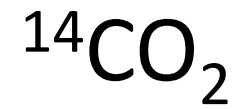




IL CICLO C_4
per la concentrazione di CO_2

PIANTE C₄

Canna da zucchero



Acido malico
Acido aspartico

Composti organici a
4 atomi di carbonio

Fotosintesi C_4 in circa 8000 specie (circa il 3% delle specie note). Angiosperme sia monocotiledoni (più di 6000) che dicotiledoni

Contribuisce al 25% della produttività primaria delle piante terrestri a livello globale

Rappresenta una frazione importante dei consumi della popolazione umana

Rappresenta un adattamento di notevole successo in habitat caldi, aridi o ipersalini



Sorgo

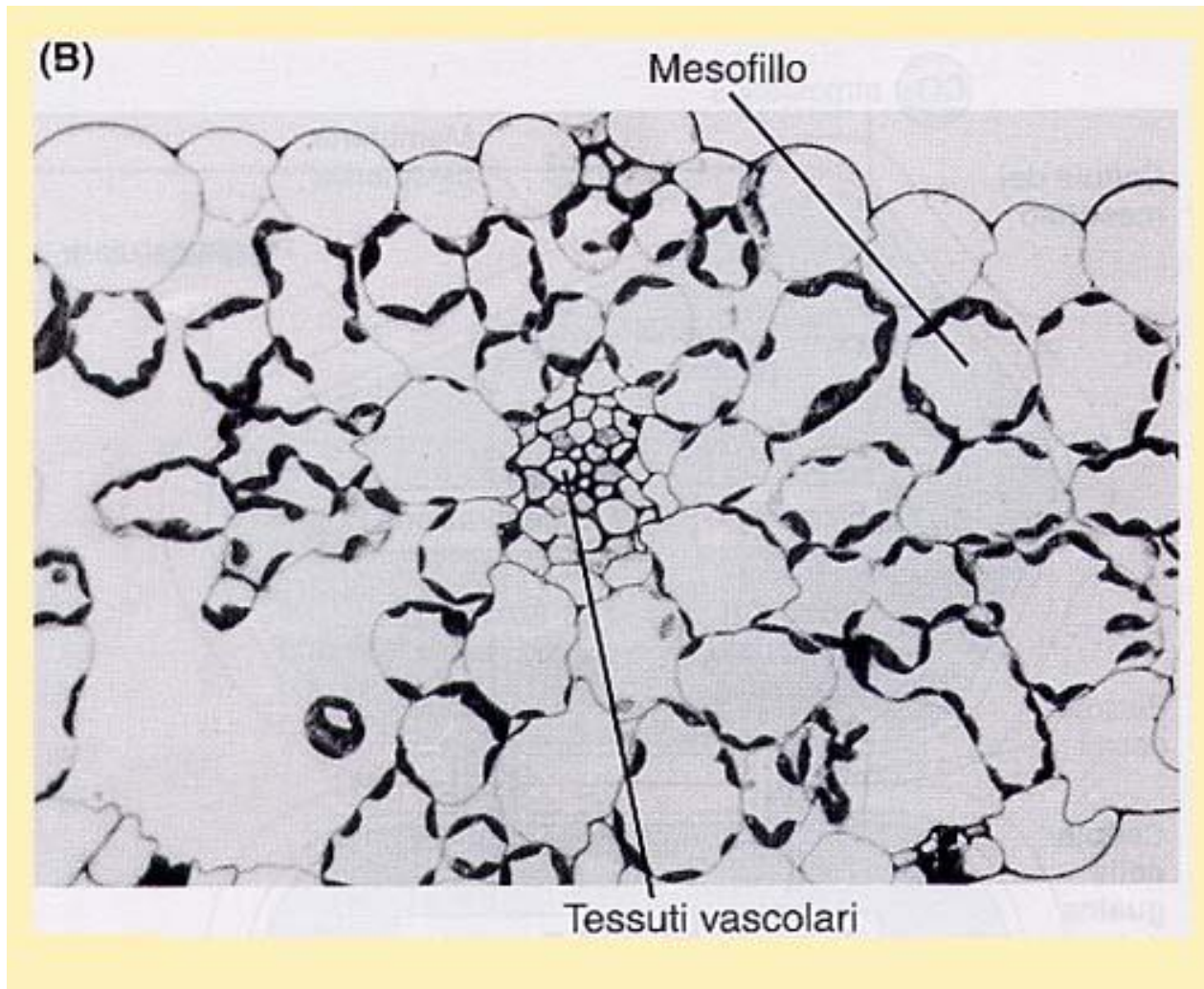


Mais

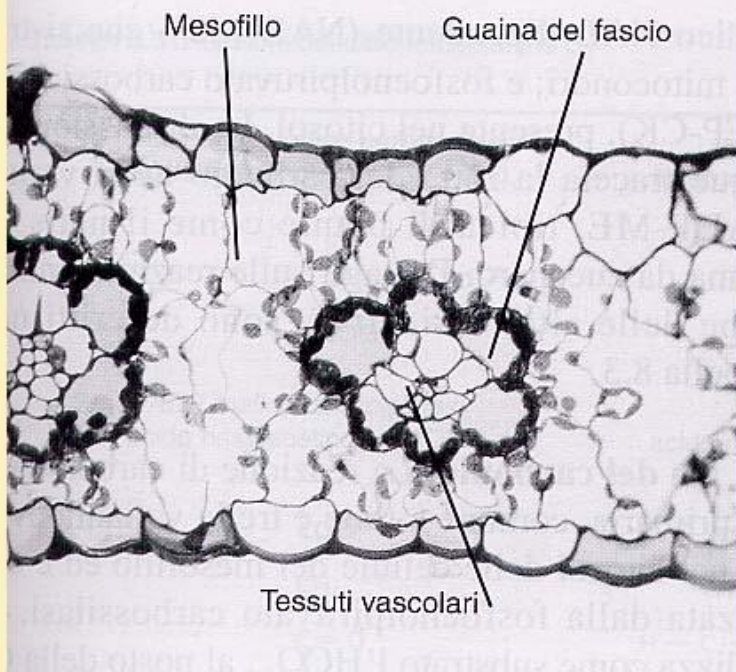
DUE ADATTAMENTI

➤ **ANATOMICO**

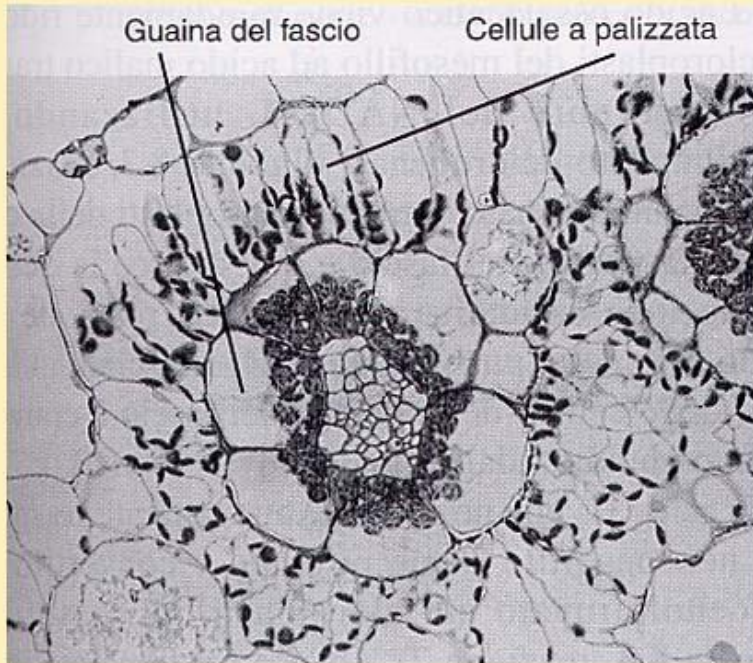
➤ **BIOCHIMICO**



Avena sativa (C₃)

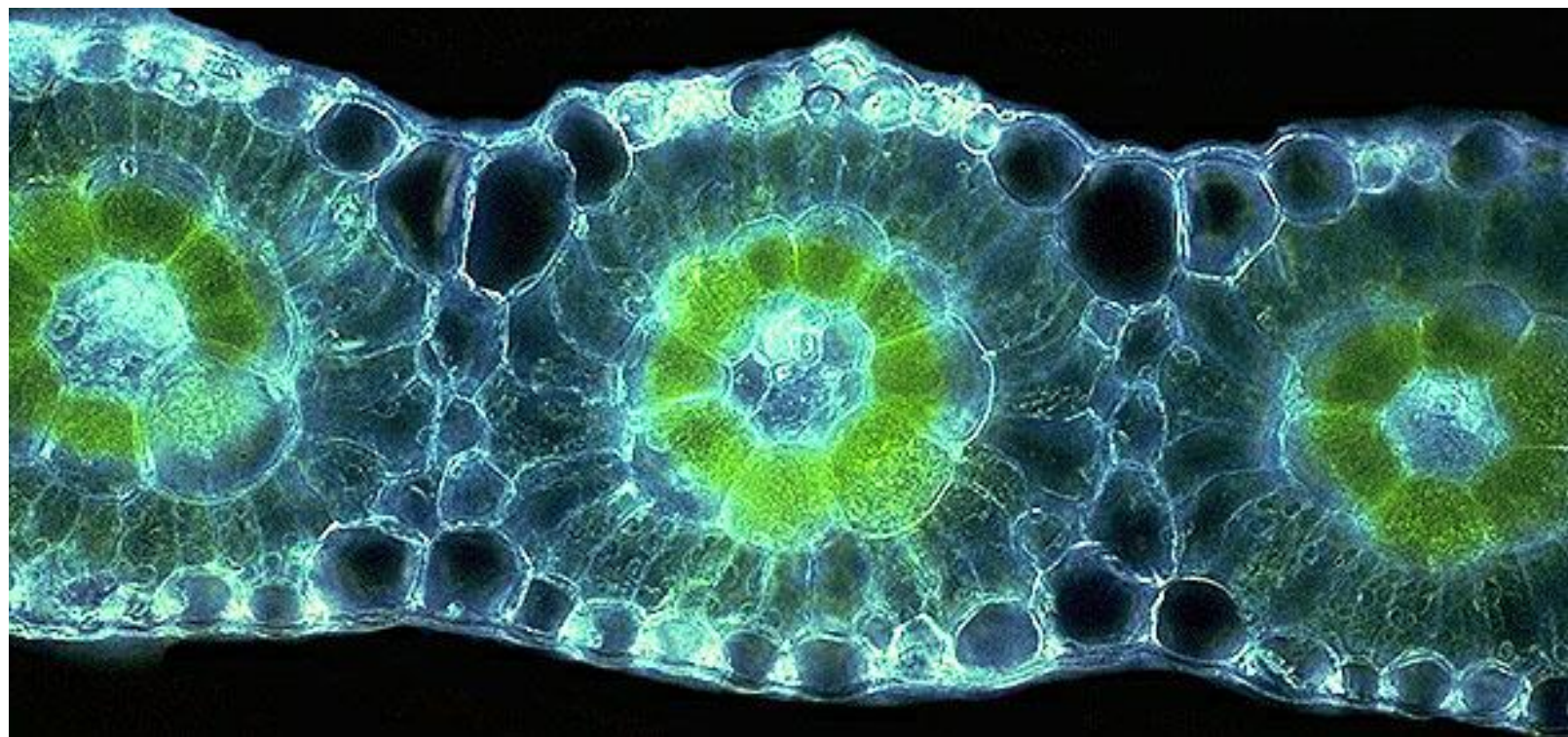


Zea mays (C_4)
Monocotiledone

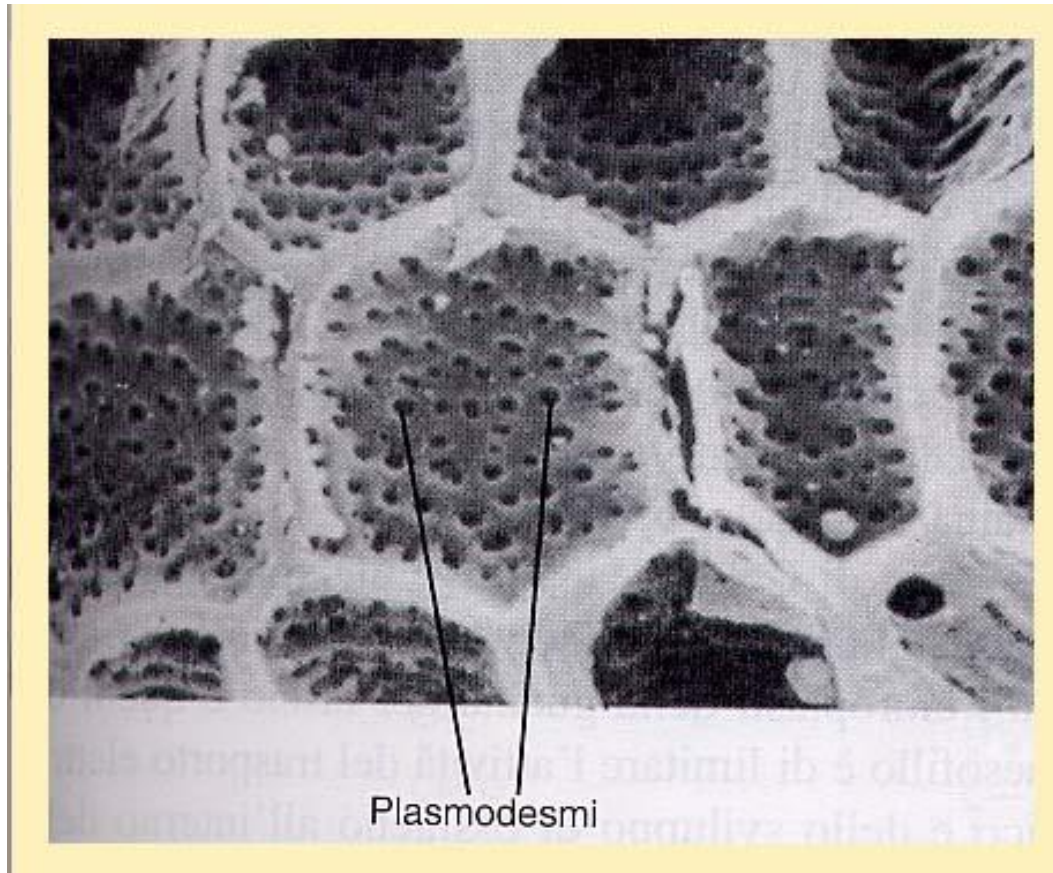


Anatomia Kranz

Gomphrena (C_4)
Dicotiledone



Le cellule della guaina del fascio e quelle del mesofillo sono in comunicazione tramite abbondanti plasmodesmi



