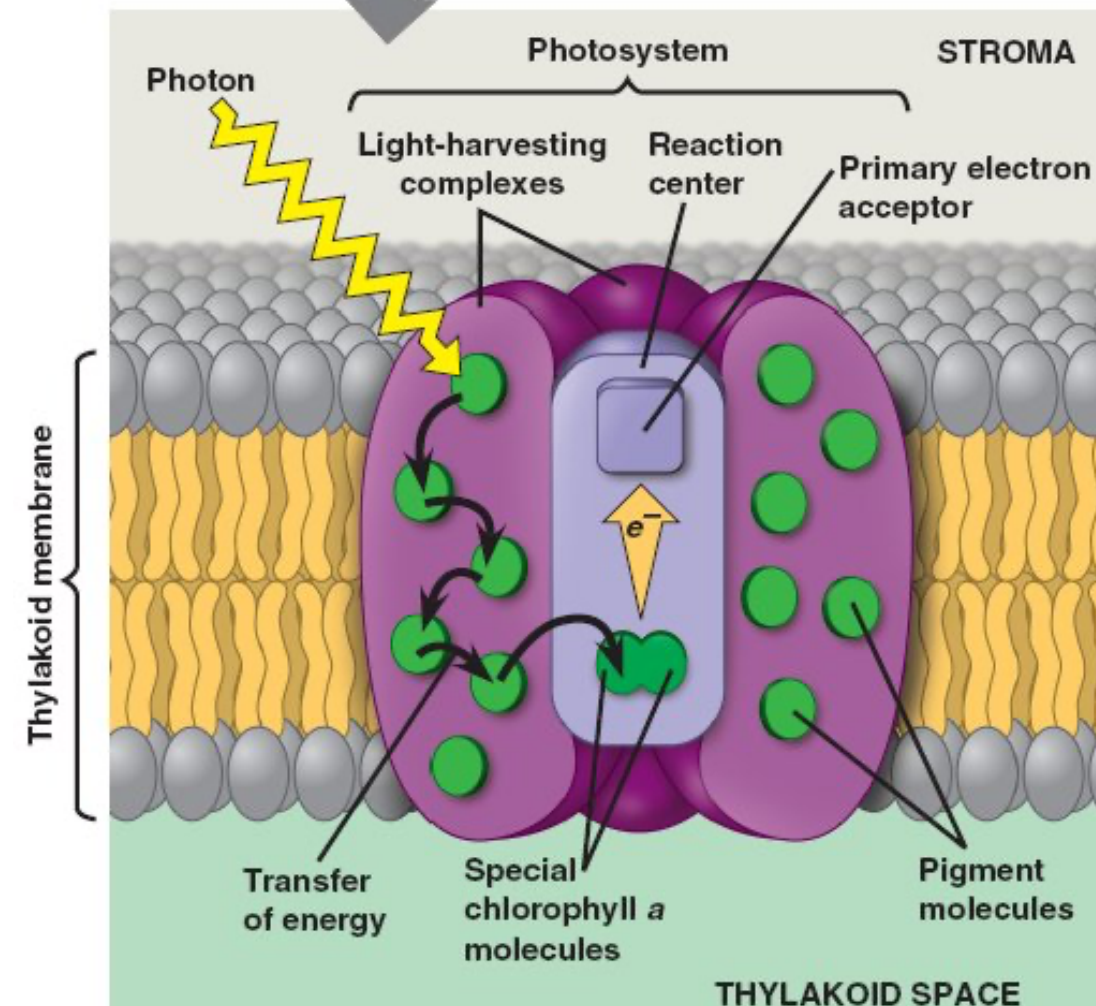
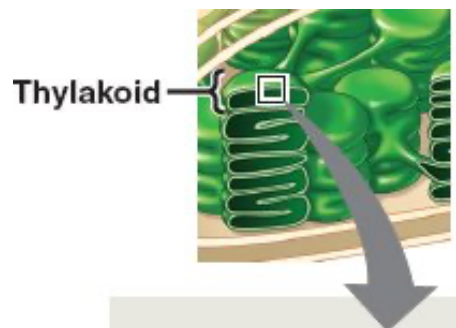
I fotosistemi sono complessi di molecole inseriti nelle membrane tilacoidali dei cloroplasti. Le sigle che li contraddistinguono, P680 e P700, sono le lunghezze d'onda di massimo assorbimento delle clorofille negli “*special pair*” dei centri di reazione.

Ogni fotosistema contiene da 200 a 400 molecole di pigmenti (non solo clorofille), e può essere diviso in un **complesso antenna**, e un **centro di reazione**.

Il ruolo del complesso antenna è quello di “raccolgere” l'energia luminosa, e di convogliare al centro di reazione. Qui, una coppia speciale di molecole di clorofilla a (lo *special pair*) è in grado di trasferire un elettrone a un accettore. Tutte le altre molecole di pigmento invece non hanno questa capacità, e servono esclusivamente per far arrivare l'energia allo *special pair*.

I pigmenti sono mantenuti in posizione nei fotosintesi grazie al legame con specifiche proteine di membrana, che hanno quindi una funzione strutturale.

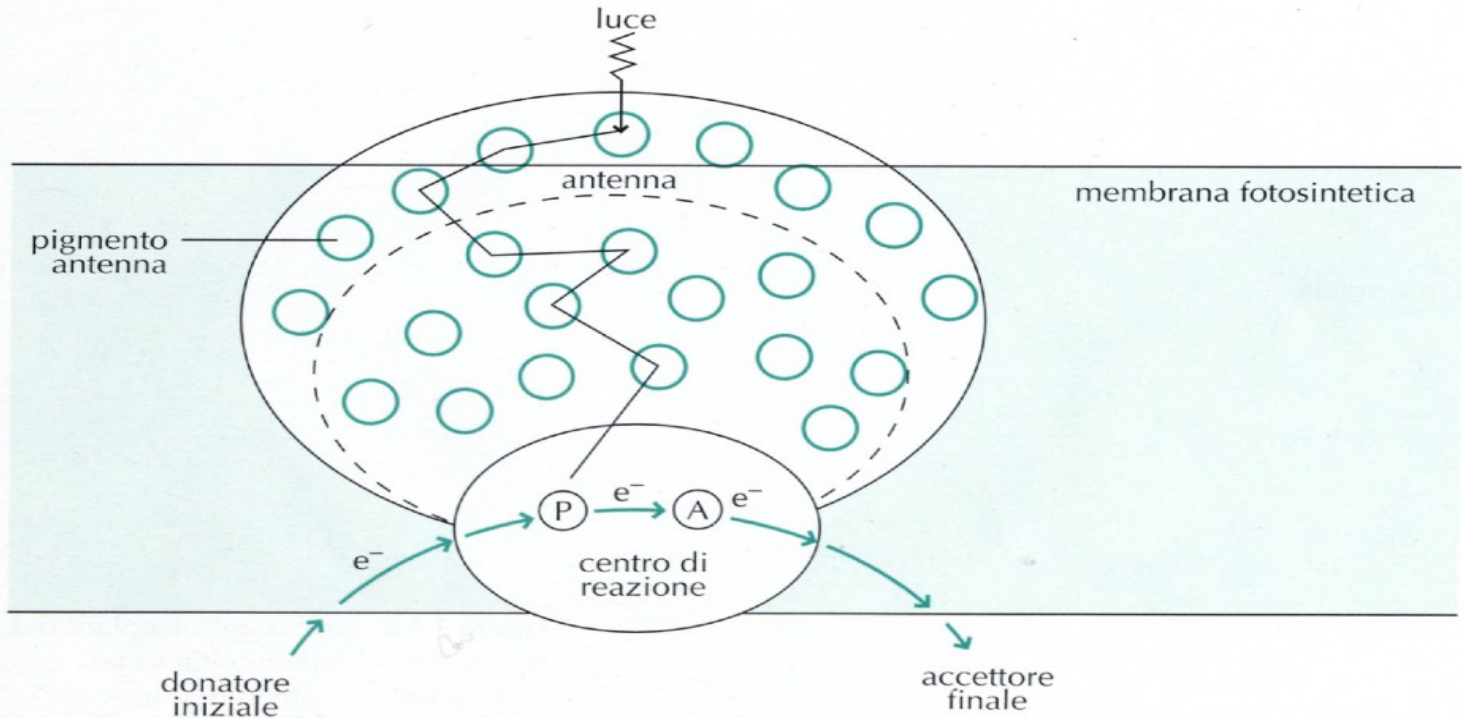


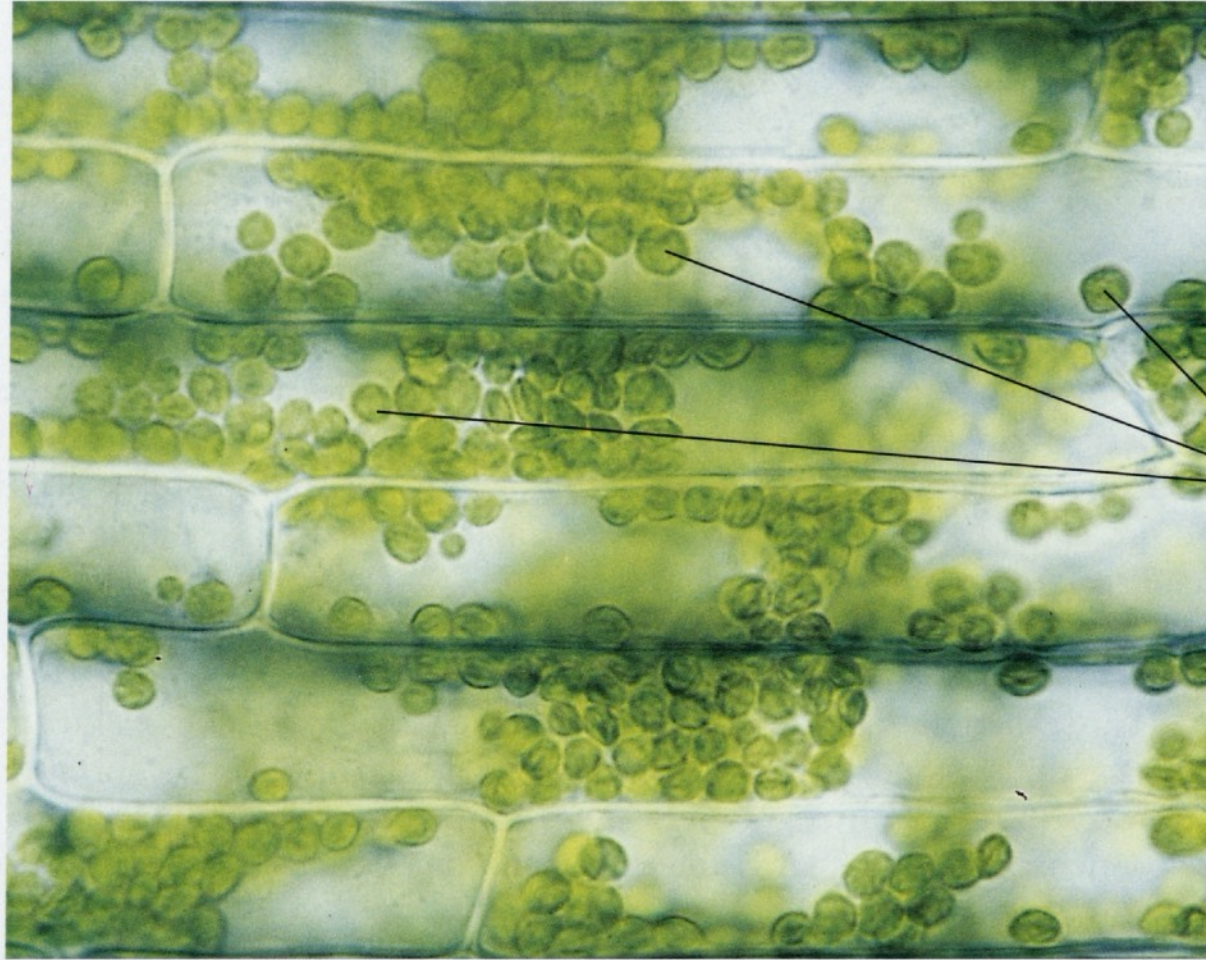


CLOROFILLE
CAROTENOIDI

PROTEINE
STRUTTURALI

FICOBILIPROTEINE (limitate a
Cyanophyta, Rhodophyta, Cryptophyta)

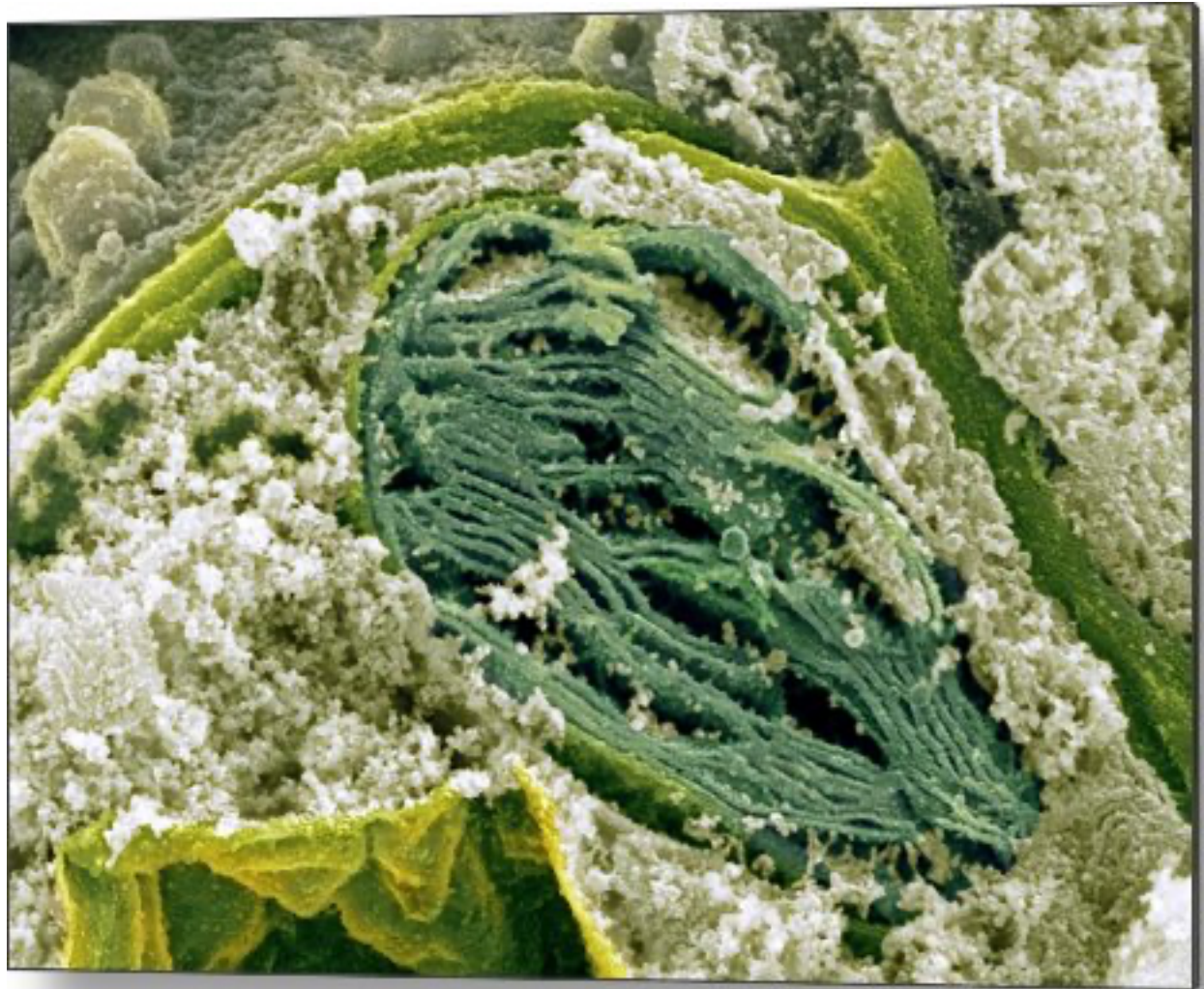


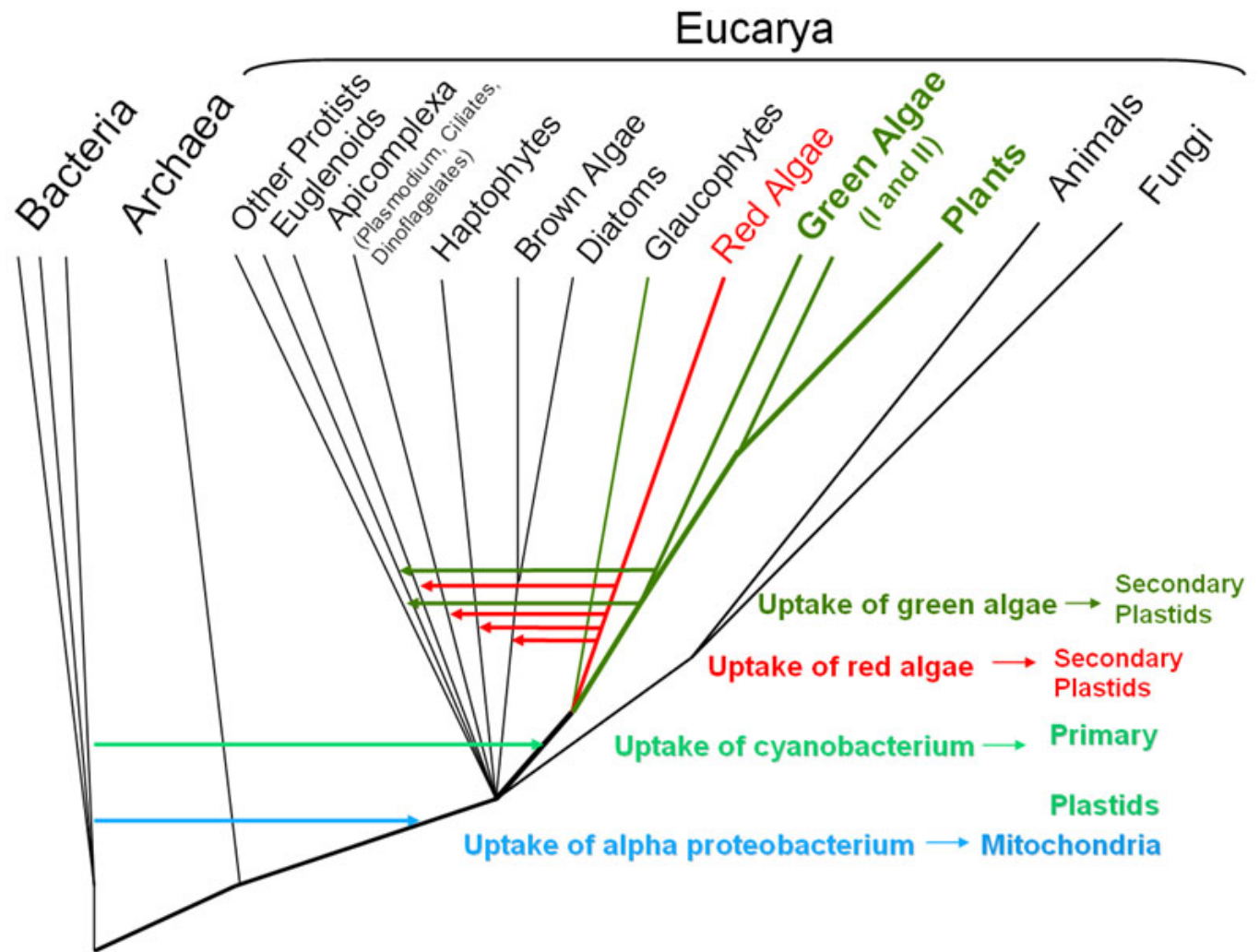


cloroplasti

Cloroplasti nella foglia di peste d'acqua (*Elodea canadensis* Michx., fam. Hydrocharitaceae).
x 1000 (950)





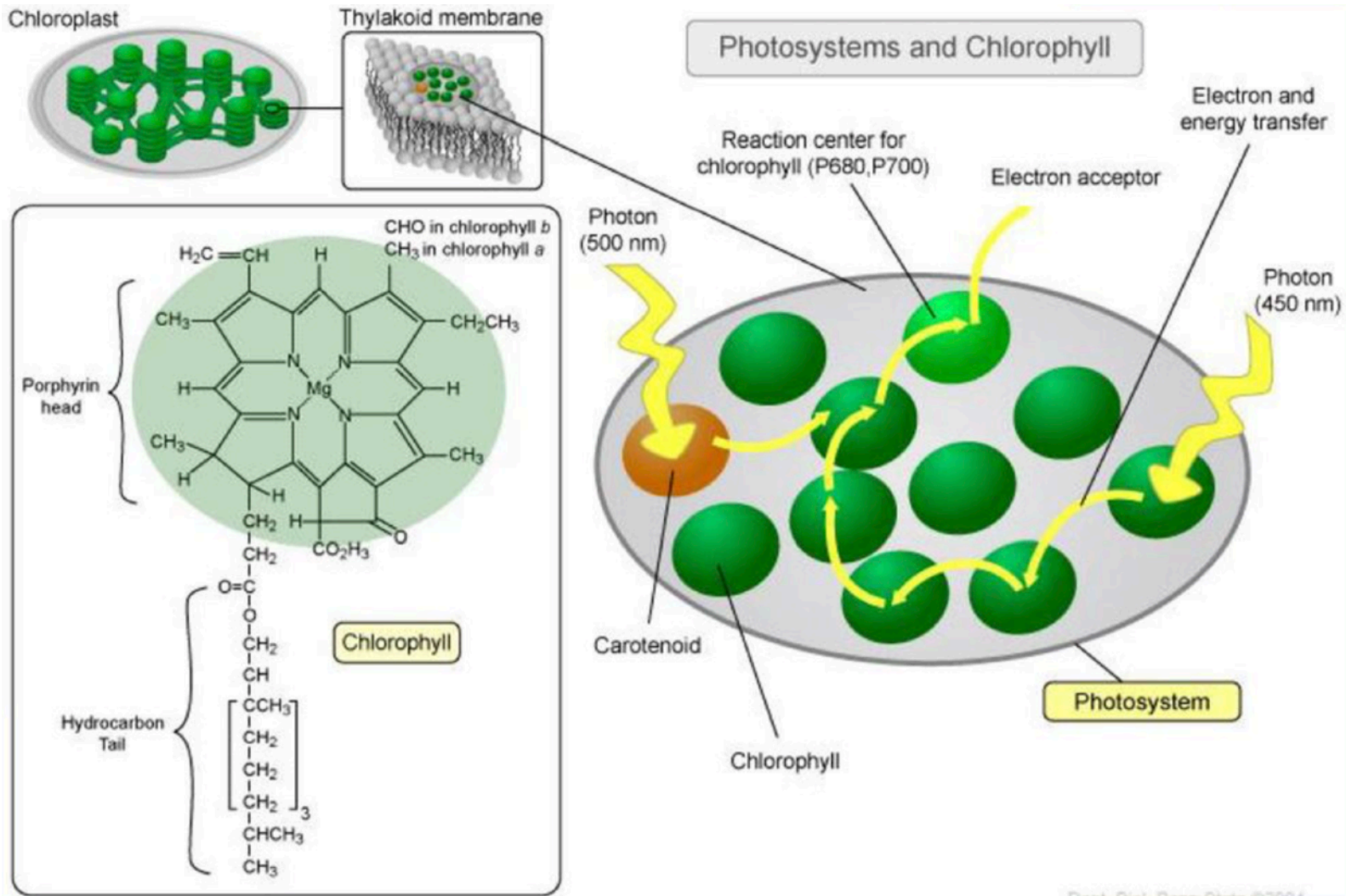




Almeno un nuovo evento, molto recente, di endosimbiosi primaria è stato riscontrato in alcune specie del genere *Paulinella*. Si tratta di organismi ameboidi, in cui l'endosimbiosi di un cianobatterio, probabilmente di un "sister group" dei gruppi di cianobatteri *Synechococcus* è avvenuta in tempi relativamente recenti, tra 60 e 140 milioni di anni fa, se comparati con il primo evento di endosimbiosi, che è datato a circa 1,5 miliardi di anni fa.

Il genoma dei plastidi
in *Paulinella* ha
dimensioni molto più
elevate di quello dei
plastidi più "antichi",
segno che la fase di
riduzione del genoma
conseguente
all'endosimbiosi è
probabilmente
ancora in atto.





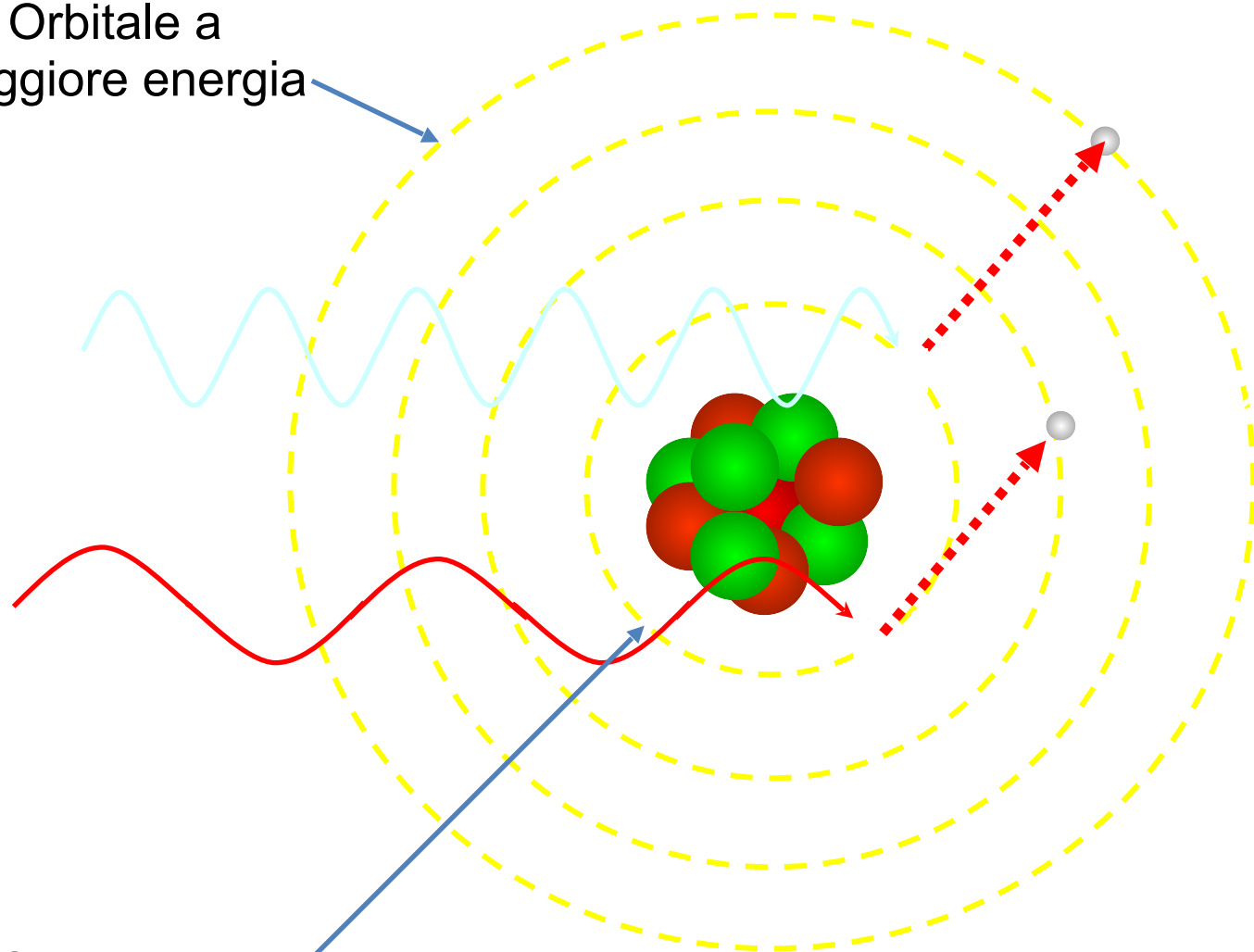
Plant Biol. Penn State ©2004





Orbitale a
maggiore energia

Orbitale a
minore energia





Quando una radiazione elettromagnetica colpisce una molecola, causa una oscillazione elettronica. Se la radiazione ha una lunghezza d'onda pari o superiore a quella della differenza energetica tra due orbitali, può provocare il “salto” di un elettrone da un orbitale a bassa energia ad uno ad alta energia. La molecola ha quindi assorbito il fotone, e passa uno stato “eccitato”.