I cloroplasti delle cellule della guaina del fascio di piante C_4 hanno una morfologia particolare: **assenza di grana**

Non si ha produzione di ossigeno

ATP dal flusso ciclico di elettroni

Le pareti che dividono le cellule della guaina del fascio dalle cellule del mesofillo hanno una lamella suberificata

Ostacola la diffusione dei gas (di O_2 verso la gf, di CO_2 verso l'esterno)

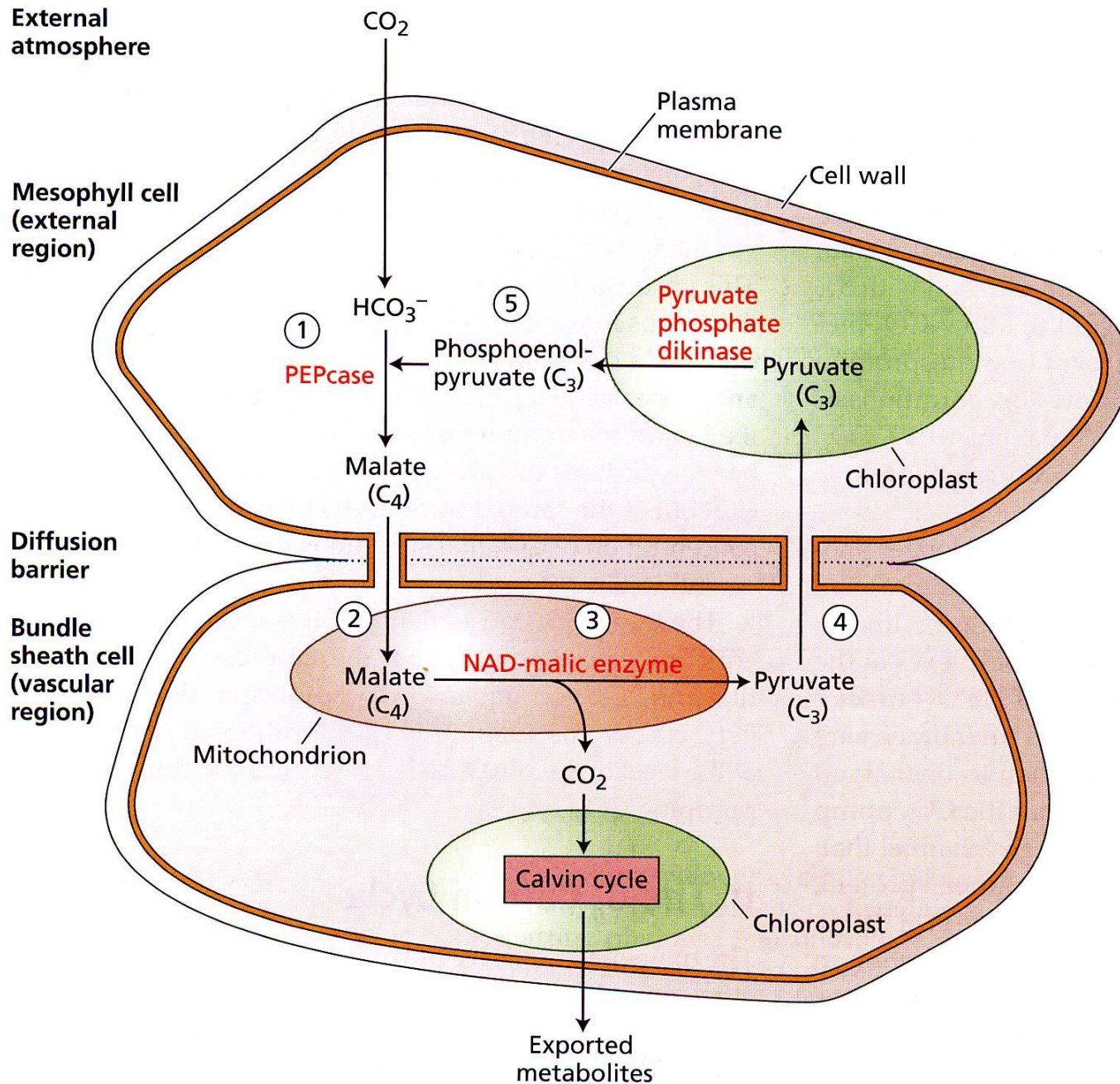


Nel ciclo C_4 vengono operate **2 fissazioni della CO_2**

La prima nelle cellule del mesofillo operata dall'enzima
FOSFOENOLPIRUVATO (PEP) CARBOSSILASI

La seconda nelle cellule della guaina del fascio operata dalla **RUBISCO**

Metabolismo C₄ a «doppia cellula» (il più comune)



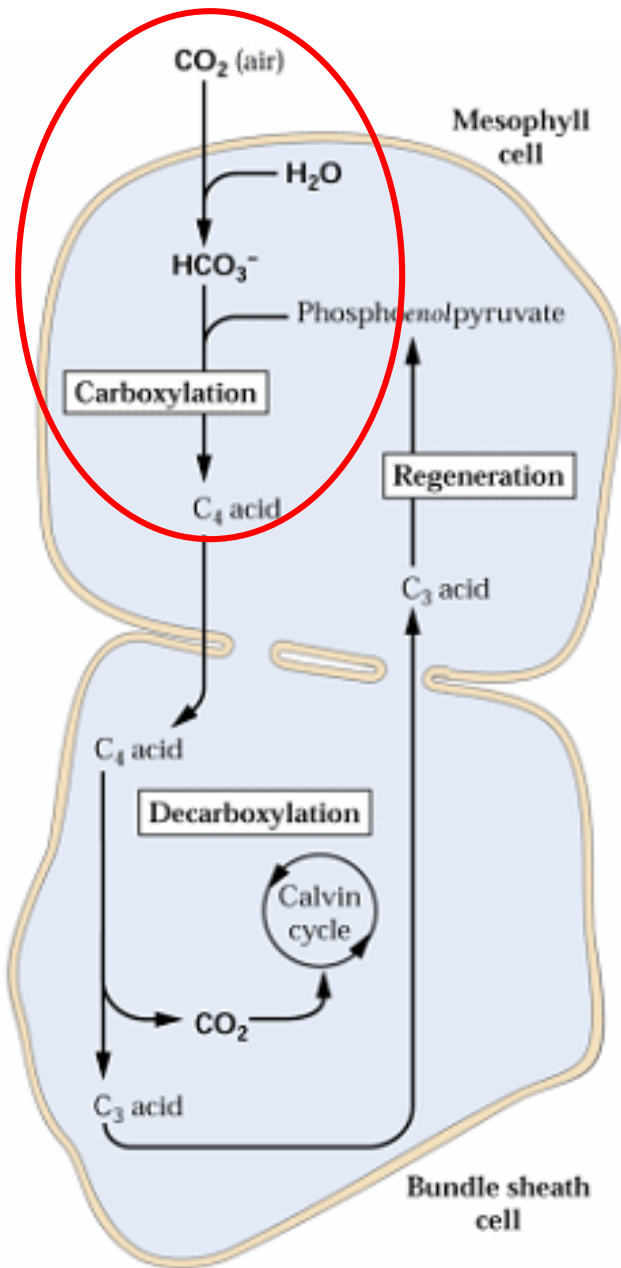
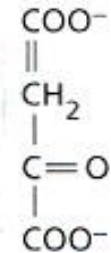
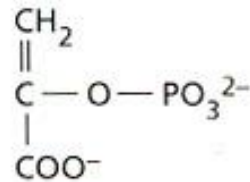
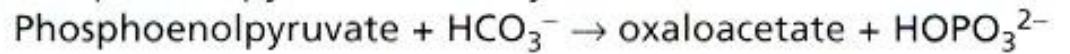
IL CICLO C_4 PUO' ESSERE SUDDIVISO IN 4 FASI

- Fissazione del CO_2 in un acido C_4 (PEP, mesofillo)
- Trasporto acido C_4 (cellule della guaina)
- Decarbossilazione acido C_4
- Trasporto composto C_3 e rigenerazione accettore (mesofillo)

FISSAZIONE CO₂

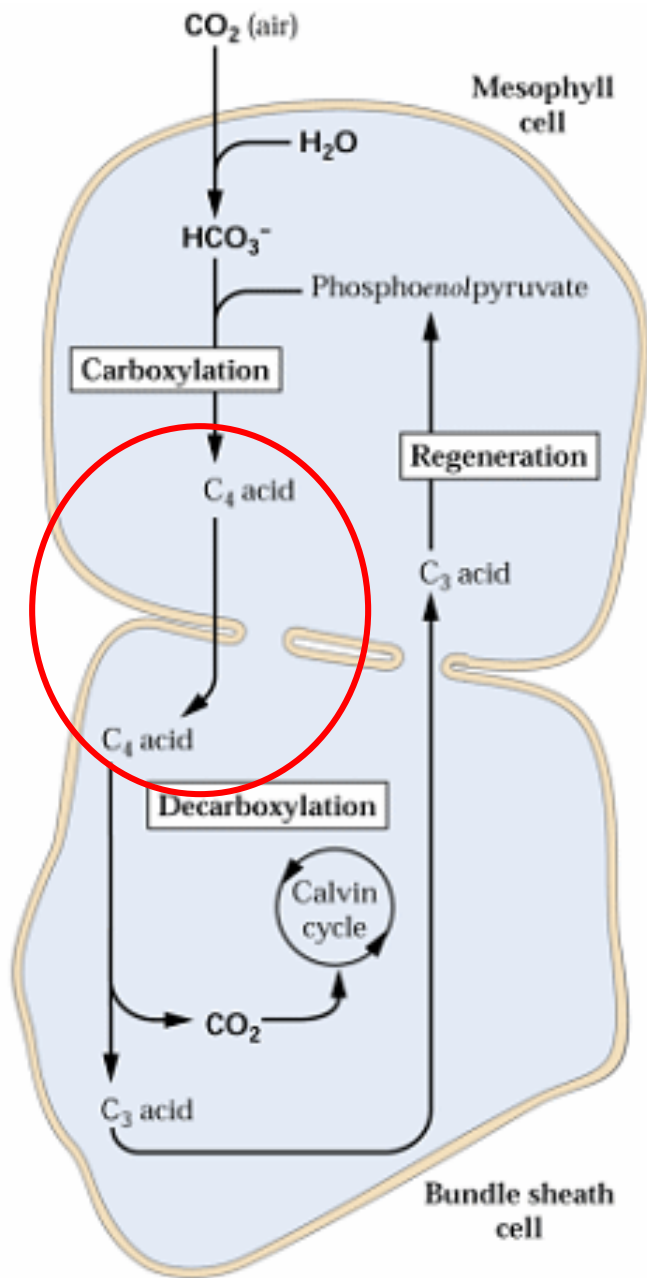
Viene carbossilato il **fosfoenolpiruvato**, con formazione di ossalacetato (C₄)

1. *Phosphoenolpyruvate carboxylase*



TRASPORTO

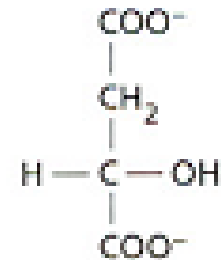
L'ossalacetato viene ridotto a malato/aspartato (nei cloroplasti), e questo viene trasportato nelle cellule della guaina del fascio



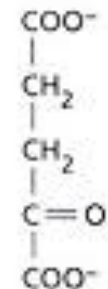
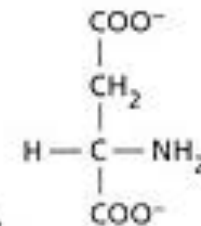
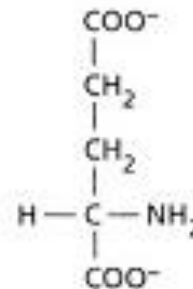
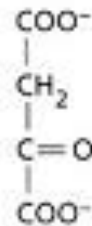
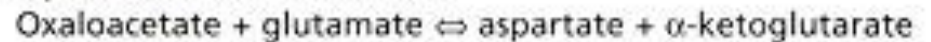
Attivata alla luce