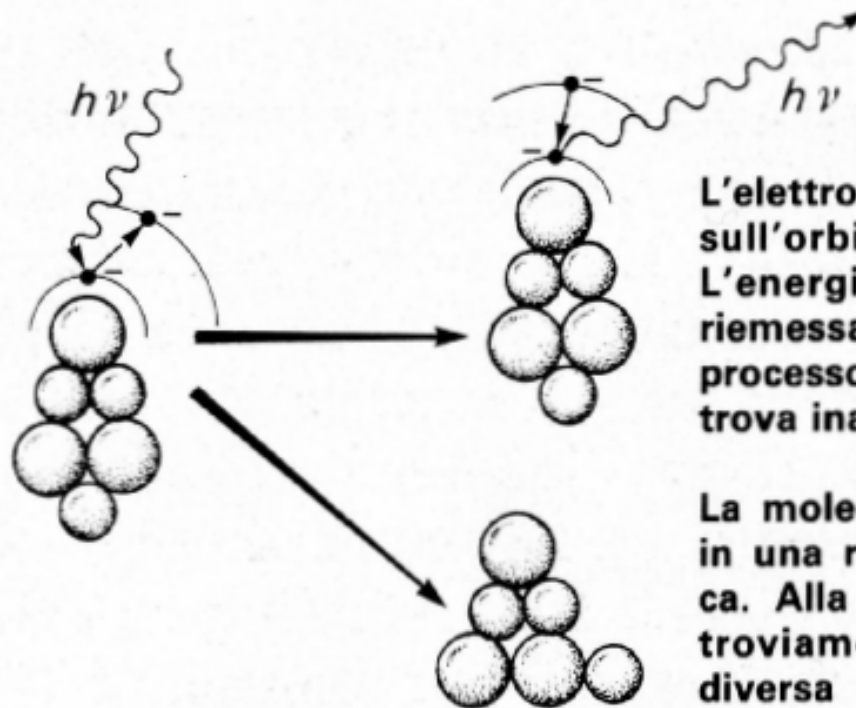
Nel caso dei pigmenti (non solo quelli fotosintetici), la radiazione elettromagnetica deve cadere nel campo del visibile. Per quelli fotosintetici, la lunghezza d'onda massima deve essere di circa 700 nm (anche due vedremo che ci sono alcuni casi particolari, come la clorofilla d).

Una molecola però non può permanere in eterno in uno stato eccitata, e prima o poi restituirà l'energia in qualche forma, come una radiazione elettromagnetica di lunghezza d'onda inferiore.

Tuttavia, i pigmenti fotosintetici possono anche comportarsi in modo diverso.



ULTRAVIOLETTO E VISIBILE : eccitazione elettronica



L'elettrone può ricadere sull'orbitale originario. L'energia assorbita viene riemessa. Alla fine del processo la molecola si ritrova inalterata.

La molecola eccitata entra in una reazione fotochimica. Alla fine del processo troviamo una molecola diversa da quella di partenza.

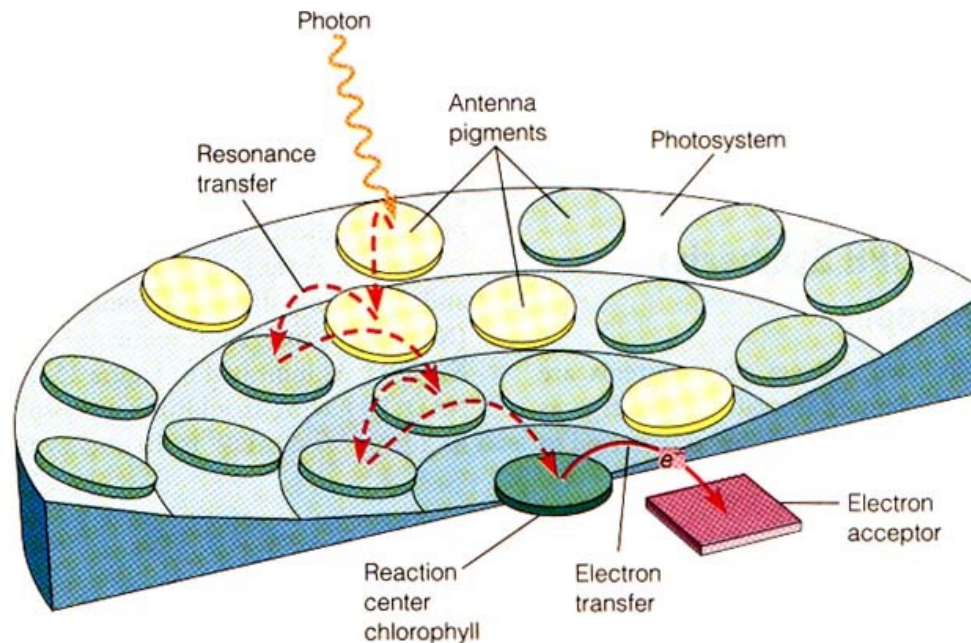


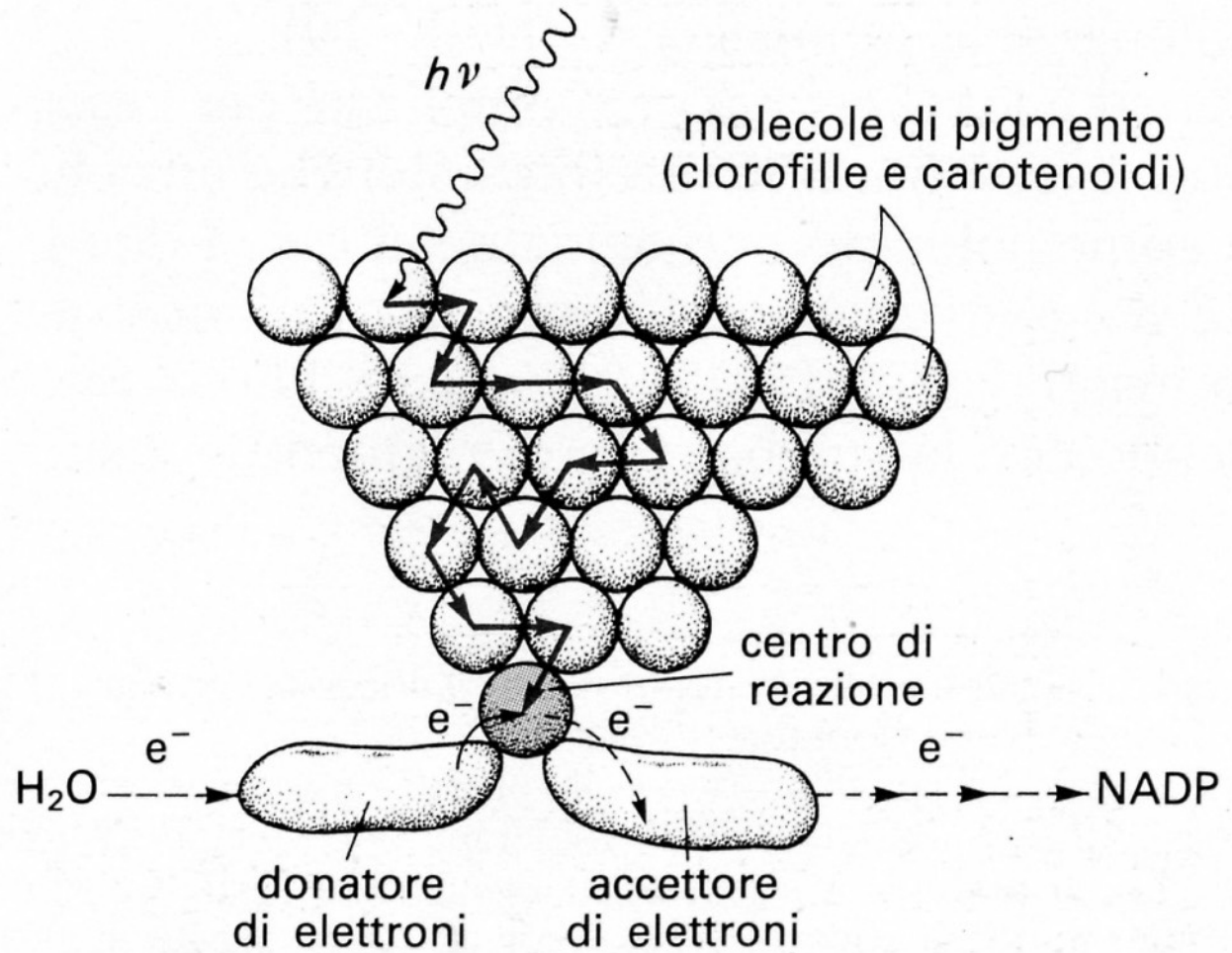


I pigmenti fotosintetici hanno la capacità di trasferire l'energia per risonanza induttiva, senza perdere l'elettrone.

Tuttavia le due clorofille dello special pair nel centro di reazione sono in grado di ossidarsi, trasferendo un elettrone a un accettore primario.

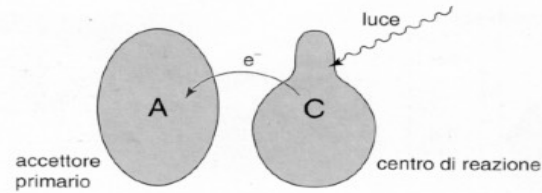
Perché il centro di reazione possa di nuovo funzionare, a questo punto, è necessario che la molecola di clorofilla venga ridotta, ottenendo un nuovo elettrone a sostituzione di quello perso.



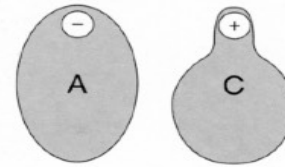




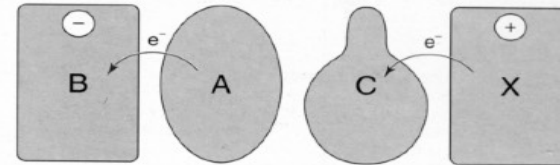
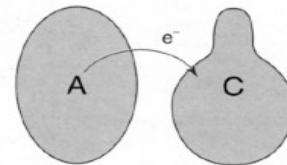
- ① Il centro di reazione eccitato cede un elettrone all'accettore primario.



- ② Risultato: il centro di reazione che ha perso un elettrone acquista una carica positiva, l'accettore primario che ha preso un elettrone acquista una carica negativa.

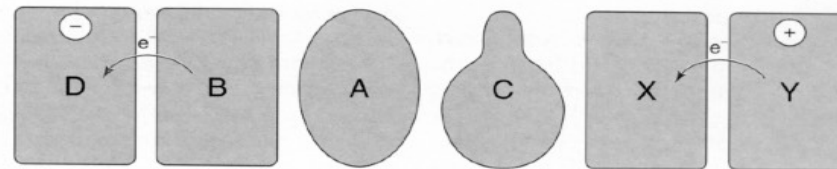


NO!



- ③ Ci si potrebbe aspettare che l'accettore primario restituisca rapidamente l'elettrone al centro di reazione. In tal modo le due opposte cariche elettriche del sistema si neutralizzerebbero.

- ④ Questo invece non avviene... per mancanza di tempo. Infatti A cede rapidamente l'elettrone a un altro accettore B. Contemporaneamente il centro di reazione riacquista l'elettrone perduto da un donatore X. Risultato: ci sono ancora due cariche opposte, ma esse si sono allontanate.



- ⑤ Il processo si ripete. Le opposte cariche si allontanano sempre di più.

Fig. 13.19 • In seguito all'eccitazione del centro di reazione si forma una coppia di cariche elettriche: il centro di reazione perde un elettrone e quindi acquista una carica positiva mentre un accettore riceve un elettrone e quindi acquista una carica negativa. Una volta terminato lo stato di accettazione le due cariche non si riuniscono nuovamente perché migrano verso molecole sempre più lontane fra loro.






Il “donatore” di elettroni, nel caso della fotosintesi ossigenica, è l’acqua. Questa, scissa tramite fotolisi nel fotosistema II, libera 1 elettrone (e^-), 1 protone (H^+), e OH, con l’ossigeno ossidato da -2 a -1. L’elettrone va quindi a “ricaricare” la clorofilla a del centro di reazione.

Il destino dell’OH è quello di unirsi a un altro OH, liberando acqua e un protone, e riportando l’ossigeno allo stato ridotto (-2), e “mezza” molecola di ossigeno, che verrà presto unita a un’altra metà per liberare ossigeno gassoso (meccanismo non ancora chiarito completamente).

Il fotosistema I, invece, non riceve elettroni dall’acqua (la fotolisi è “esclusiva” del fotosistema II), ma da una catena di trasporto degli elettroni che proviene dal fotosistema II.

In questo modo, si instaura un processo non ciclico di trasferimento di elettroni dall’acqua ai due fotosintesi, elettroni che saranno usati per ridurre il $NADP^+$ a NADPH.



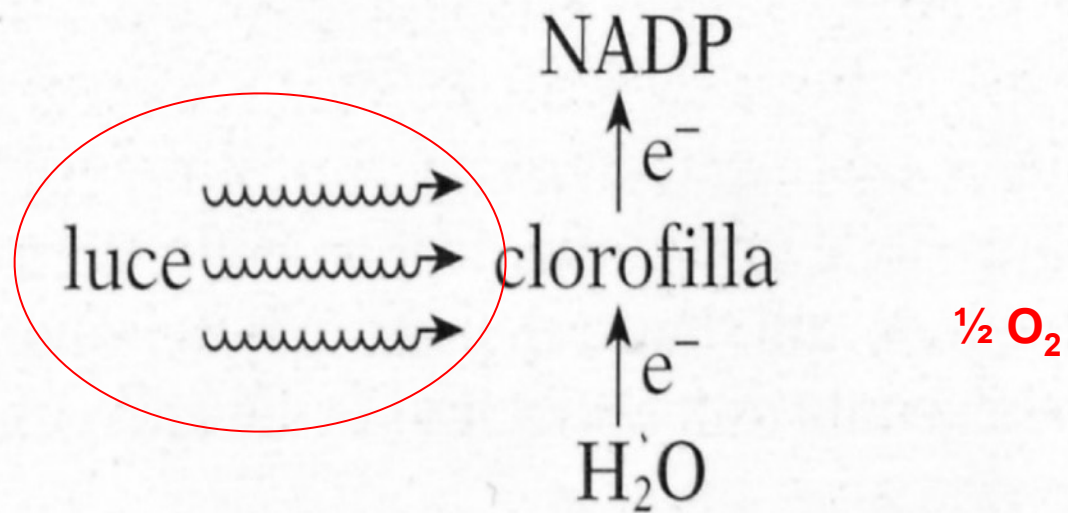


In conclusione, il donatore iniziale di elettroni è l'ossigeno dell'acqua, che si ossida (nei tilacoidi), e l'accettore finale è il NADP⁺ (nello stroma dei cloroplasti).



Un sistema ossidoriduttivo avente un potenziale fortemente negativo (NADPH+H⁺ / NADP⁺: E'₀ = -0,32 V) è di fatto ridotto ad opera di un sistema ossidoriduttivo con potenziale estremamente positivo (H₂O/½O₂: E'₀ = +0,82 V), e quindi richiede energia per avvenire.







La produzione dell'**NADPH+H⁺** è in ultima analisi un processo ossido-riduttivo che avviene grazie al cambiamento di stato dei centri di reazione: questi diventano “generosi” quando sono eccitati, cedendo un elettrone ad un accettore, che si riduce, l'ultimo dei quali è l'**NADP⁺**.

Il salto energetico tra la coppia **H₂O / NADPH+H⁺** è così elevato, che abbiamo bisogno di due cambiamenti di *status* ossidoriduttivo, e quindi di due fotosistemi.

Infatti quando il fotosistema I funziona da solo (fotososforillazione ciclica) non produce NADPH, ma solo **ATP**.



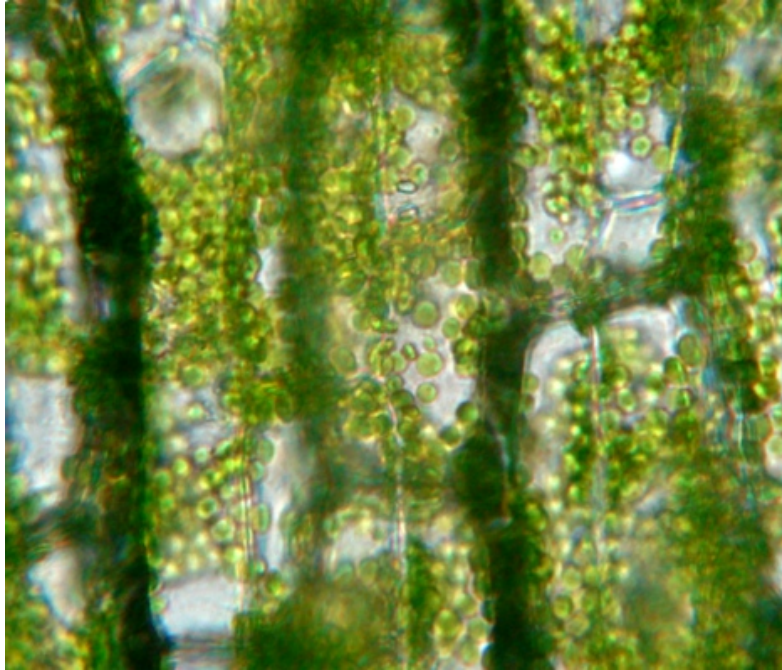
Clorofilla *a* (Chl *a*)

Tipo di clorofilla di colore verde-blu presente in (quasi?) tutti gli organismi con fotosintesi OSSIGENICA, dove partecipa come pigmento primario alla captazione dell'energia luminosa.

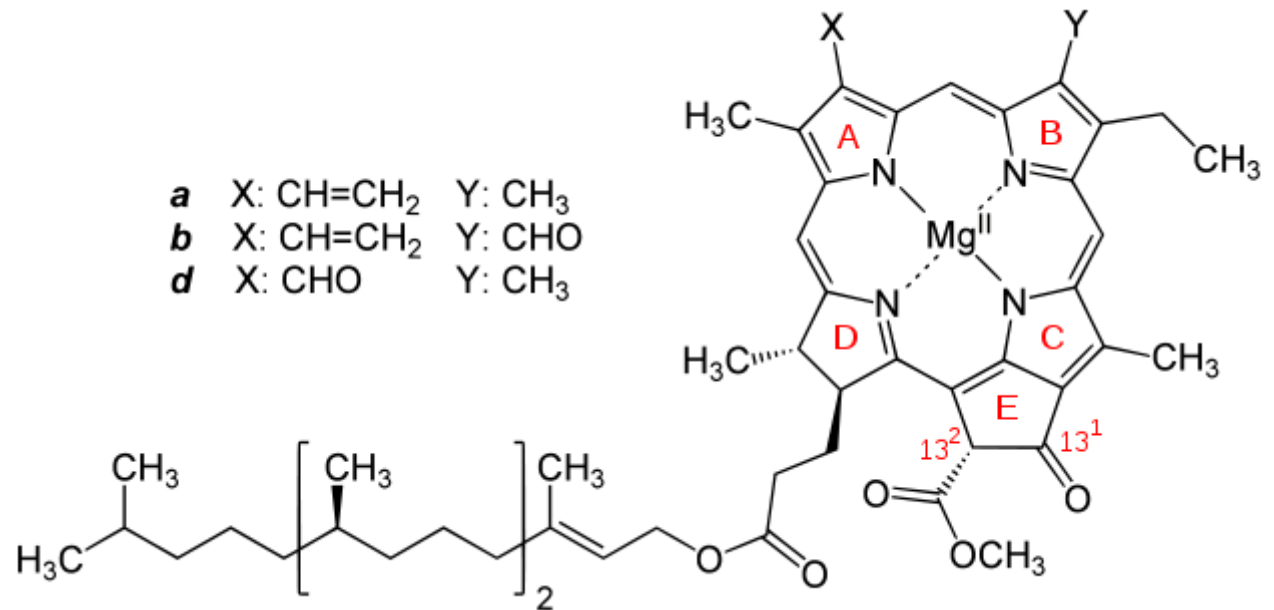
La molecola della clorofilla *a* è costituita da 4 anelli pirrolici sostituiti, uno dei quali ridotto, e da una lunga catena laterale terpenoide (fitolo); i due gruppi acidi sono esterificati uno dall'alcool metilico e l'altro dal fitolo.

La molecola che ne risulta presenta un polo idrofilo, quello con il nucleo tetrapirrolico, ed uno idrofobo, quello con il fitolo. Nei solventi organici presenta un massimo di assorbimento della luce alla lunghezza d'onda intorno a 430 e 660 nm. Ciò significa che assorbe la luce rossa e blu mentre la verde viene riflessa: ecco perché le foglie sono verdi!



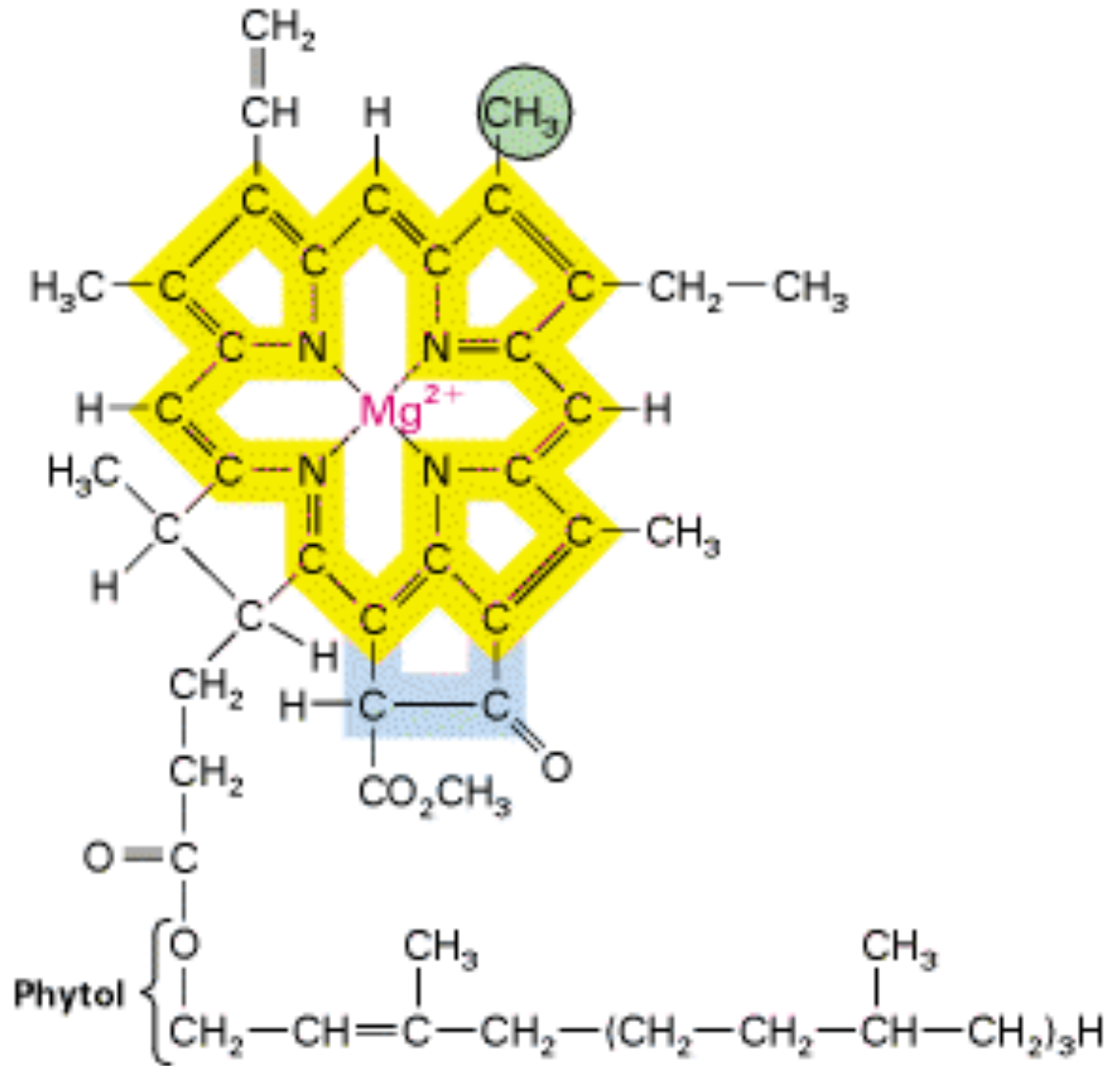


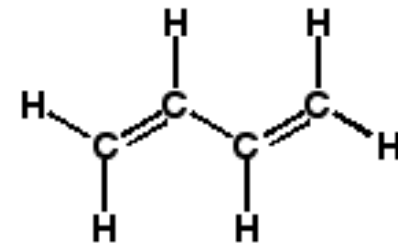
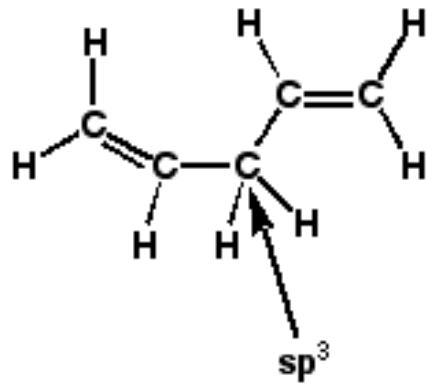
- a** X: CH=CH₂ Y: CH₃
b X: CH=CH₂ Y: CHO
d X: CHO Y: CH₃



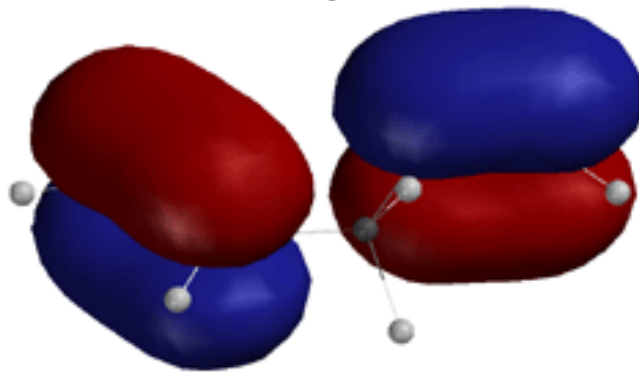


Chlorophyll a

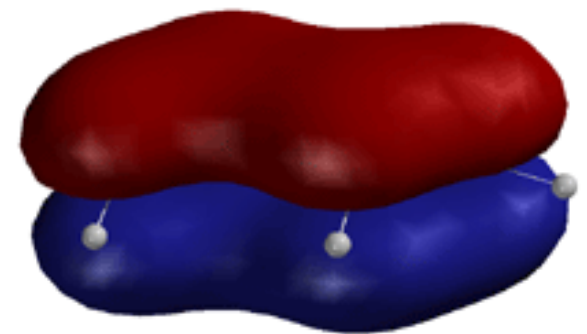




All carbon atoms sp^2



Non-conjugated π system
(π bonds do not interact)



Conjugated π system
(Electron density
delocalized over all
four carbon atoms)





Evoluzione della fotosintesi



La terra si è formata circa 4,5 miliardi di anni fa.

Nei primi 500 milioni di anni circa, è stata bombardata lasciata meteorici, che hanno reso la sua superficie troppo tormentata (e calda) per ospitare la vita.

Tuttavia, queste hanno probabilmente portato sul pianeta:

i) materia organica di origine extraterrestre

ii) acqua

iii) azoto molecolare.

Questo “bombardamento a tappeto” cessò probabilmente circa 4 miliardi di anni fa. Gli esperti sono abbastanza concordi nel credere che le prime forme di vita si siano quindi sviluppate circa 3,8 miliardi di anni fa.

Le condizioni sul pianeta, a questo stadio del suo sviluppo erano le seguenti: ossigeno quasi assente dall'atmosfera (ca. 0,001%, contro circa il 21% attuale); altissime concentrazioni di anidride carbonica, con conseguente effetto serra. La convinzione che vi fosse anche molto metano sembra oggi non essere più supportata dai ricercatori.