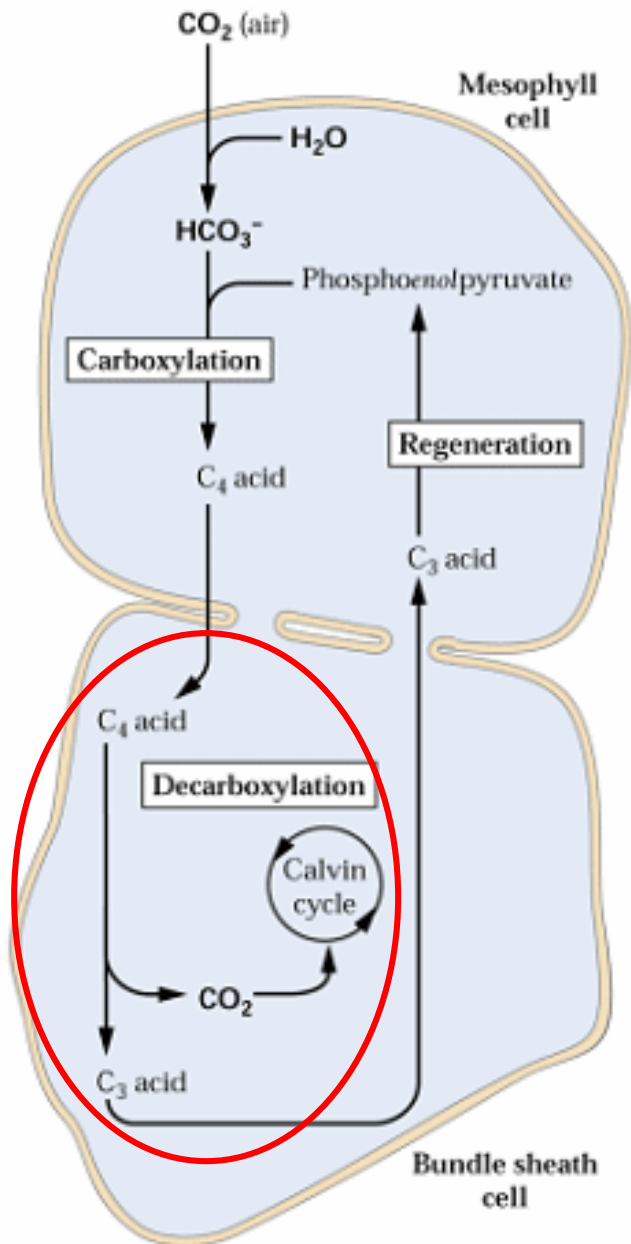
tramite tioredossina

NADP:malate dehydrogenase



Aspartate aminotransferase

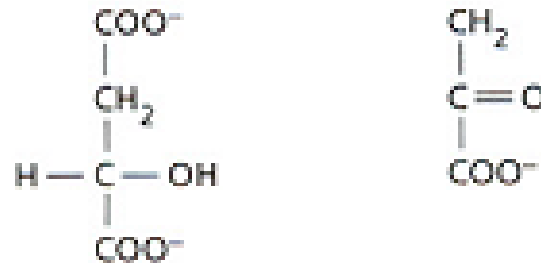




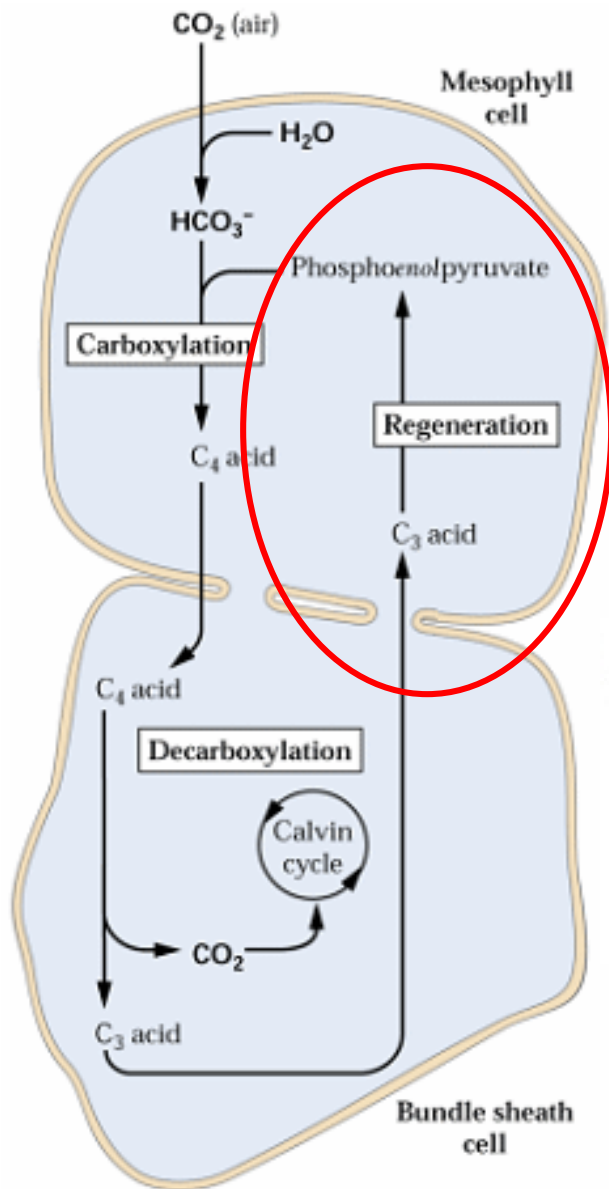
DECARBOSSILAZIONE

L'acido C_4 viene decarbossilato, con liberazione di CO_2 , che viene fissata dalla Rubisco

NAD(P) malic enzyme



(Se l'acido C_4 è l'aspartato, la decarbossilazione avviene nel mitocondrio e viene prodotta alanina anzichè piruvato)



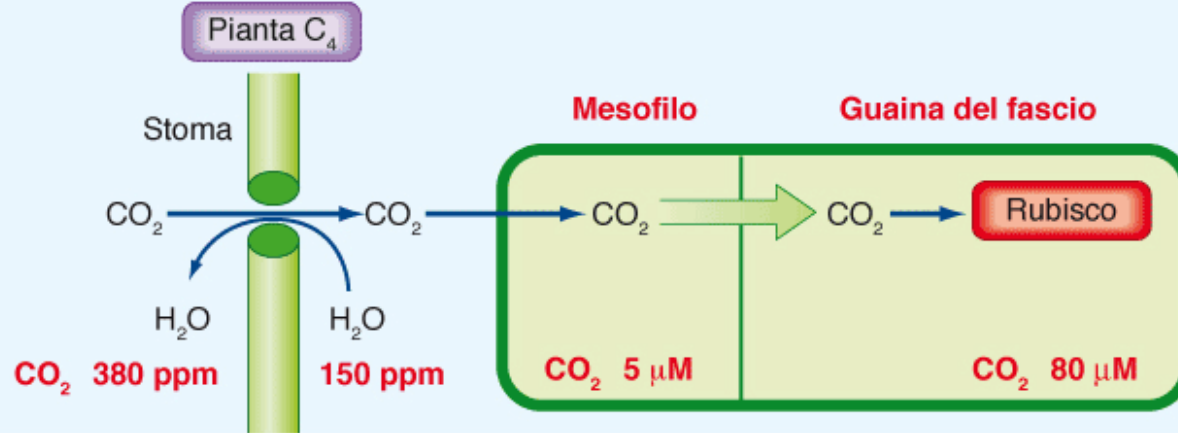
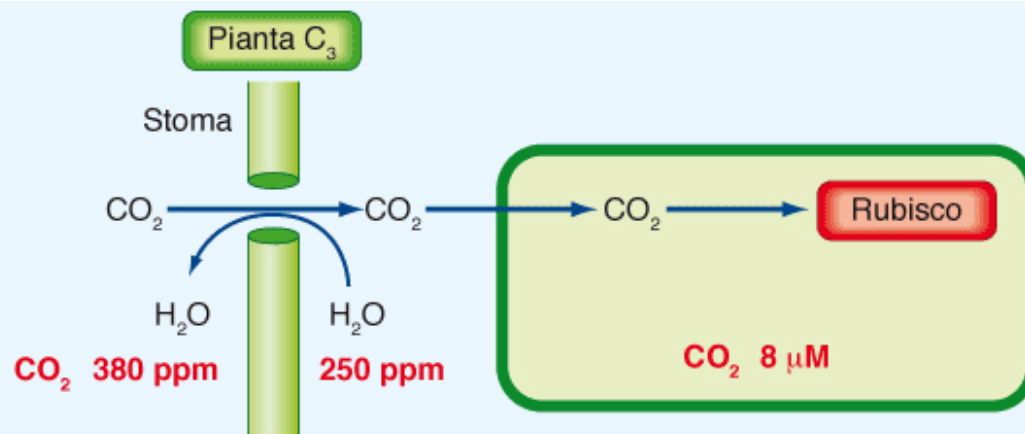
TRASPORTO/RIGENERAZIONE

L'acido C3 (piruvato/alanina) viene trasportato nelle cellule del mesofillo ed utilizzato per rigenerare il PEP

Pyruvate-orthophosphate dikinase



(se è trasportata l'alanina nel mesofillo, questa viene prima deamminata a piruvato)



RISULTATO

Aumento della [CO₂] nei cloroplasti delle cellule della guaina del fascio.
 Soppressione dell'attività ossigenasica della Rubisco.
 Soppressione della fotorespirazione!!!

Esistono 3 varianti del ciclo C_4 , che si distinguono per l'enzima decarbossilante e l'acido C_4 trasportato:

Enzima decarbossilante:

- Enzima malico NADP dipendente
- Enzima malico NAD dipendente
- PEP carbossichinasi

Acido C_4 trasportato:

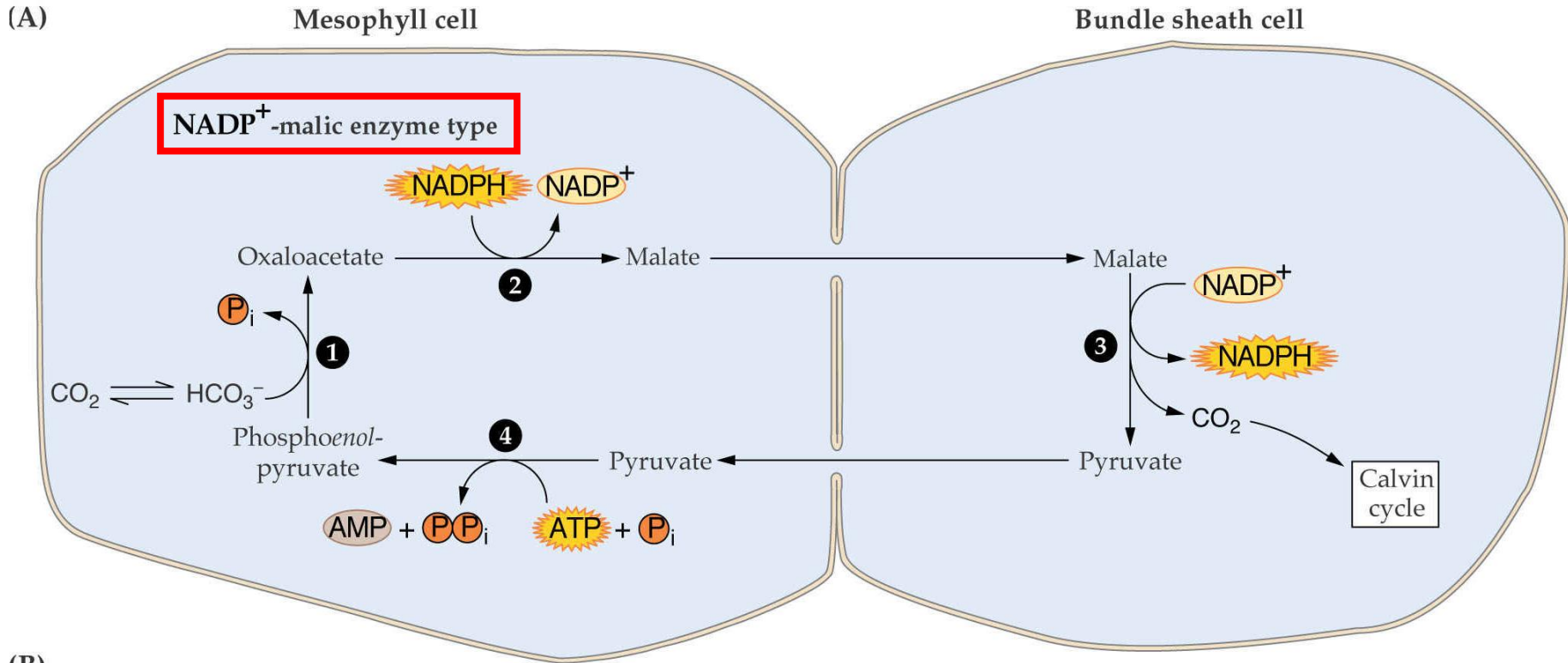
- Malato
- Aspartato

Evidenze di convergenza evolutiva

Variante **enzima malico NADP-dipendente**:

Riduzione di ossalacetato a malato nei **cloroplasti** delle cellule del **mesofillo**

Decarbossilazione del malato nei **cloroplasti** delle cellule della **guaina del fascio**