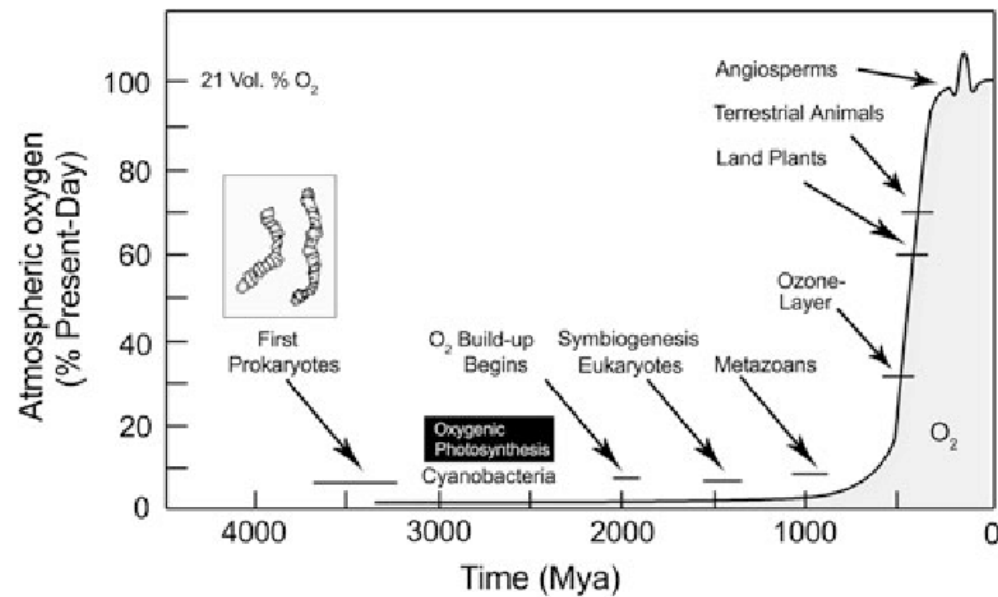
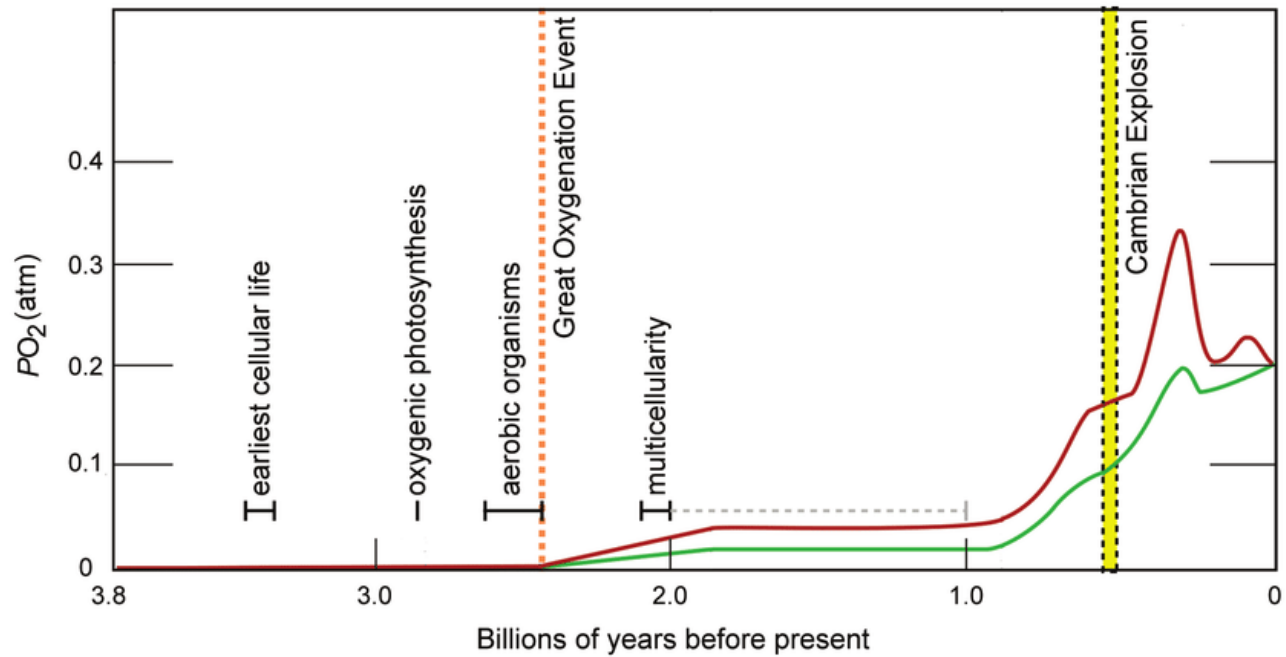


L'effetto serra garantito dalle alte concentrazioni di anidride carbonica in questa fase della vita del pianeta fu probabilmente molto importante, visto che il sole era nei suoi primi stadi di sviluppo, e emetteva un quantitativo di energia che doveva essere circa 80% di quello attuale.

Le prime evidenze di fotosintesi vengono oggi fatte risalire a circa 3,6 miliardi di anni fa. Tuttavia, la fotosintesi ossigenica, ovvero quella che prevede la rottura di acqua e la liberazione di ossigeno, viene fatta risalire a tempi più recenti, circa 2,8-3 miliardi di anni fa, con la comparsa di alcuni primitivi cianobatteri.

Di conseguenza, una massiccia immissione di ossigeno in atmosfera non è iniziata probabilmente prima di 3 miliardi di anni fa. Inoltre, a causa della grande quantità di gas e altri materiali riducenti sul pianeta, il livello di ossigeno iniziò a crescere molto lentamente all'inizio, tanto che si stima che rimase circa a 1% nell'atmosfera fino a 1 miliardo di anni fa.

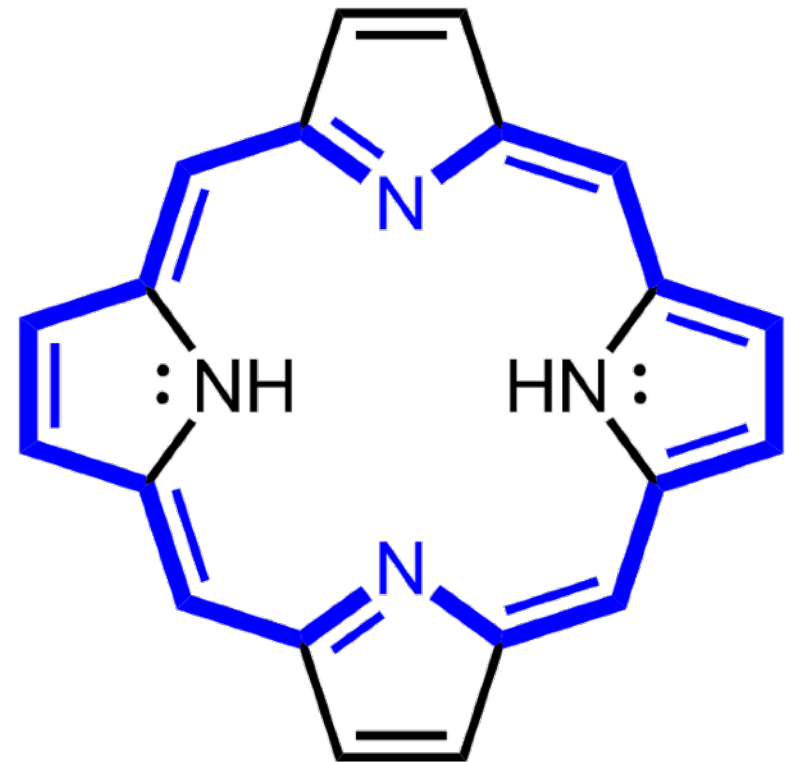




La comparsa dei primi eucarioti fotosintetici viene fatta risalire a circa 2-1,8 miliardi di anni fa.

L'evoluzione dei primissimi batteri fotosintetici sembra sia dovuta in particolare a molecole quali porfirinogeni e porfirine.

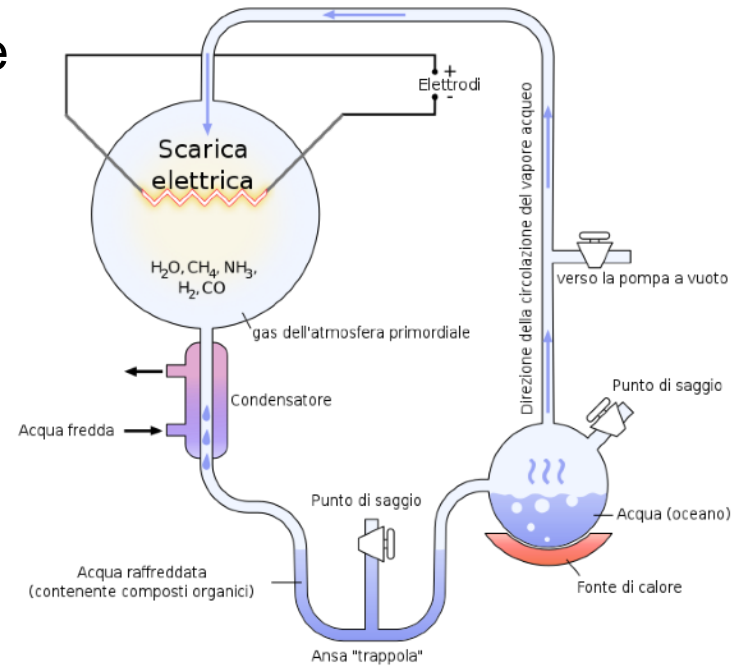
I porfirinogeni sono composti che si trovano in natura, e che erano prodotti in quantità probabilmente nei primi stadi di evoluzione del pianeta. Essi sono i precursori delle porfirine, che a loro volta sono la base per la costruzione di diverse molecole organiche quali citocromi, eme, clorofille, vitamina B, etc.





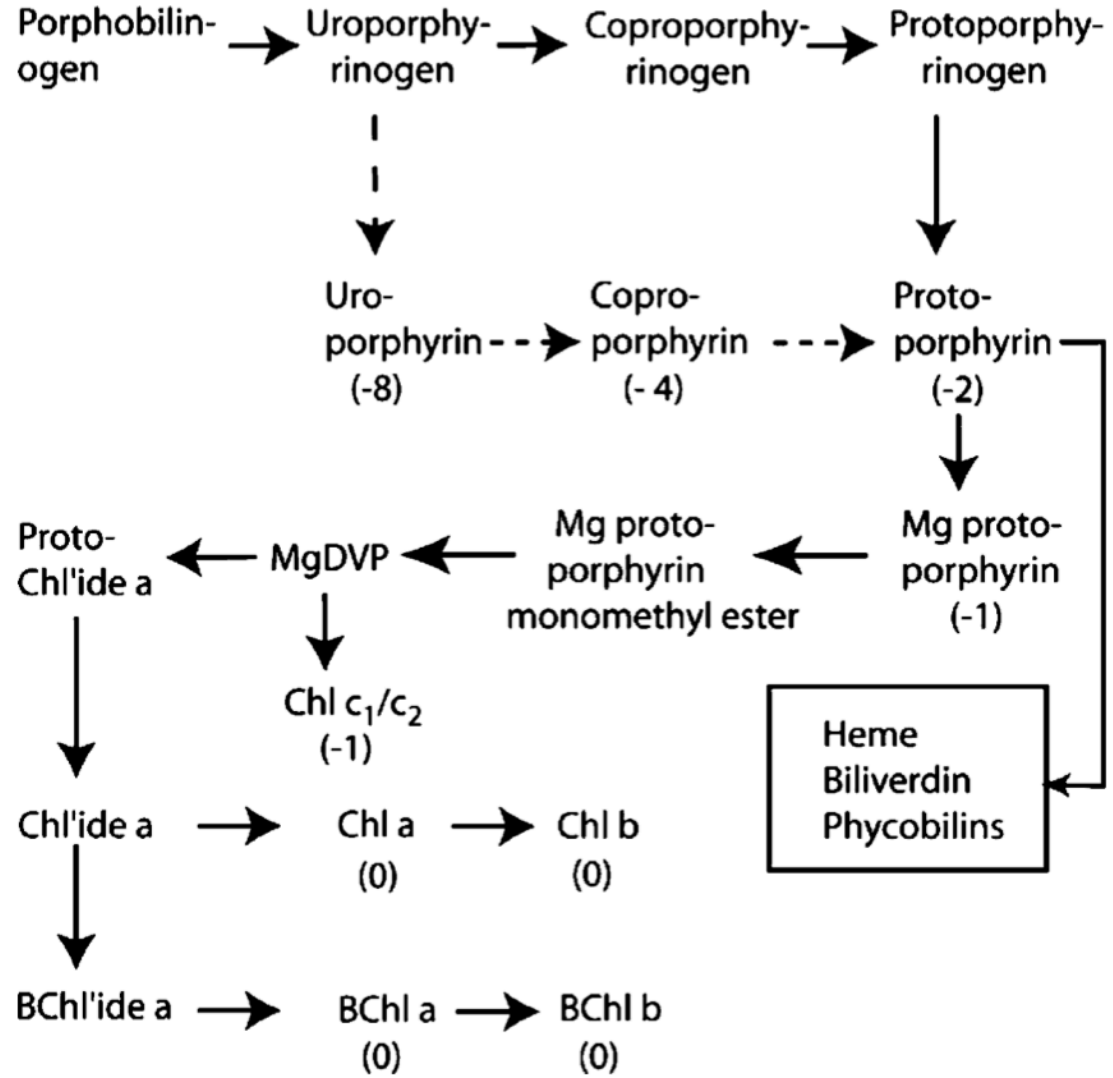
Le porporine sono colorate, e hanno un picco principale di assorbimento nel violetto (400-410 nm), e altri 4 caratteristici picchi minori nel verde.