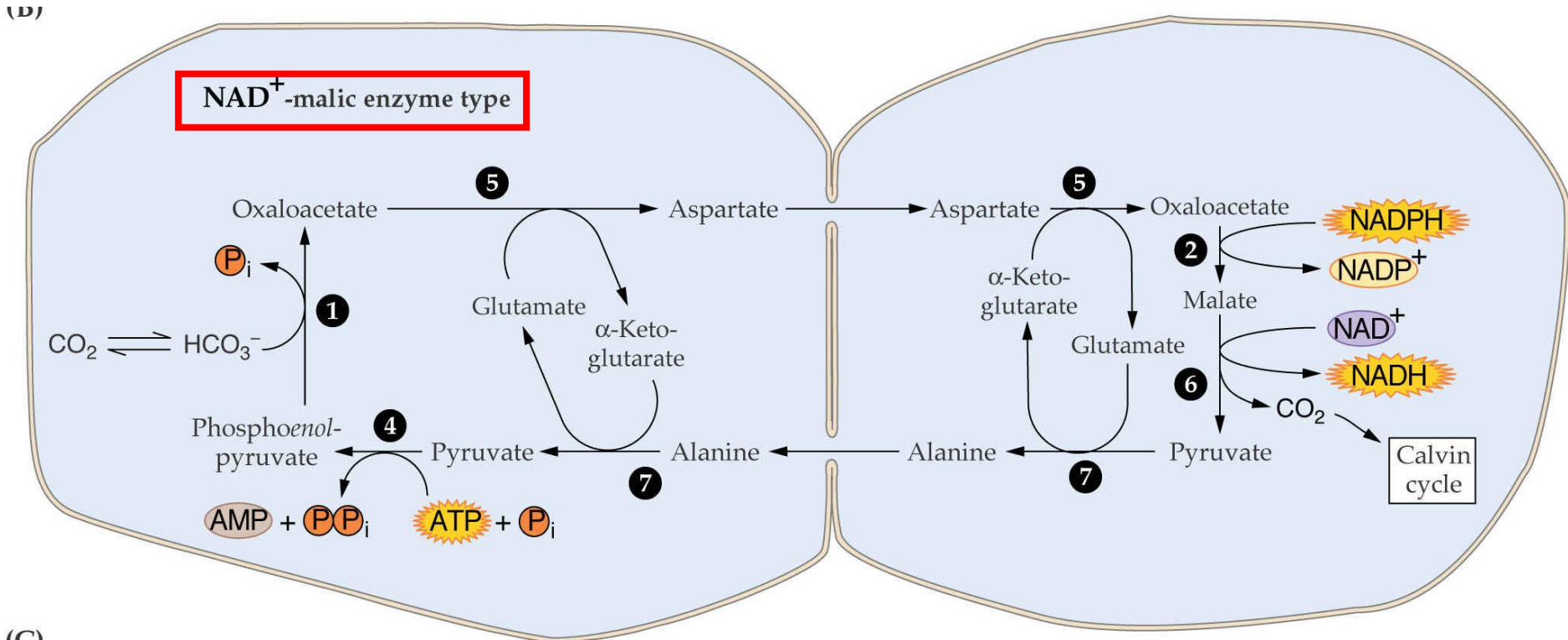


- | | |
|--|-----------------------------------|
| 1. PEP carboxylase | 5. Aspartate aminotransferase |
| 2. NADP ⁺ -malate dehydrogenase | 6. NAD ⁺ -malic enzyme |
| 3. NADP ⁺ -malic enzyme | 7. Alanine aminotransferase |
| 4. Pyruvate-orthophosphate dikinase (PPDK) | 8. PEP carboxykinase |

Variante enzima malico NAD-dipendente:

Transamminazione di ossalacetato ad aspartato nel citosol delle cellule del mesofillo

Deamminazione dell'aspartato a OAA nel mitocondrio delle cellule della guaina del fascio. OAA viene ridotto a malato e quindi decarbossilato.

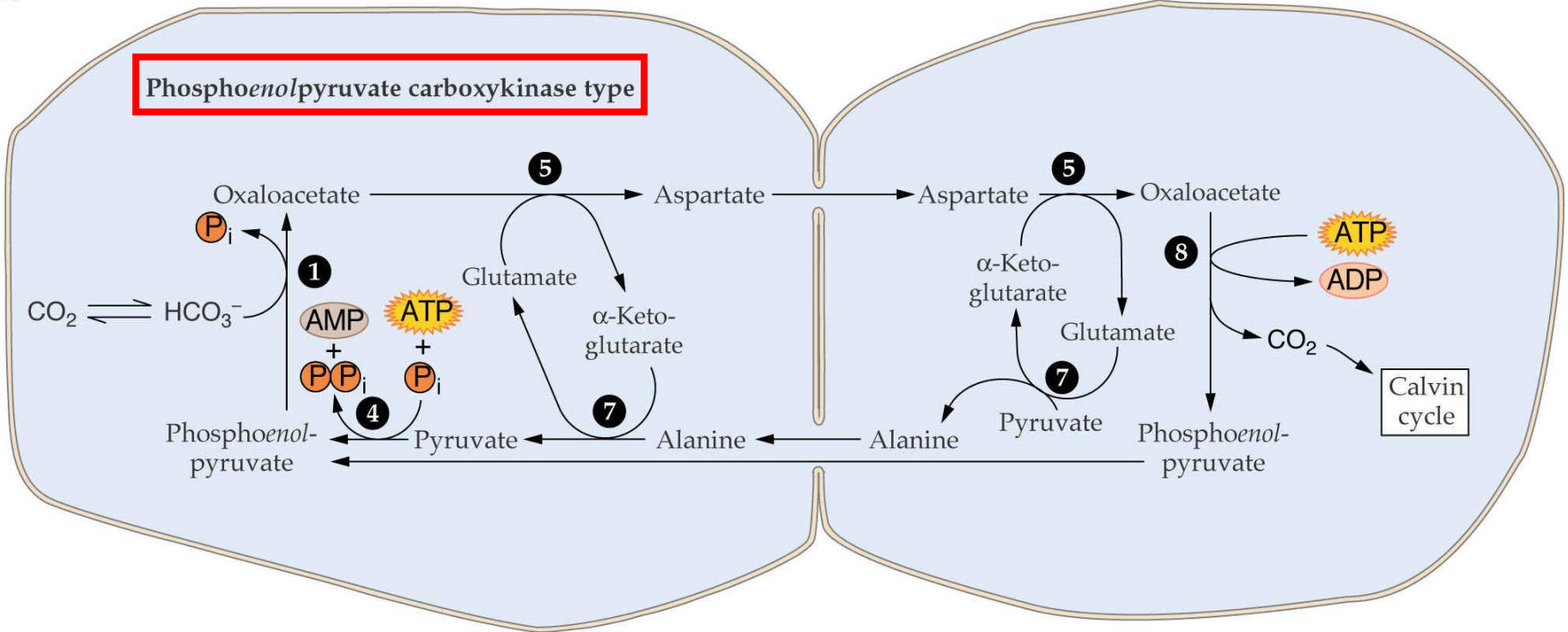


- | | |
|--|-----------------------------------|
| 1. PEP carboxylase | 5. Aspartate aminotransferase |
| 2. NADP ⁺ -malate dehydrogenase | 6. NAD ⁺ -malic enzyme |
| 3. NADP ⁺ -malic enzyme | 7. Alanine aminotransferase |
| 4. Pyruvate-orthophosphate dikinase (PPDK) | 8. PEP carboxykinase |

Variante **PEP carbossichinasi**:

Transamminazione di ossalacetato ad aspartato nel **citosol** delle cellule del **mesofillo**

Deamminazione dell'aspartato a OAA nel **mitocondrio** delle cellule della **guaina del fascio**. OAA viene **decarbossilato** nel citosol.



- | | |
|--|---------------------------------|
| 1. PEP carboxylase | 5. Aspartate aminotransferase |
| 2. NADP^+ -malate dehydrogenase | 6. NAD^+ -malic enzyme |
| 3. NADP^+ -malic enzyme | 7. Alanine aminotransferase |
| 4. Pyruvate-orthophosphate dikinase (PPDK) | 8. PEP carboxykinase |



Metabolismo C_4 a «cellula singola» (in 3 specie della fam. delle *Chenopodiaceae*)

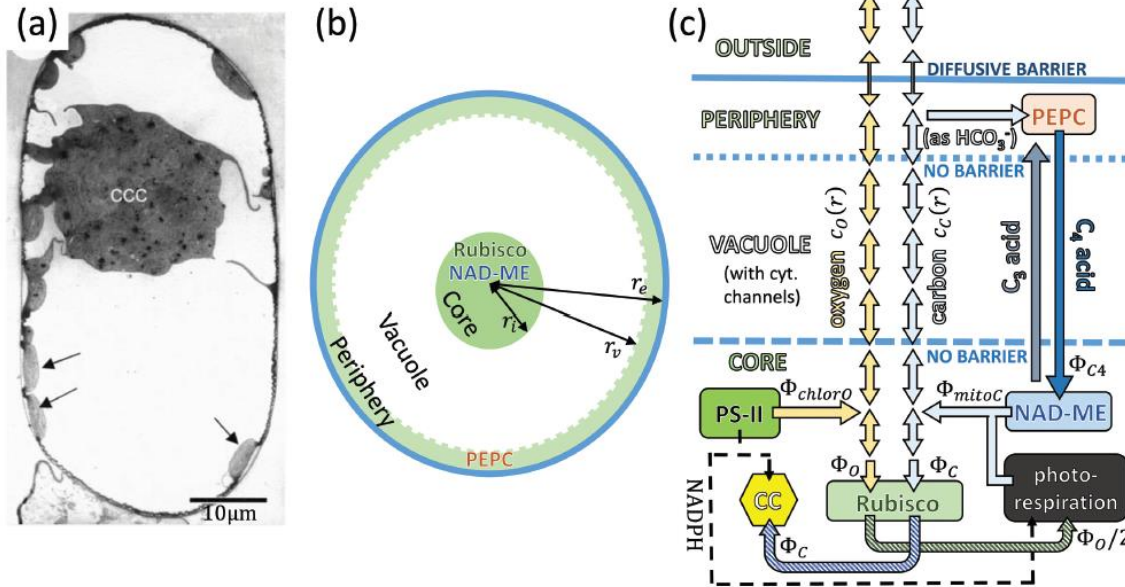


Fig. 1. Modelling a *Bienertia* mesophyll cell. (a) Micrograph of a mature *Bienertia* mesophyll cell, taken from [Voznesenskaya et al. \(2002\)](#) with permission. The arrows point to the peripheral chloroplasts. (b) Model of a *Bienertia* cell, showing the three compartments, and marking the location of various enzymes. The compartment's radii, r_i , r_v , and r_e are varied in the model, so the picture should not be taken to scale. (c) Abstract schematic of reactions and flows in different spatial regions considered in the model. Yellow arrows represent the oxygen current, and light blue is the CO_2 current (two-headed arrows represent diffusion). Other arrows represent the C_3 and C_4 acid currents (grey and dark blue), and the photorespiratory and Calvin–Benson cycle carbon currents (striped green and blue). The thin dashed line is the NADPH current originating from the Hill reaction in the core's chloroplasts; it couples the photorespiratory and the Calvin–Benson cycle activity to the oxygen production. The boundary between the periphery and the outside is the only barrier to gas diffusion in the model.

$C_4 \rightarrow$ concentrazione CO_2 contro gradiente chimico



energia

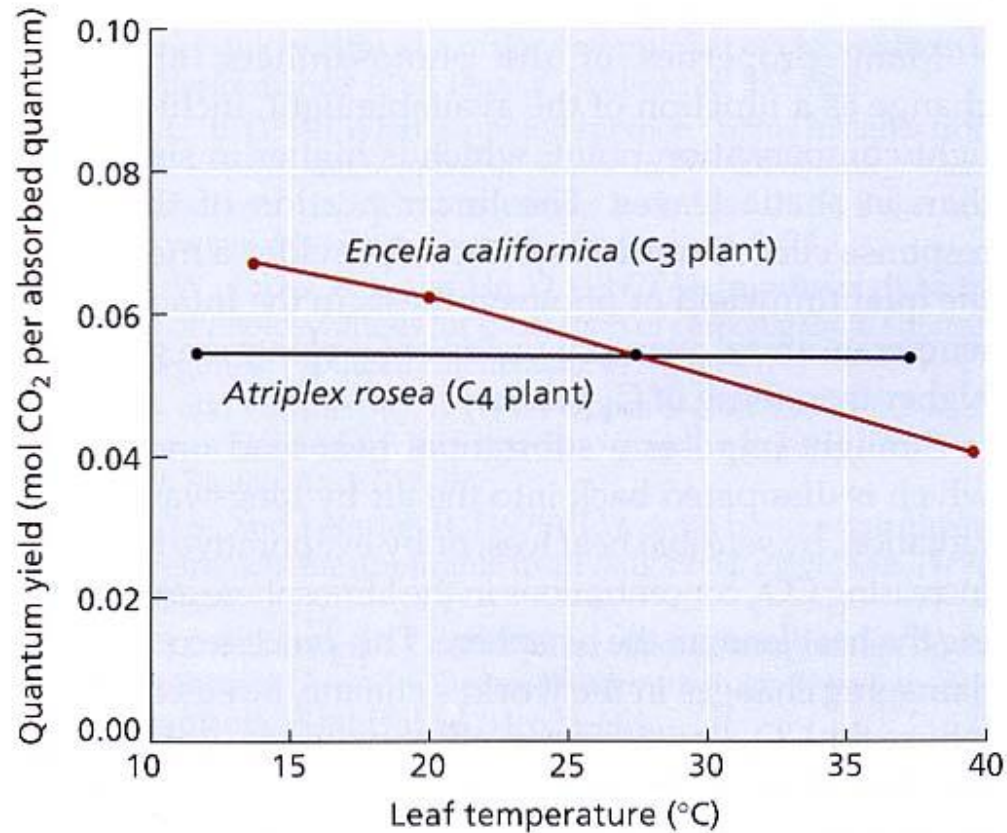
TABELLA 8.5
Energetica del ciclo fotosintetico del carbonio C_4

Fosfoenolpiruvato + H_2O + NADPH + CO_2	\rightarrow malato + NADP ⁺ + P_i (mesofillo)
Malato + NADP ⁺	\rightarrow piruvato + NADPH + CO_2 (guaina del fascio)
Piruvato + P_i + ATP	<u>Piruvato-fosfato dichinasi</u> \rightarrow fosfoenolpiruvato + AMP + PP_i (mesofillo)
PP_i + H_2O	\rightarrow 2 P_i (mesofillo)
AMP + ATP	<u>Adenilato chinasi</u> \rightarrow 2 ADP (mesofillo)
<hr/>	
Al Netto: CO_2 (mesofillo) + 2 ATP + 2 H_2O	\rightarrow CO_2 (guaina del fascio) + 2 ADP + 2 P_i

Costo della concentrazione della CO_2 nelle cellule della guaina del fascio: 2 ATP per ogni CO_2

C_4	2 ATP per CO_2 trasportata
Calvin	3 ATP + 2 NADPH per CO_2 fissata
totale	5 ATP + 2 NADPH per CO_2 fissata

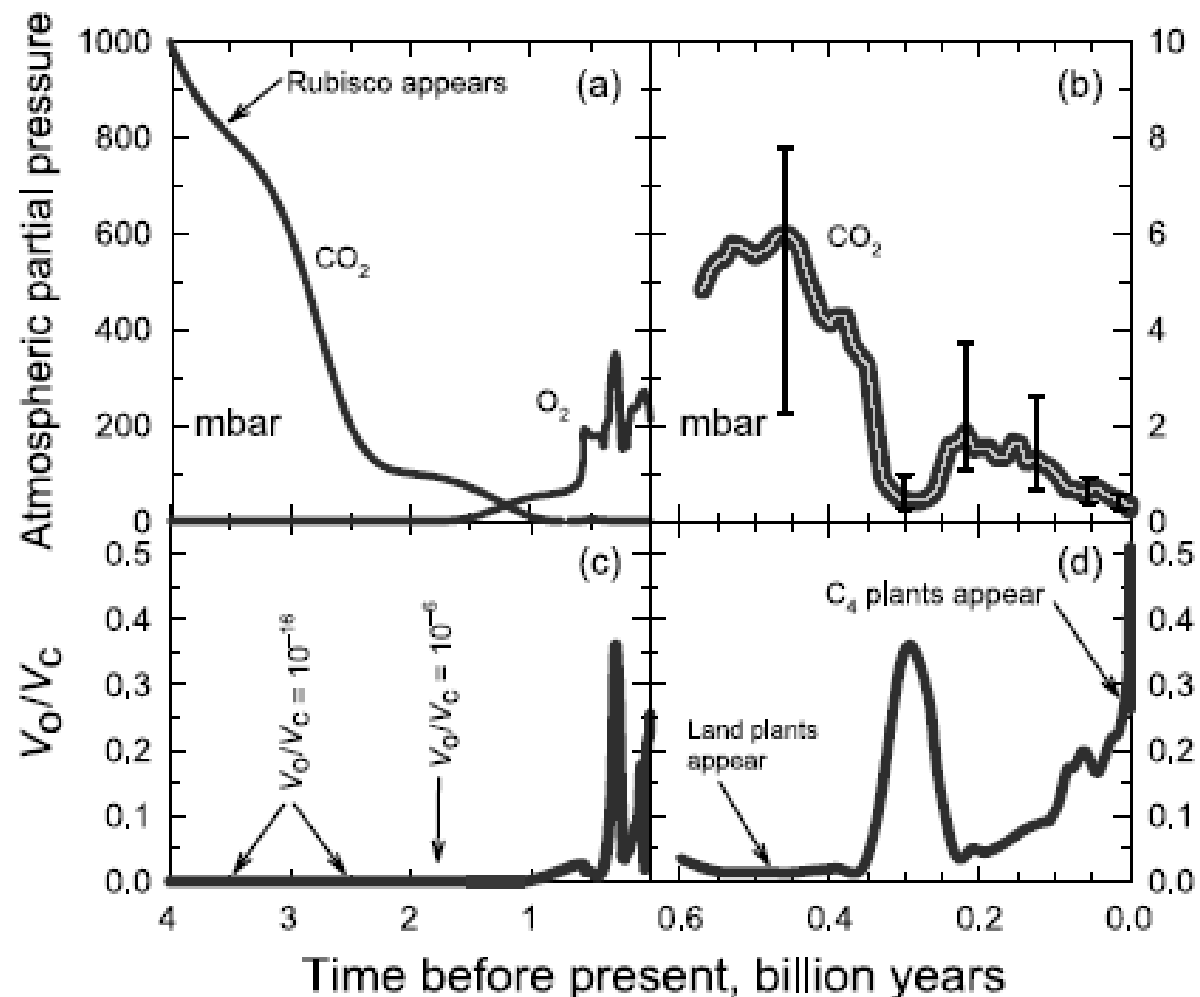
Resa quantica
della fissazione di
CO₂



In condizioni di bassa fotorespirazione il ciclo C₄ è meno efficiente del ciclo C₃. Tuttavia, ad alta temperatura la resa quantica del ciclo C₃ diminuisce a causa della fotorespirazione mentre la resa quantica del ciclo C₄ rimane costante.

LE PIANTE C₄ SONO FAVORITE NEGLI HABITAT CALDI

Fig. 4 Profiles of modeled atmospheric CO₂ and O₂ partial pressures (in mbar) over the history of the earth (a,b), and corresponding estimates of relative oxygenation potential for C₃ photosynthesis (c,d). Atmospheric CO₂ levels were modeled over the past 4 billion years (a) and 0.6 billion years (b); atmospheric O₂ levels were modeled over the past 4 billion years (data from Berner 1994). Oxygenation potential is modeled as the ratio of RuBP oxygenation to carboxylation (V_o/V_c) corresponding to the gas levels shown in (a,b) and assuming a C₃ Rubisco (from spinach) at 30°C. from Sage (1999) by permission.



Le specie C_4 si sono evolute da progenitori C_3 in tempi e luoghi differenti

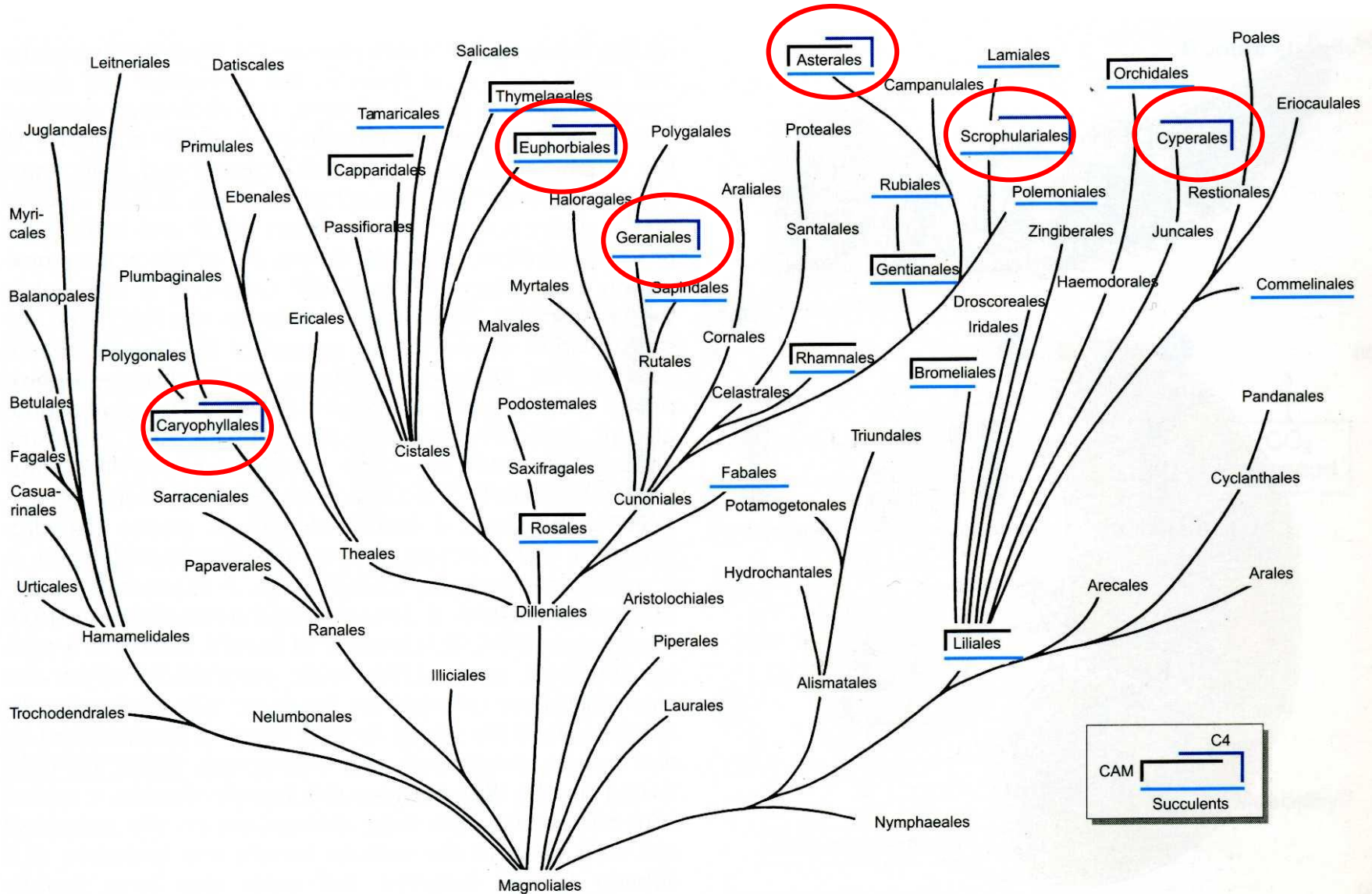
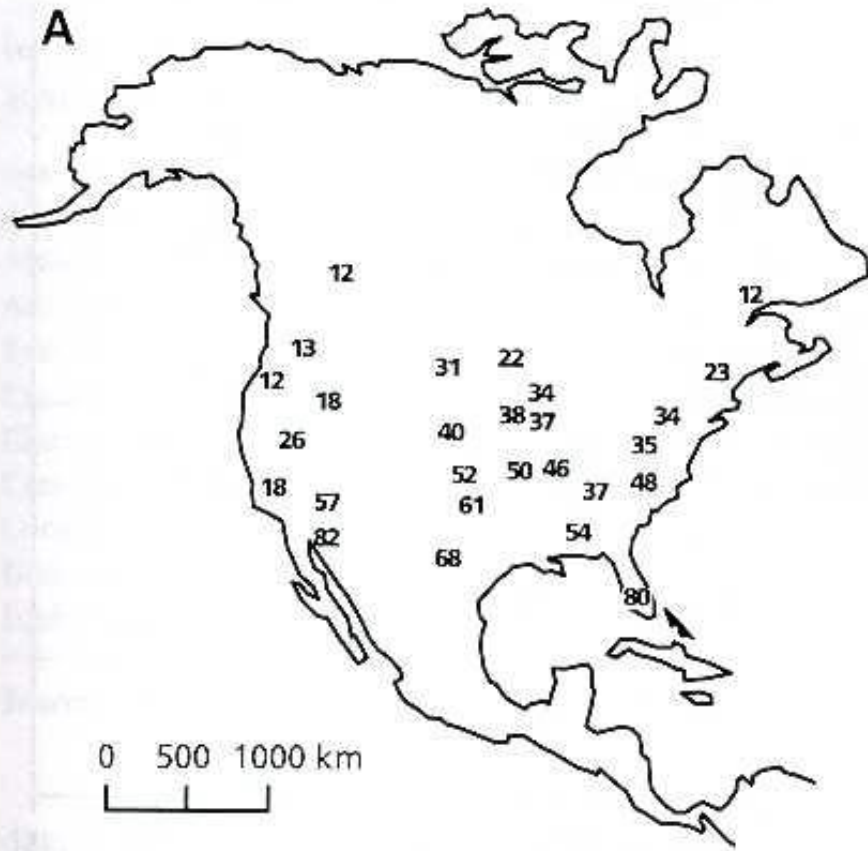


Fig. 2.4.4. The phylogenetic tree of higher plants at the category of Orders showing the distribution of succulents with C_3 metabolism and of CAM and C_4 plants. It can be seen that certain leaf types are in one taxonomic "guild", whereas in some orders all three types occur. (Evans 1972)