Siccome porfirine furono prodotte nell'esperimento di Urey e Miller, negli anni 50, è facile immaginare che queste molecole fossero abbondanti nel brodo primordiale del pianeta, e che quindi fossero le prime molecole capaci di assorbire la luce a essere usate da alcuni primitivi organismi fotosintetizzanti. È stato suggerito che un primo meccanismo di pompa redox alimentata dalla luce fosse capace di generare un gradiente protonico ossidando composti organici e riducendo ioni ferrici (Fe^{3+}).



esperimento di Urey e Miller

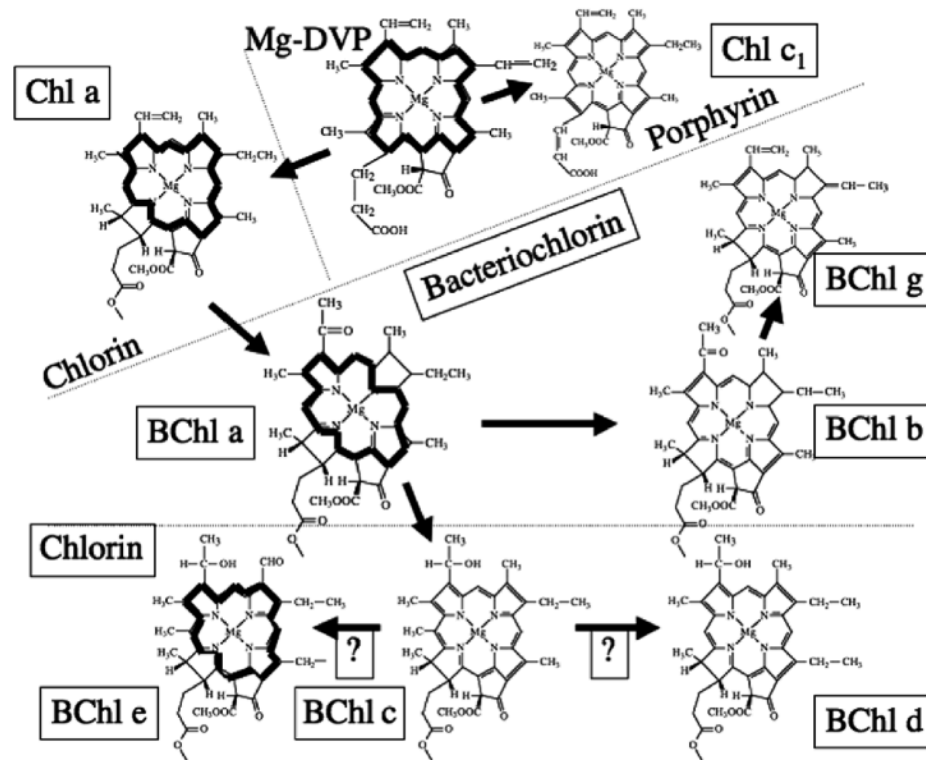




I primi pigmenti fotosintetici “moderni” furono probabilmente delle porfirine chelanti magnesio (Mg^{2+}), che portò a un notevole aumento della loro efficienza.

Sembra ora possibile che da queste molecole si siano originate prima le clorofille c che la clorofilla (Chl) a e b, e le batterioclorofille (BChl).

Esistono tuttavia diverse contrastanti ipotesi su quale forma di clorofille si sia evoluta prima.





Da questo punto in poi l'evoluzione dei pigmenti fotosintetici diviene ancor più incerta.

Anche la relativa certezza del ruolo fondamentale della Chl a in entrambi i fotosistemi, ove si credeva fosse l'unica clorofilla a formare lo "*special pair*", è stata recentemente messa in dubbio dalla scoperta della Chl d (P740), che invece forma come omodimero lo *special pair* nel fotosistema I, e probabilmente come eterodimero con la clorofilla a nel fotosistema II del cianobatterio *Acaryochloris marina*.

Questa scoperta è stata in un certo senso rivoluzionaria, perché ha dimostrato non solo che il ruolo esclusivo della Chl a non è tale, ma che anche radiazioni nel rosso lontano sembrano contenere fotoni con energia sufficiente ad attivare il processo fotosintetico.

L'adattamento che ha portato alla selezione di organismi con clorofilla d da un indubbio vantaggio in ambienti dove la luce disponibile è quella già filtrata da altri organismi fotosintetizzanti con clorofilla a.

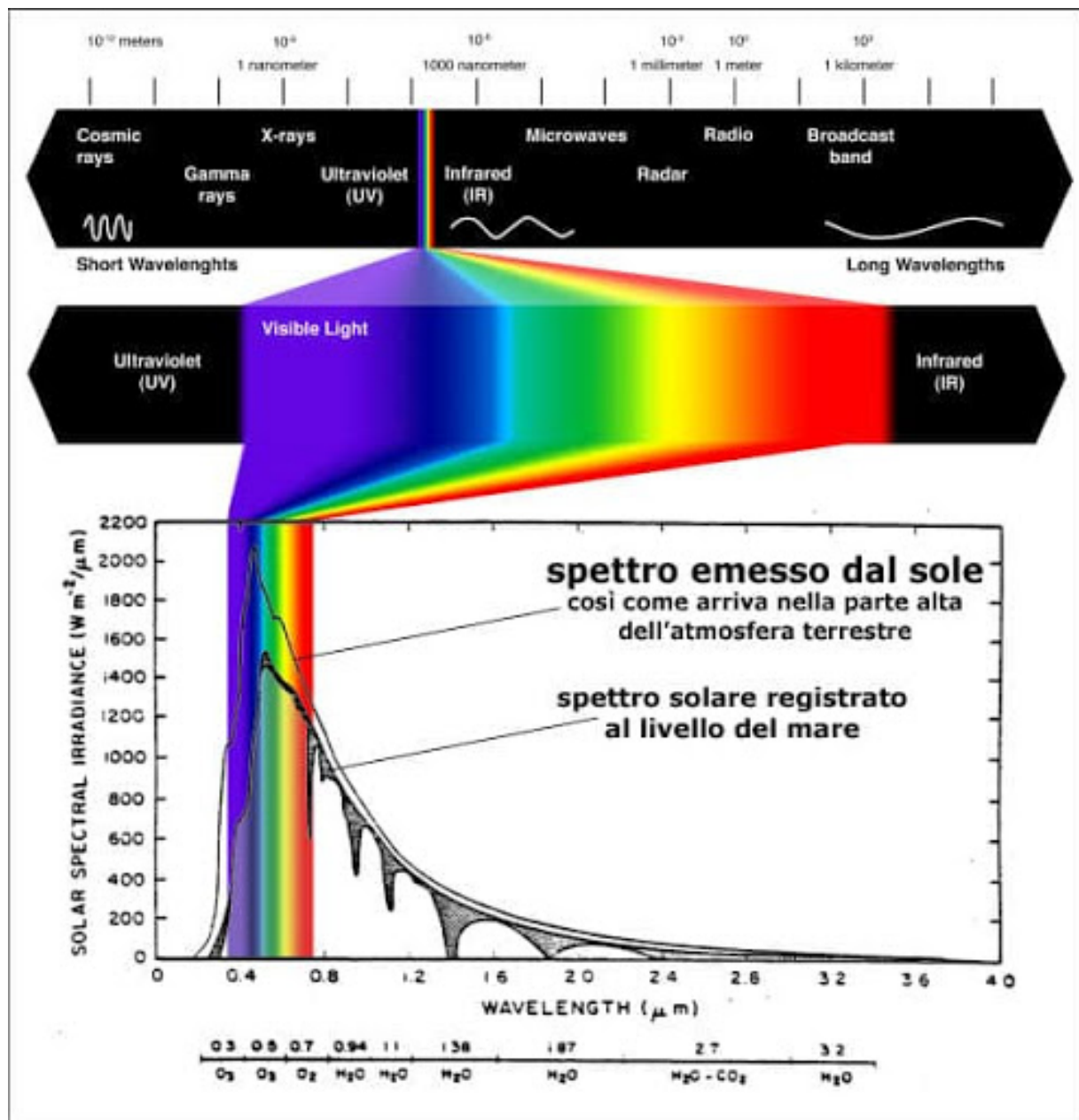


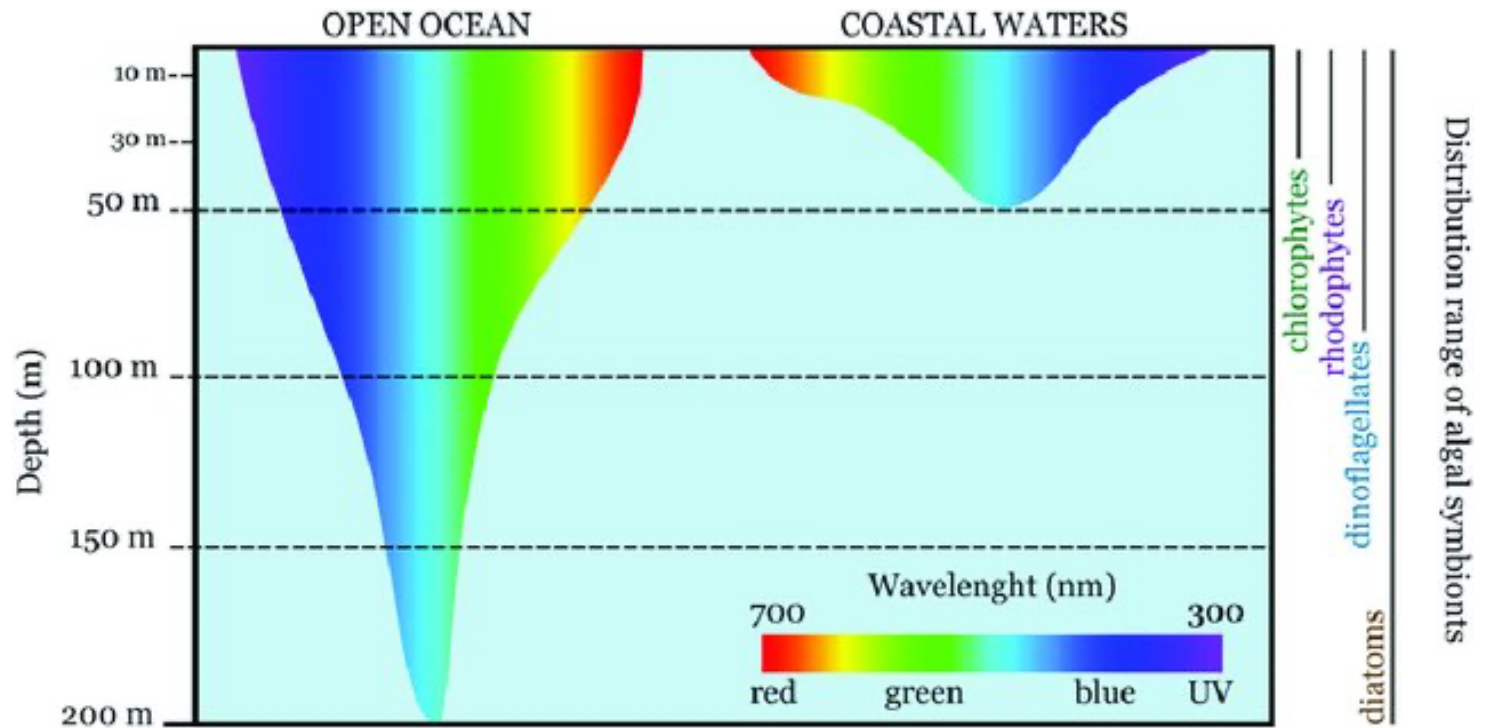


Perché queste lunghezze d'onda?

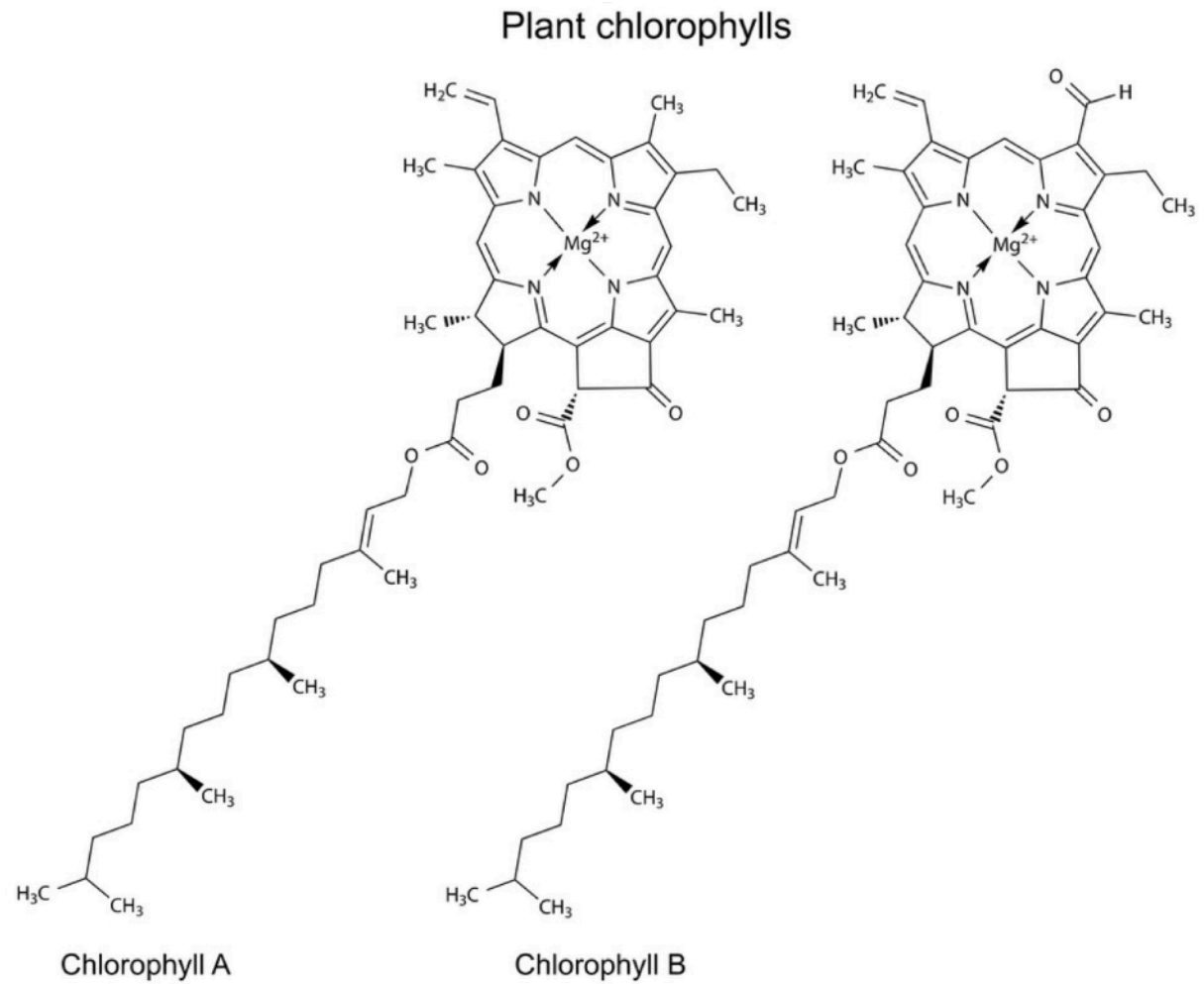
Perché la fotosintesi si è evoluta per sfruttare proprio queste, e non altre, magari più ricche di energia?