Monocotiledoni



Dicotyledoni

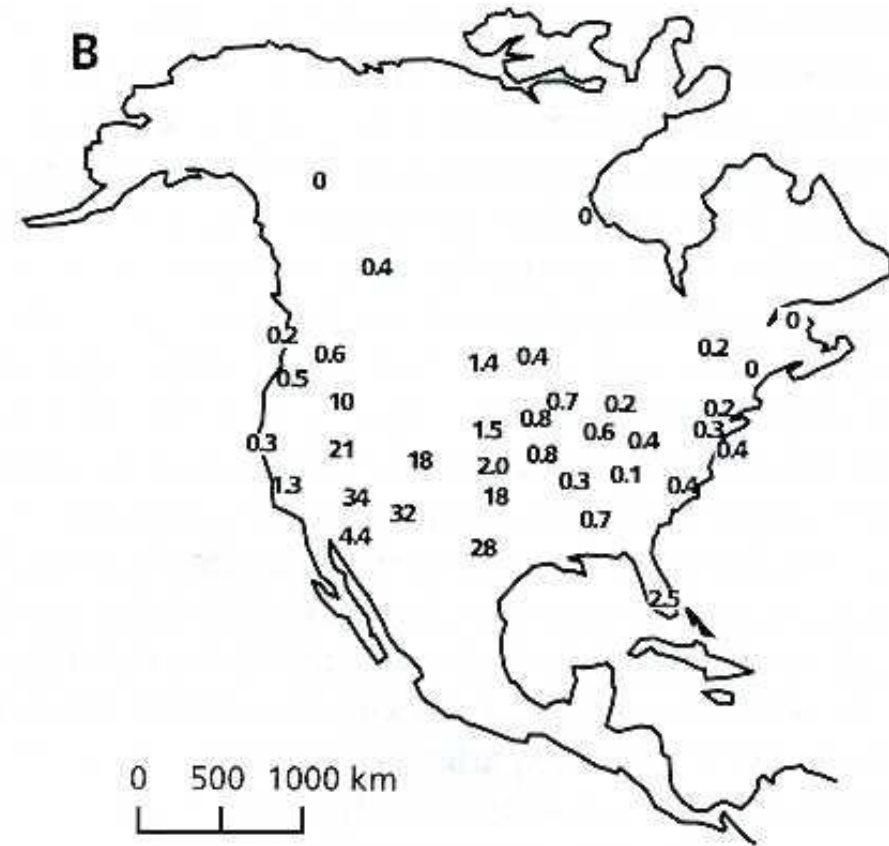
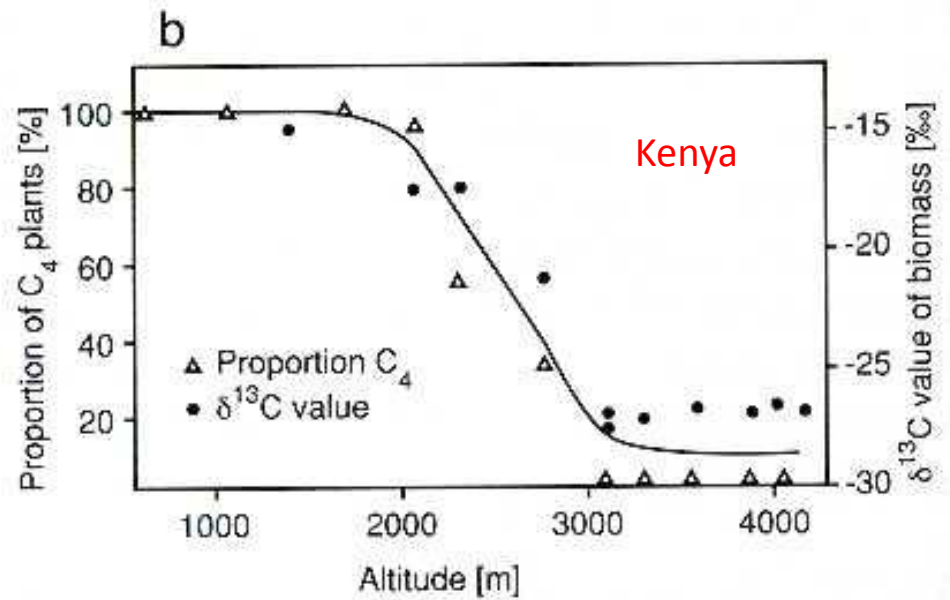
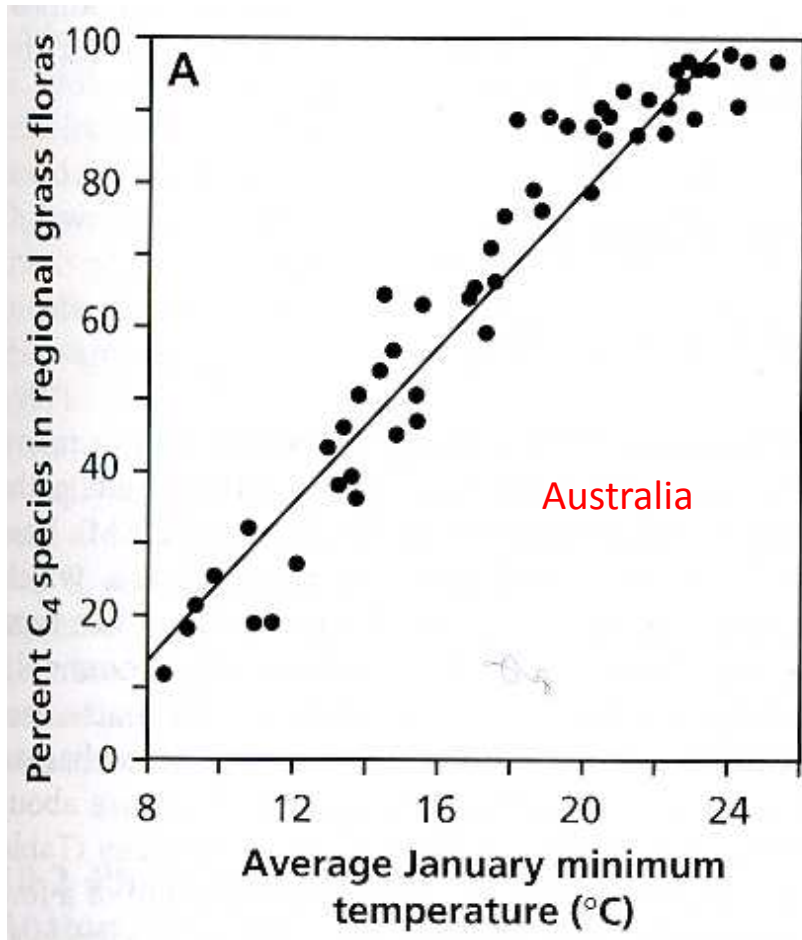


FIGURE 42. Geographic distribution of C₄ species in North America. (A) percentage of grass taxa that are C₄ plants. (B) percentage of dicotyledon taxa that are C₄ plants in

regional floras of North America (Teeri & Stowe 1976, and Stowe & Teeri 1978, as cited in Osmond et al. 1982).



Le piante C_4 possono mantenere gli stomi mediamente meno aperti di quelle C_3 , con conseguente riduzione della traspirazione e risparmio di acqua.

Quindi le piante C_4 sono favorite non soltanto in climi caldi, ma anche in quelli aridi.

C_3

500 g H_2O / g CO_2 fissata

C_4

400 g H_2O / g CO_2 fissata

CAM

100 g H_2O / g CO_2 fissata

METABOLISMO ACIDO DELLE CRASSULACEAE (CAM)

1815, 'esperimento' di Benjamin-Heyne su *Byrophyllum calycinum*.

All'alba le piante hanno un sapore acido.

Durante il giorno diminuisce il sapore acido e a mezzogiorno sono prive di sapore.



Non è limitato alle Crassulaceae

Saguaro (Cactaceae)



Ananas (Bromeliaceae)



Agave (Agavaceae)



Vaniglia (Orchidaceae)



Welwitschia mirabilis

TABLE 12. Taxonomic survey of flowering plant families known to have species showing crassulacean acid metabolism.

Agavaceae	Geraniaceae
Aizoaceae	Gesneriaceae
Asclepiadaceae	Labiatae
Asteraceae	Liliaceae
Bromeliaceae	Oxalidaceae
Cactaceae	Orchidaceae
Clusiaceae	Piperaceae
Crassulaceae	Polypodiaceae
Cucurbitaceae	Portulacaceae
Didieraceae	Rubiaceae
Euphorbiaceae	Vitaceae

Sources: Kluge & Ting 1978, Medina 1996.

Ma non solo...
AAM (Acquatic Acid Metabolism)

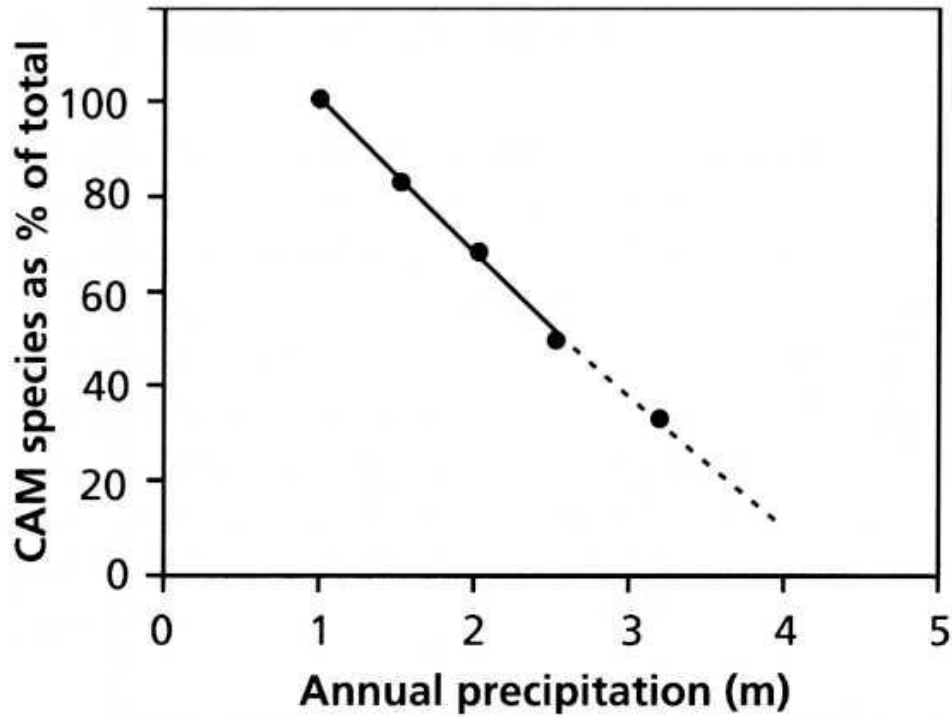


FIGURE 50. The relationship between percentage of epiphytic bromeliad species with CAM metabolism and mean annual rainfall in Trinidad (Winter & Smith 1996).

➤ **FORMAZIONE ACIDO C₄**

➤ **DECARBOSSILAZIONE**

C₄

SEPARATI SPAZIALMENTE

CAM

SEPARATI TEMPORALMENTE

NOTTE

(stomi aperti)



carbossilazione PEP



malato nel vacuolo

GIORNO

(stomi chiusi)

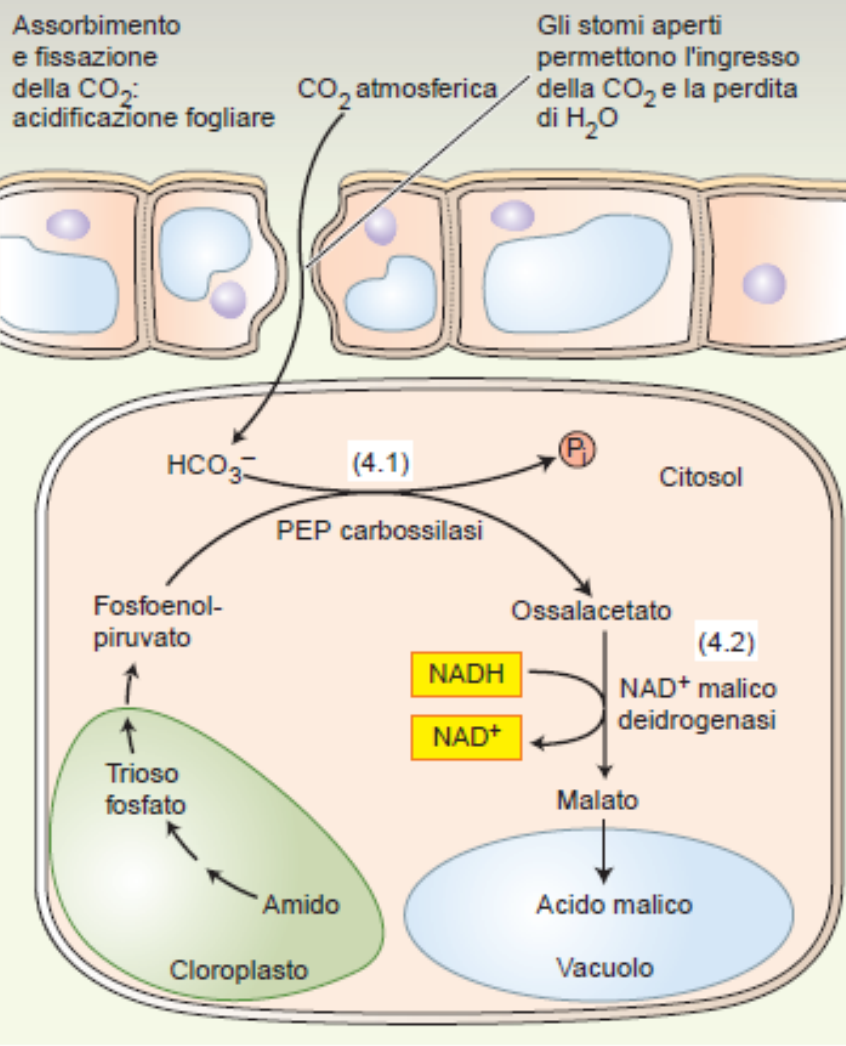


malato nel cloroplasto

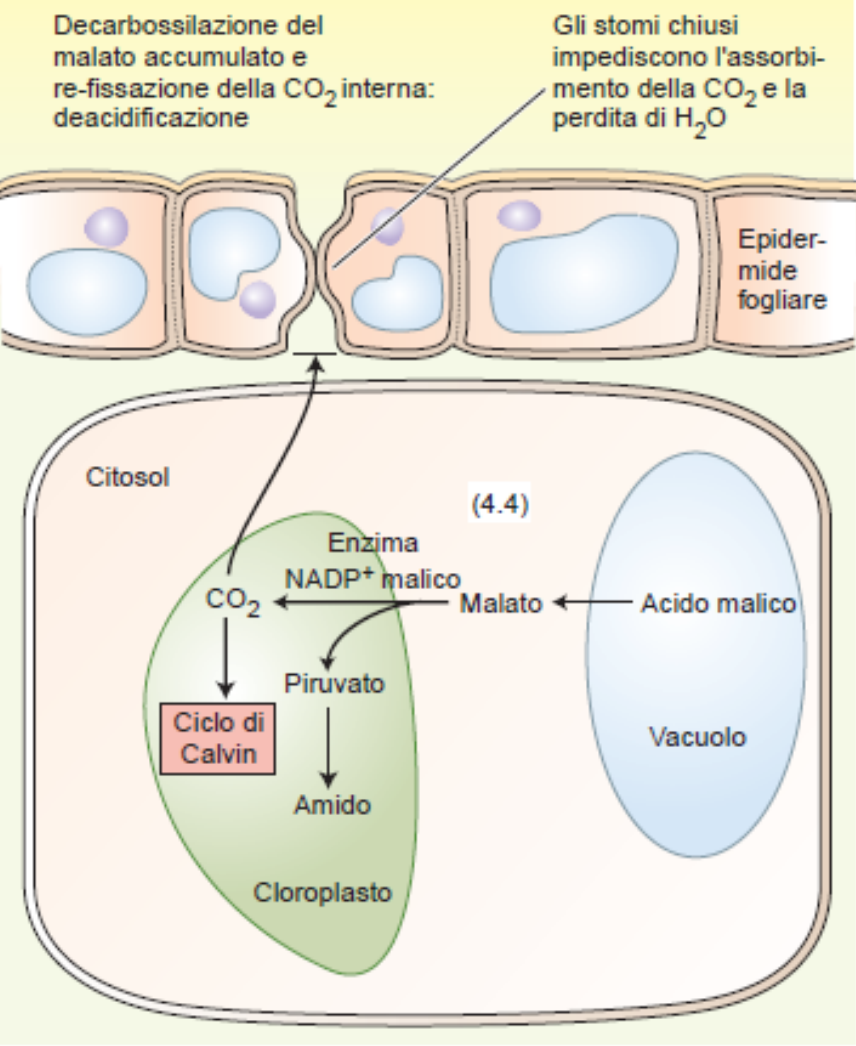


decarbossilazione

Buio: Stomi aperti



Luce: Stomi chiusi



CAM obligate: metabolismo CAM determinato ontologicamente
(Cactaceae, Agavaceae)

C₃ – CAM intermedie: metabolismo CAM sempre presente, ma minoritario rispetto a quello C₃

CAM facultative: metabolismo CAM indotto da fattori ambientali (es. disponibilità idrica)
es. *Mesembrianthemum crystallinum* (Aizoaceae)

In molti casi il metabolismo CAM è inducibile



Mesembryanthemum crystallinum

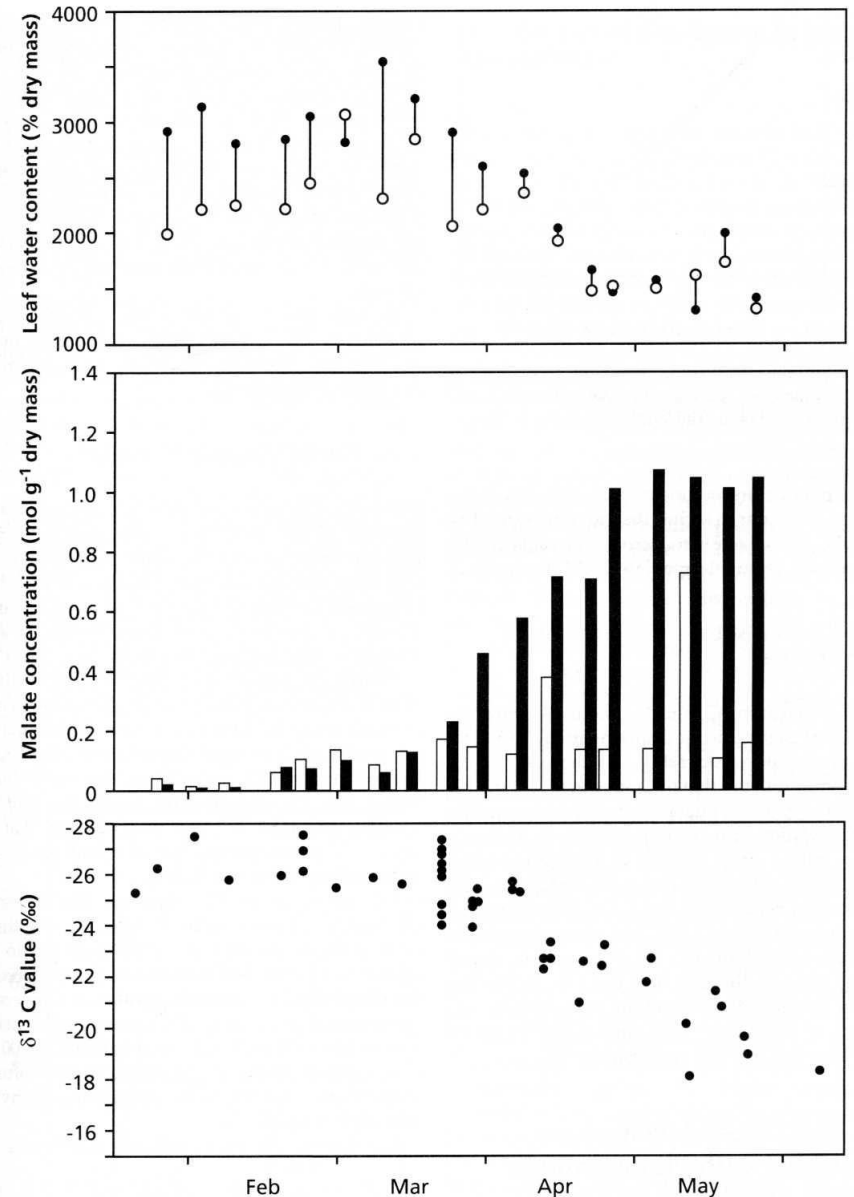
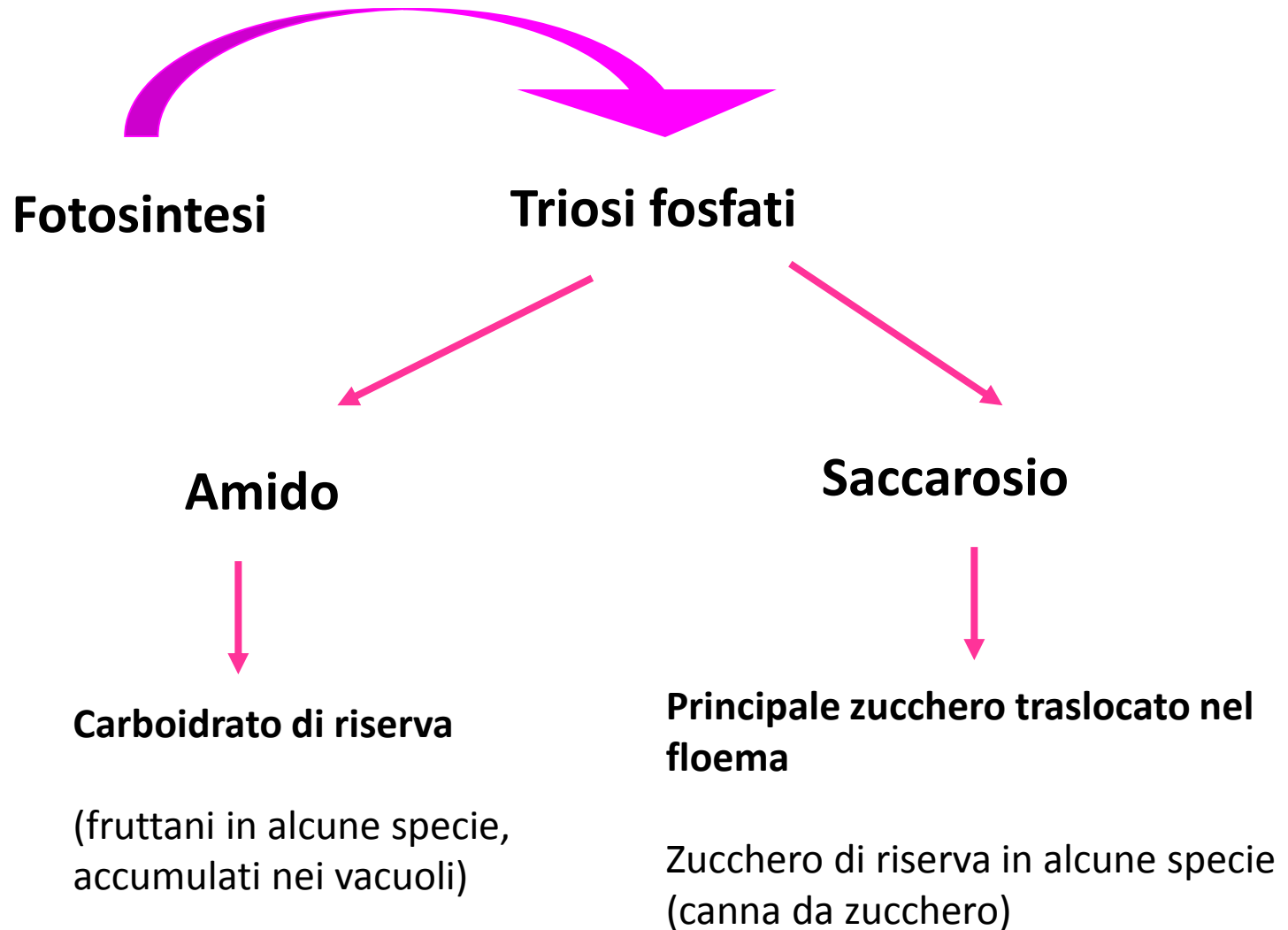
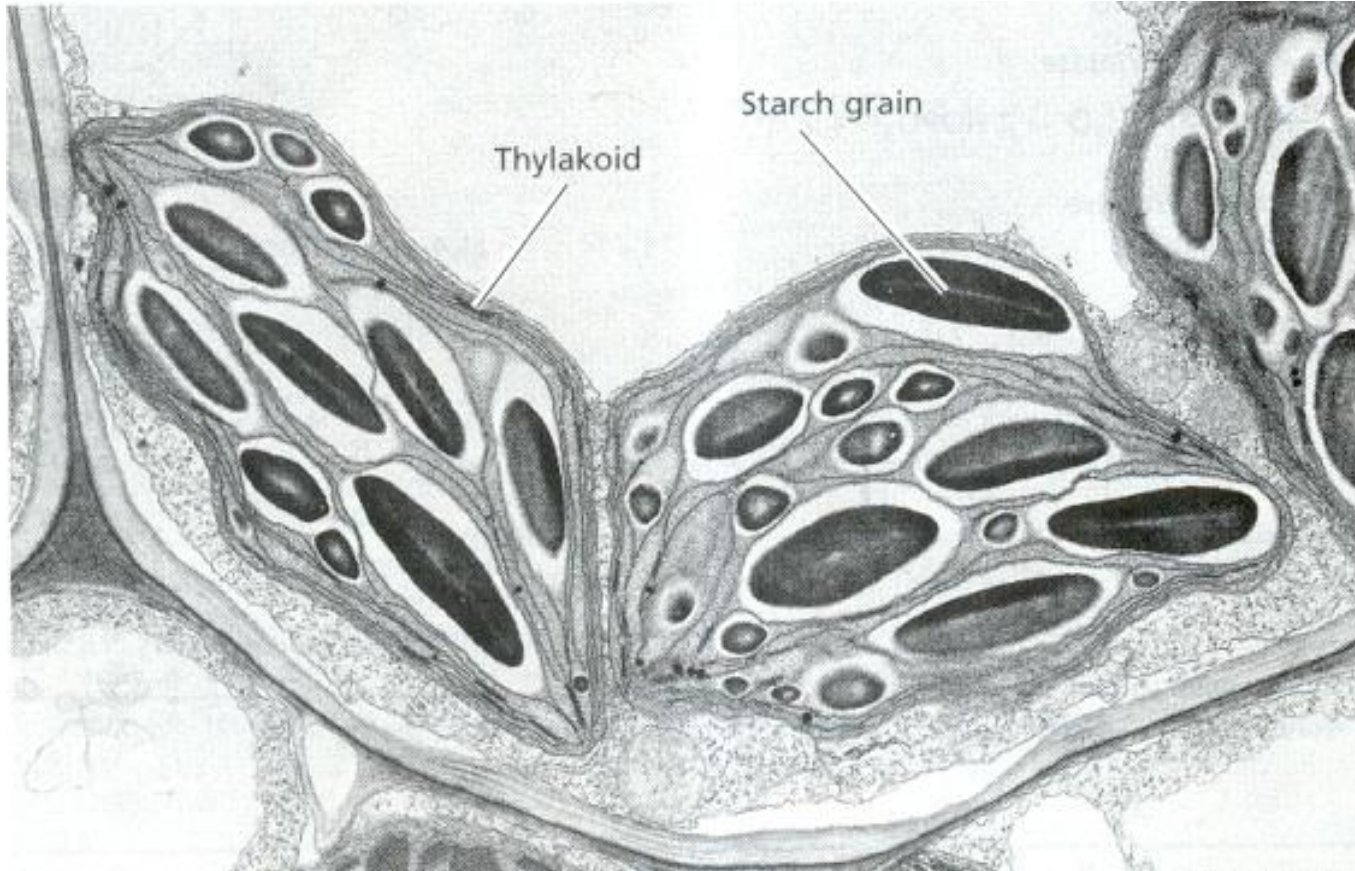


FIGURE 49. Induction of CAM in the facultative CAM species *Mesembryanthemum crystallinum*, growing in its natural habitat on rocky coastal cliffs of the Mediterranean Sea. There is a shift from the C₃ mode to CAM, coinciding with less discrimination against the heavy carbon isotope. Filled symbols and bars represent the end of the night; open symbols and bars represent end-of day values (Osmond et al. 1982).