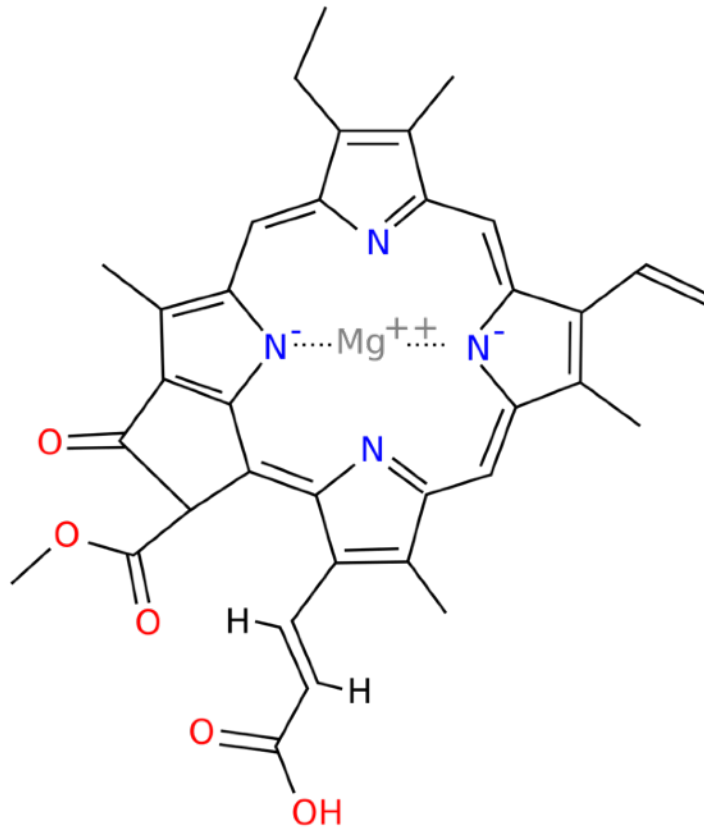


Tuttavia, come detto, non esiste solo la clorofilla a....

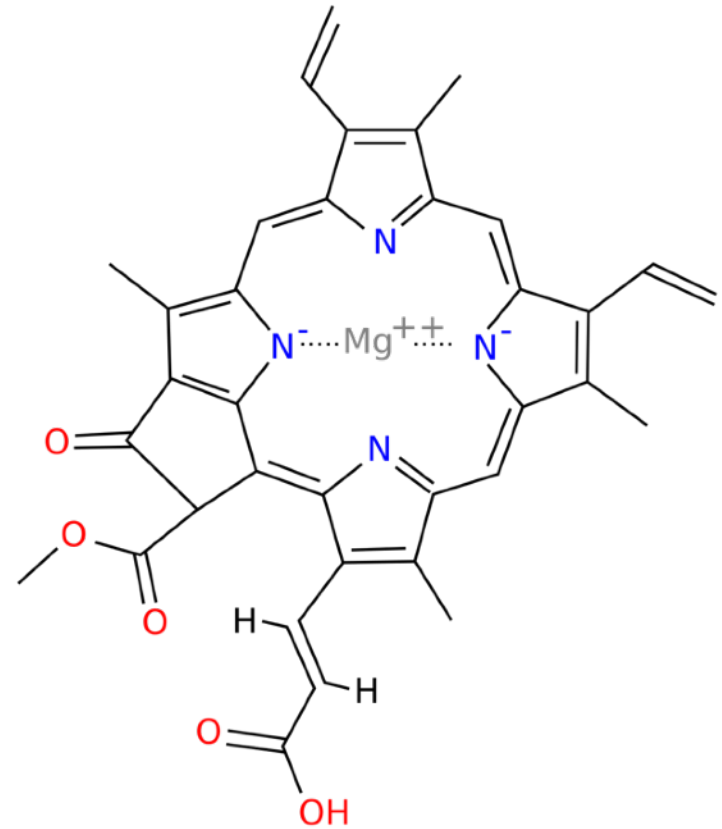


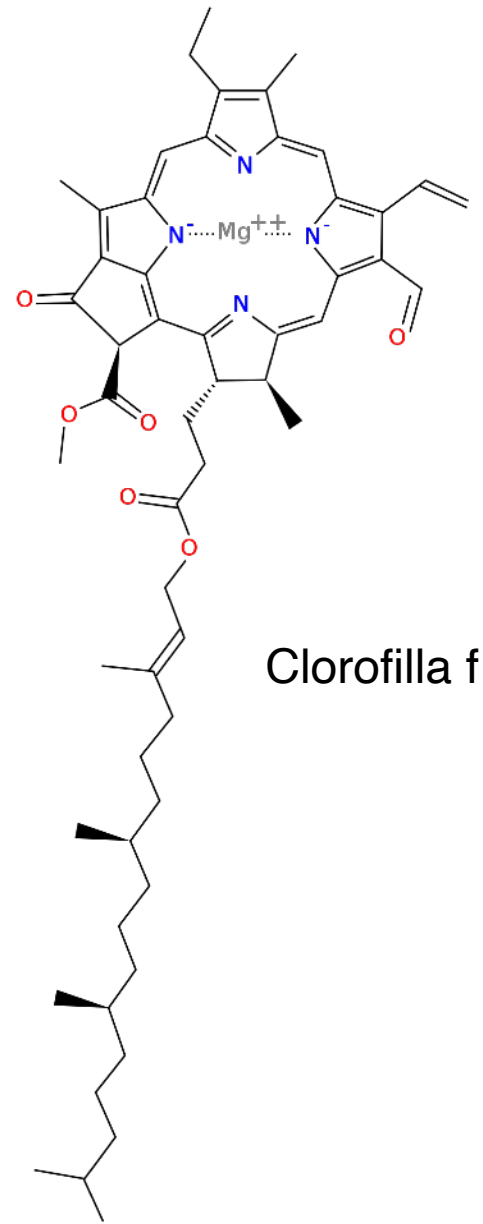
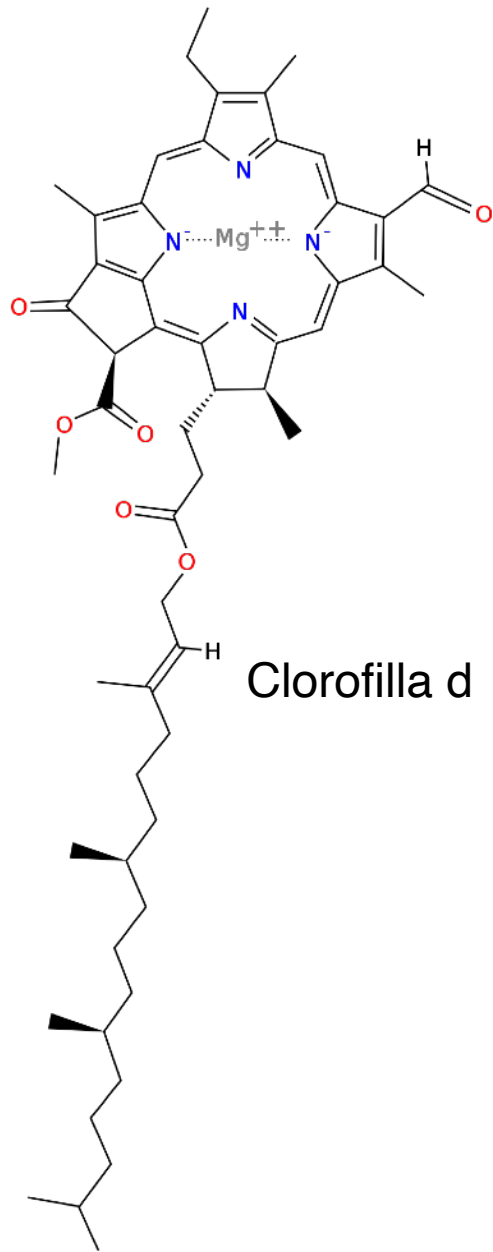


Clorofilla c1



Clorofilla c2







La clorofilla a è universale, presente in tutti gli organismi fotosintetizzanti. Le altre invece sono limitate a alcuni gruppi di organismi. La clorofilla b è presente principalmente nelle piante, mentre le c sono presenti nelle alghe. Le clorofille d e f sono presenti solo nei cianobatteri.

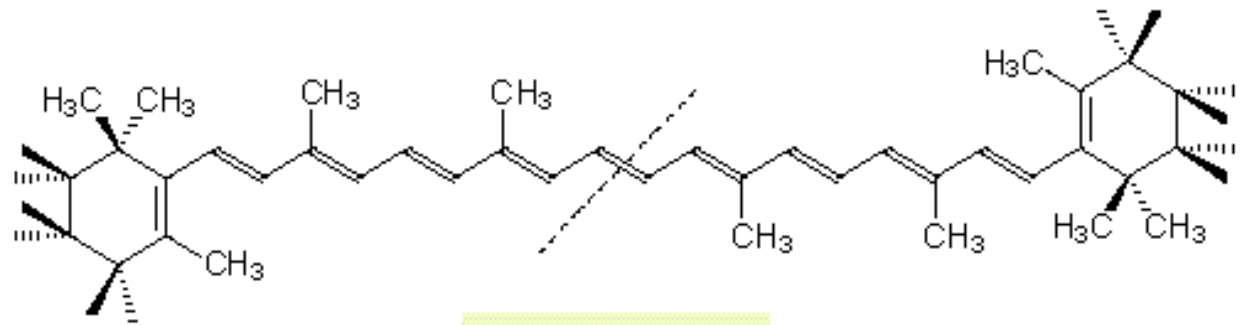
Lo special pair del centro di reazione è sempre composto da una coppia di molecole di clorofilla a, tranne come detto nel cianobatterio *Acaryochloris marina*.

Oltre alle clorofille, ci sono poi altri pigmenti accessori, che sono i carotenoidi e le ficobiline. Questi hanno il ruolo aiutare le clorofille a intercettare diverse lunghezze d'onda, ampliando il range di assorbimento dei sistemi antenna dei fotosistemi.

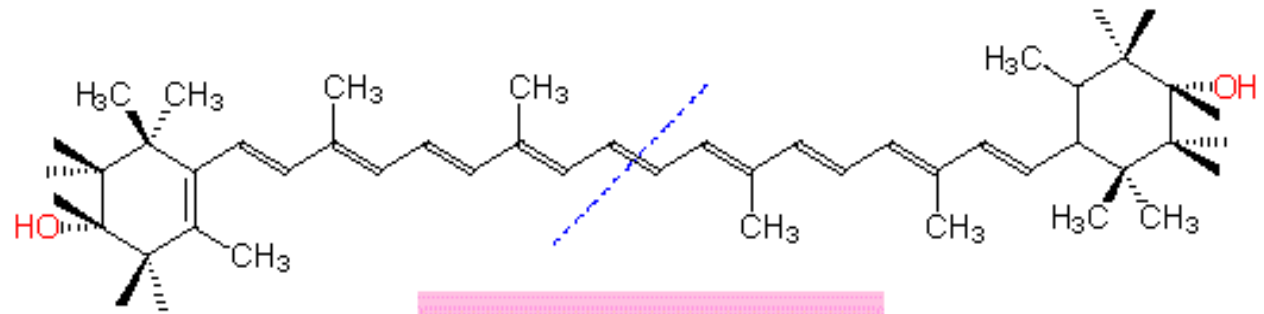
I carotenoidi hanno però anche un ruolo fondamentale nel prevenire danni fotossidativi alle molecole di clorofilla.

Nei cloroplasti sono presenti normalmente due tipi di carotenoidi: i caroteni e le xantofille.





β - carotene



lutein (xanthophyll)

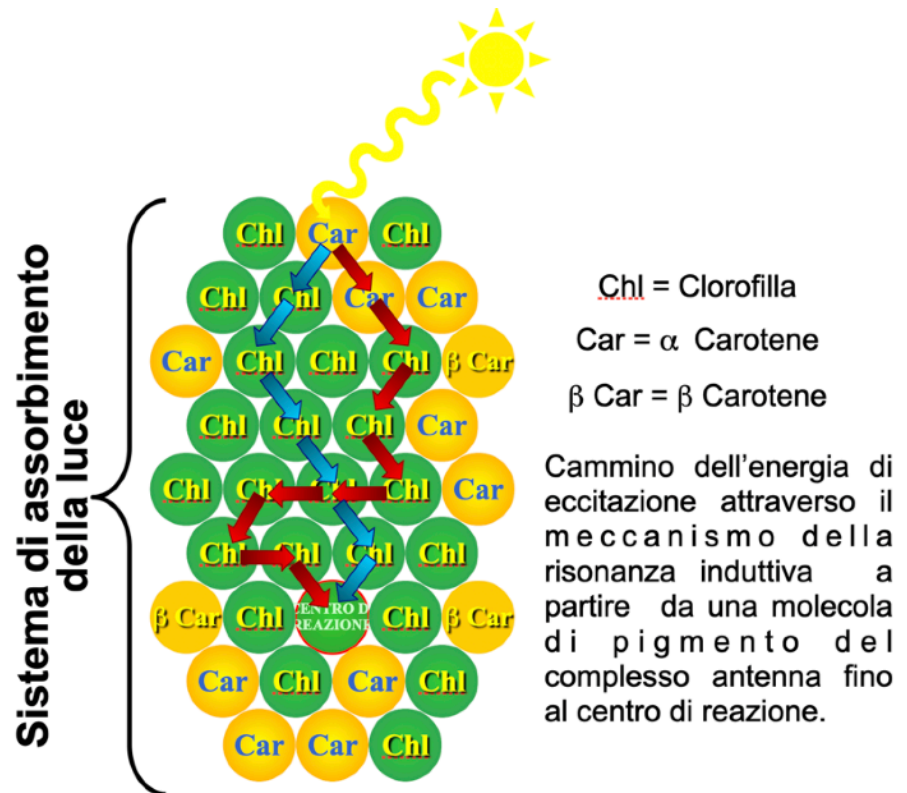




Il beta carotene è la principale fonte di vitamina A, o retinolo, necessaria per l'uomo e per molti altri animali.

Nelle foglie il colore dei carotenoidi è di solito mascherato alle clorofille, fuorché nelle caducifoglie in autunno, quando la degradazione delle clorofille lascia che questo divenga evidente.

Le ficobiline non sono universalmente presenti, ma si trovano solo in cianobatteri e alghe rosse.





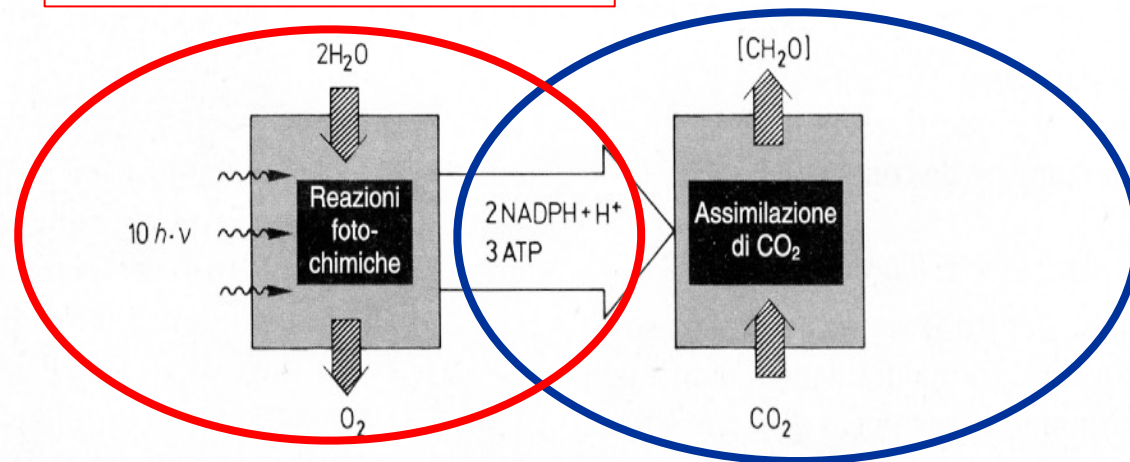
Fotosintesi: la fase “luminosa”





FASE LUMINOSA

FASE OSCURA

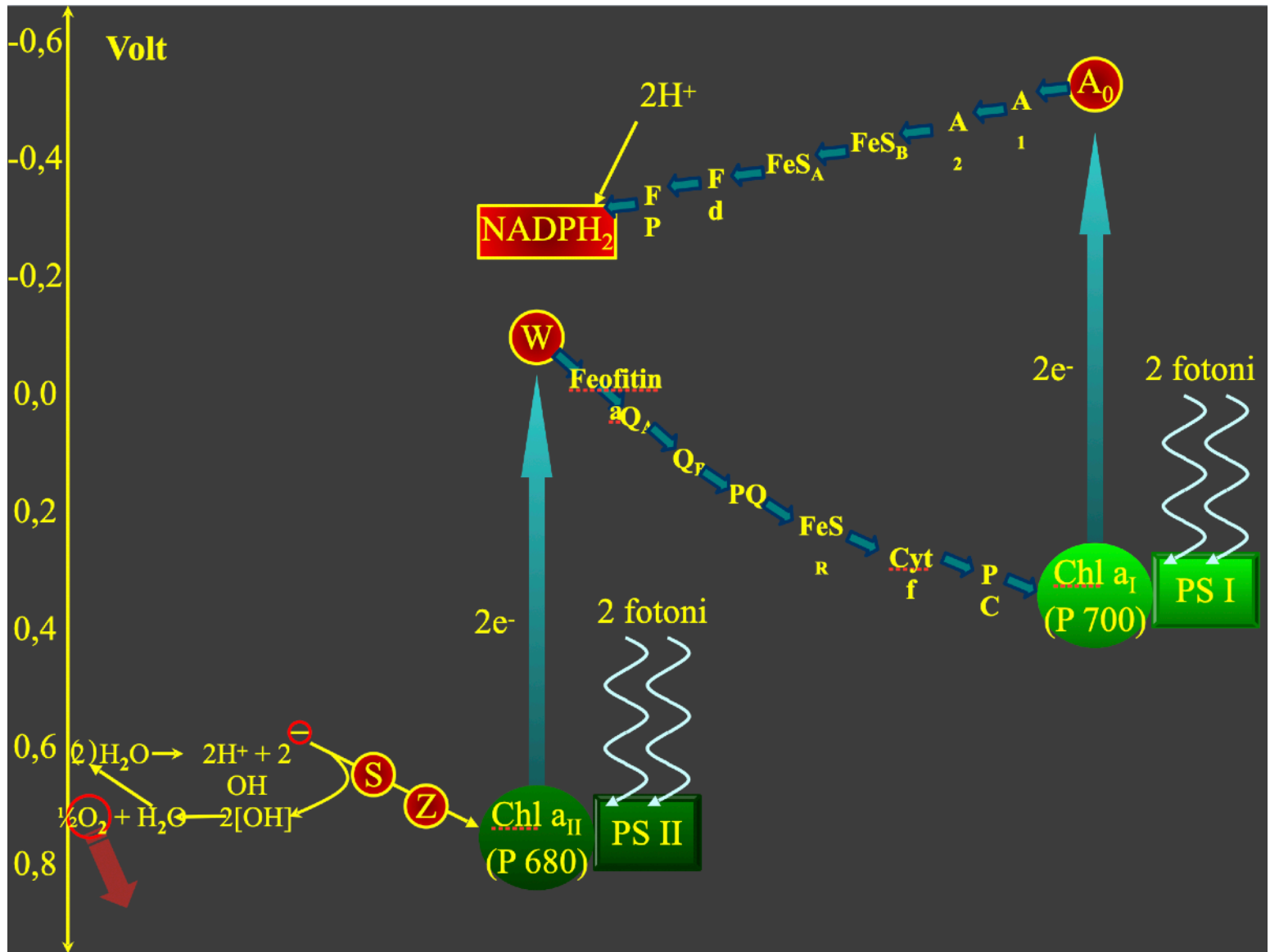


Dipendenza dell'assimilazione fotosintetica di CO_2 dall'apporto di $\text{NADPH} + \text{H}^+$ e di ATP a partire da reazioni fotochimiche. Il consu-

mo di 10 fotoni si spiega per il fatto che 8 fotoni vengono impiegati per la produzione di $2 \text{NADPH} + \text{H}^+$ e di 2 ATP attraverso il trasporto non cicli-

co di elettroni, e che 2 fotoni ancora sono impiegati per produrre 1 ATP attraverso il trasporto ciclico degli elettroni.







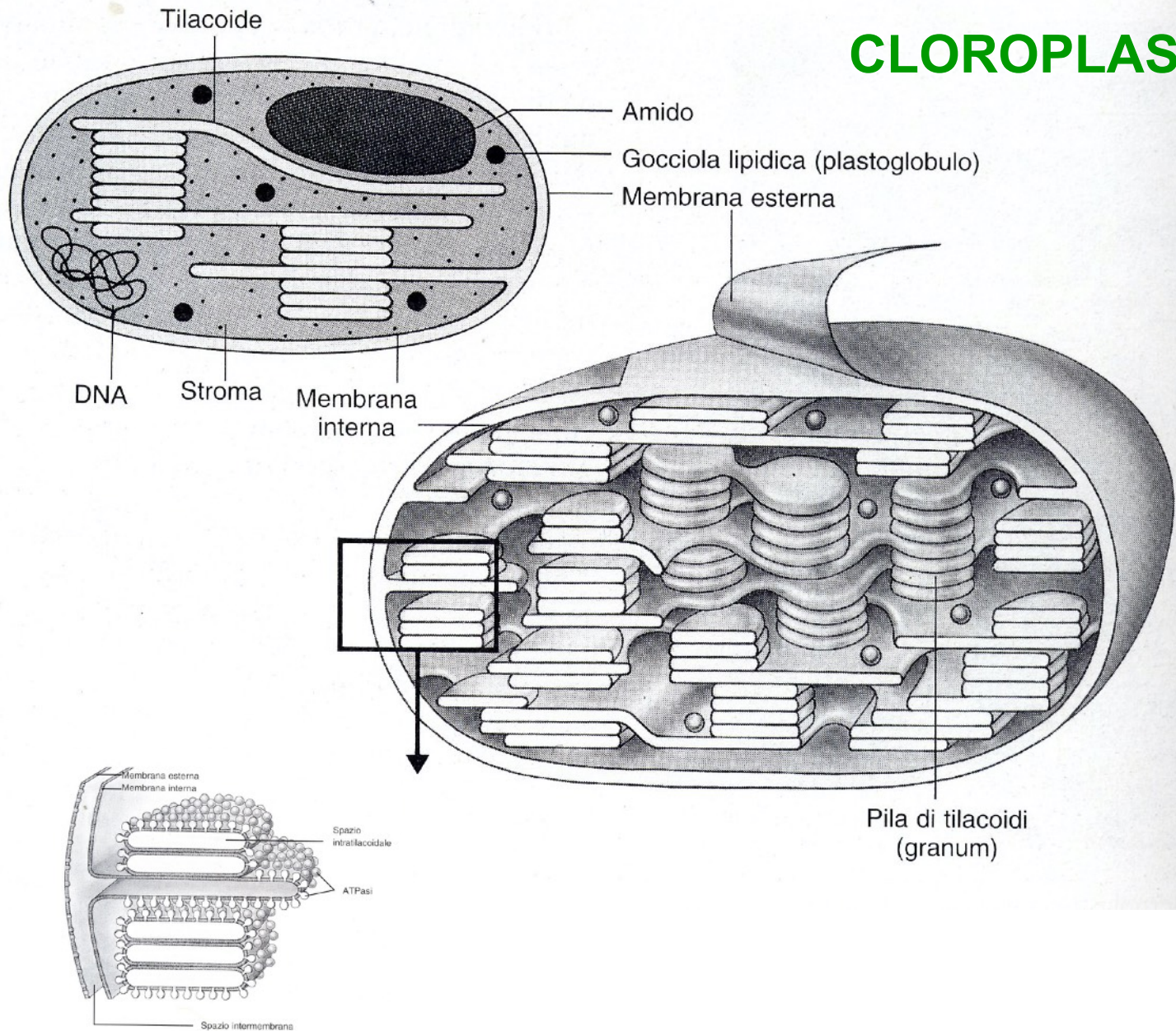
Dove avvengono questi fenomeni?

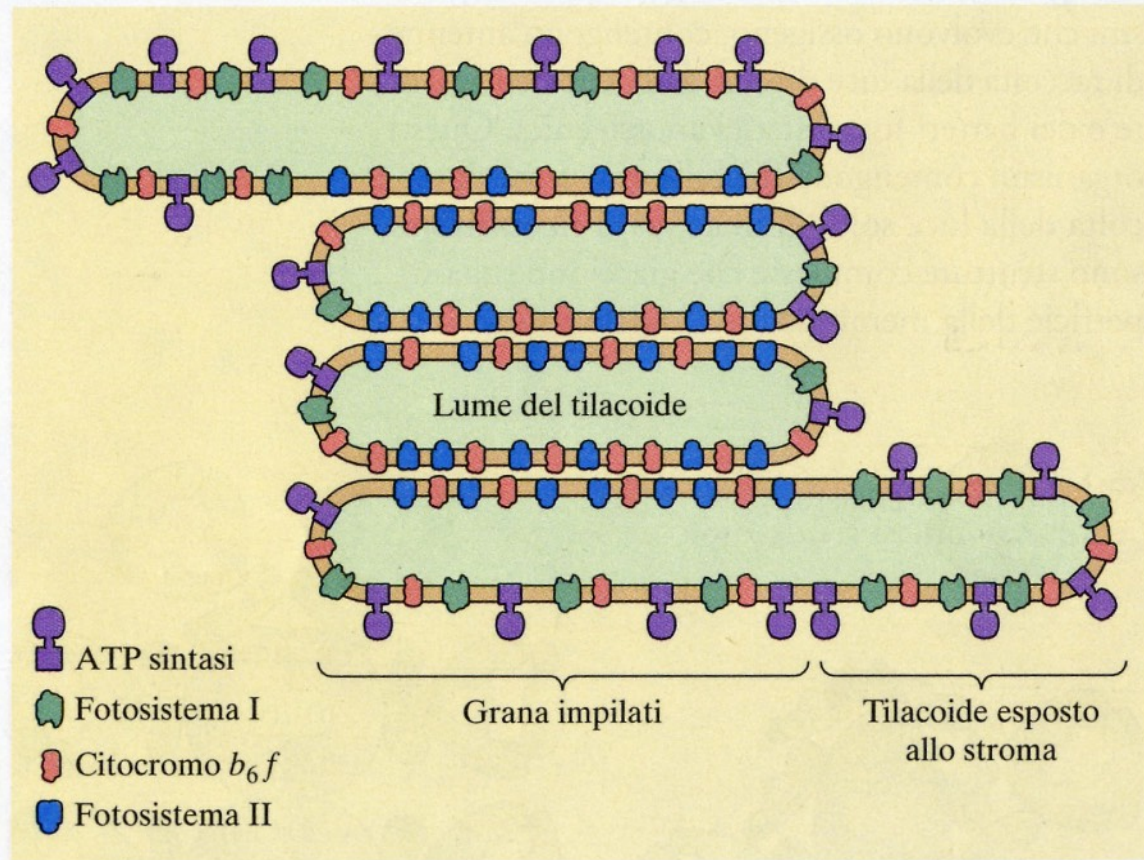
- Riduzione dell' NADP^+ : a livello dello stroma
- Le catene REDOX e i fotosistemi che assorbono l'energia luminosa sono parti integranti delle membrane tilacoidali
- FOTOLISI dell'ACQUA: negli spazi intratilacoidali (“dentro i tilacoidi”)





CLOROPLASTI





L'eterogeneità laterale dei complessi della membrana del cloroplasto. Il PSII è localizzato soprattutto nelle regioni impilate delle membrane tilacoidali, mentre il PSI e l'ATPasi sono localizzate quasi esclusivamente nelle membrane non impilate. Il complesso del citocromo b_6f è distribuito equamente attraverso le due regioni. La separazione dei fotosistemi necessita di trasportatori elettronici mobili come il plastochinone e la plastocianina, che trasportano gli elettroni tra i complessi della membrana separati spazialmente.