SINTESI DI AMIDO E SACCAROSIO



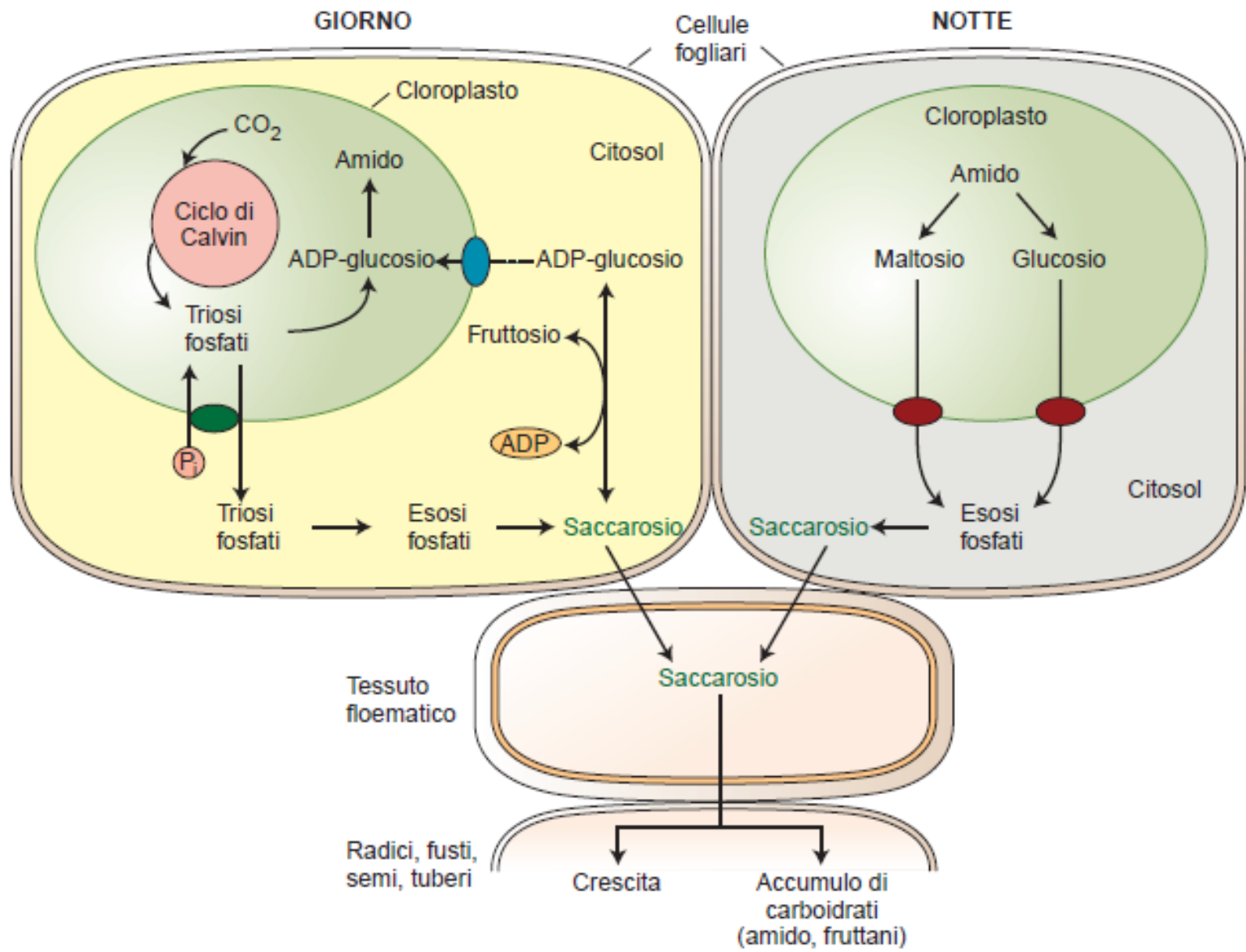
La sintesi dell'amido avviene nei cloroplasti



La sintesi del saccarosio avviene nel citosol

Alla luce: amido sintetizzato nei cloroplasti; saccarosio sintetizzato nel citosol ed esportato (floema)

Al buio: amido degradato per sostenere sintesi e trasporto di saccarosio



La velocità fotosintetica determina la quantità totale di carbonio fissato

L' ALLOCAZIONE è la distribuzione del carbonio fissato tra le varie vie metaboliche (amido/saccarosio)

LA RIPARTIZIONE è la regolazione della distribuzione del carbonio fissato tra i vari pozzi

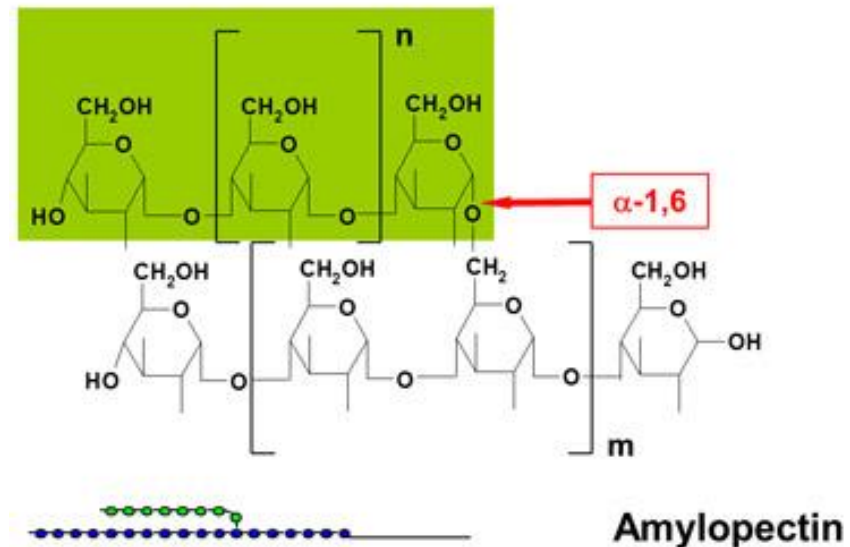
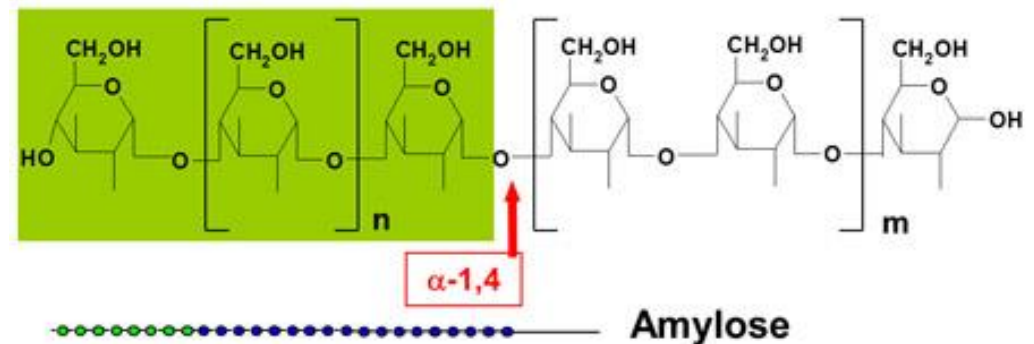
AMIDO: 2 tipi di polimeri

Amiloso (20%)

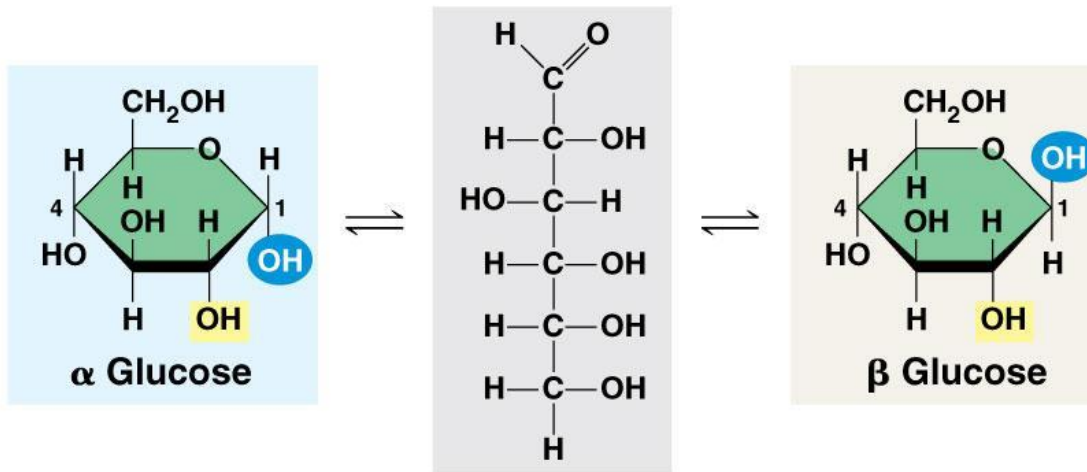
Catene lunghe e non ramificate di unità di glucosio legate da legami glucosidici α 1 \rightarrow 4
Da 500 a 20.000 unità di glucosio

Amilopectina (80%)

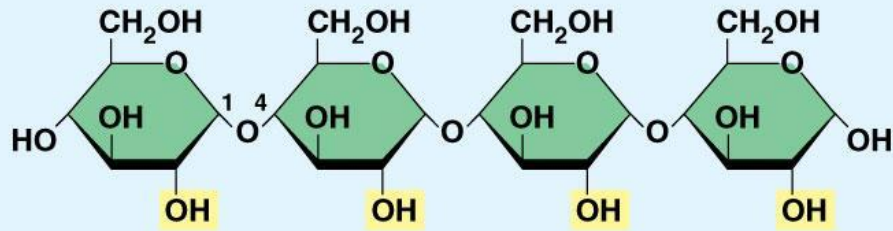
catene di glucosio legate da legami α 1 \rightarrow 4 con ramificazioni ogni 20-30 residui (legami α 1 \rightarrow 6)
Fino a 10^6 unità di glucosio



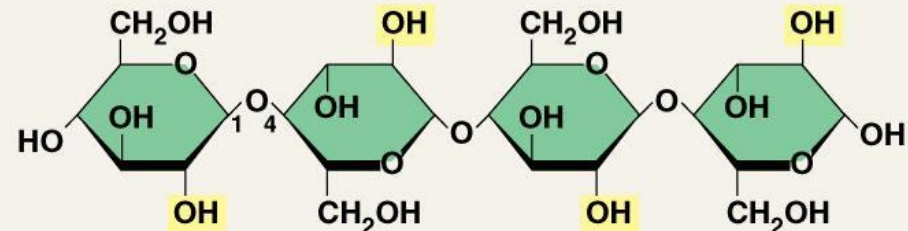
(a) α and β glucose ring structures



(b) Starch: 1–4 linkage of α glucose monomers



(c) Cellulose: 1–4 linkage of β glucose monomers

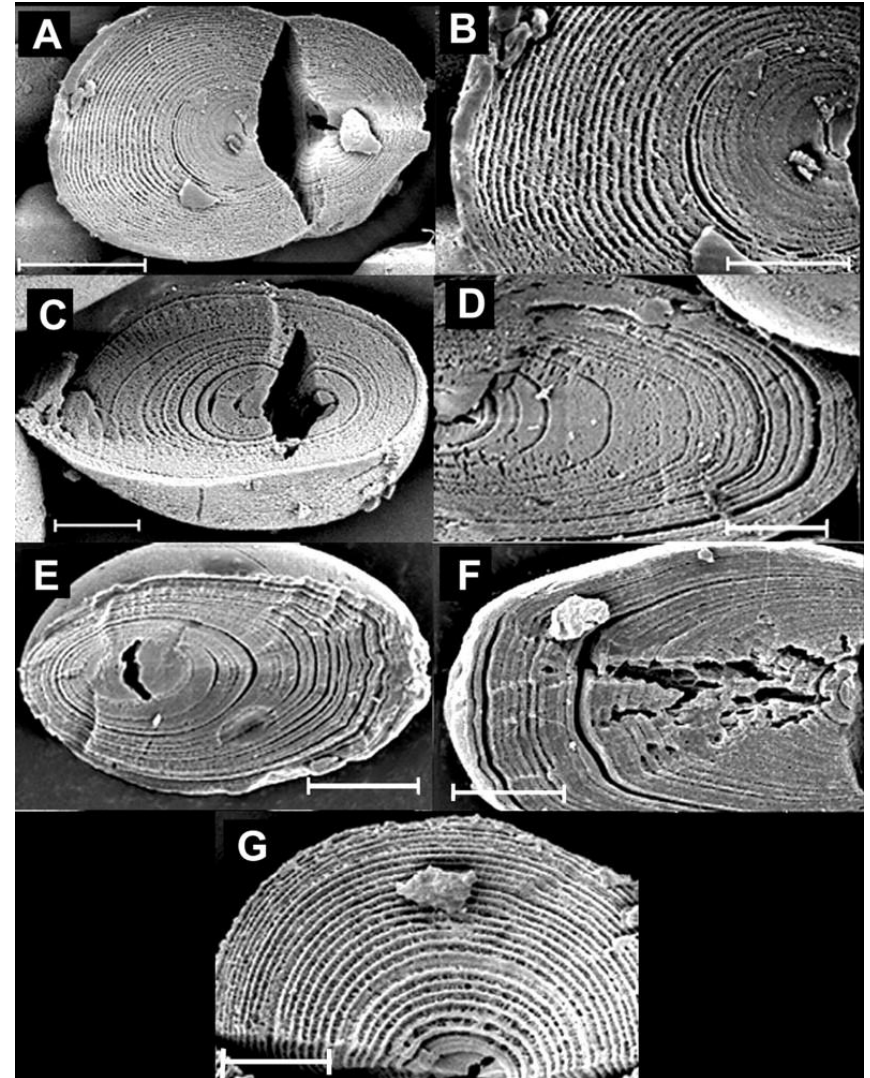


L'amido primario si accumula nei cloroplasti delle foglie

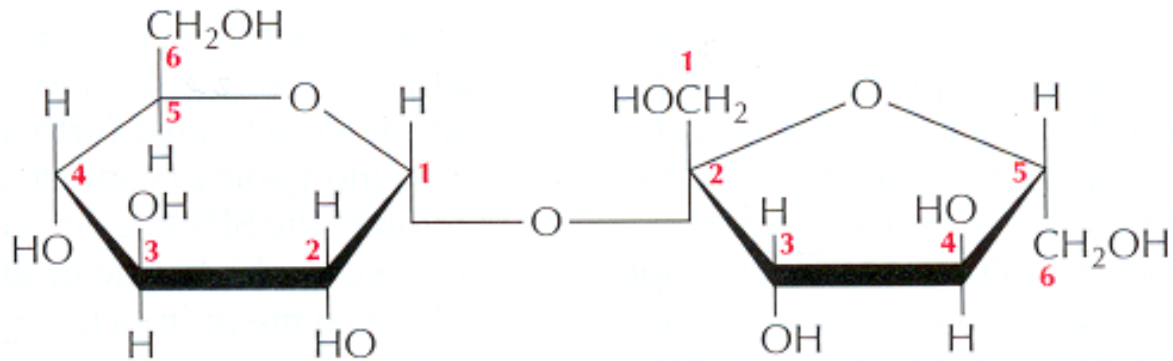
L'amido secondario si accumula nei plastidi

(amiloplasti dell'endosperma di semi con carboidrati di riserva, amiloplasti della radice)

Si accumula sotto forma di **granuli** densi e con struttura lamellare e semicristallina
- > Richiesta di un set di geni *ad hoc*

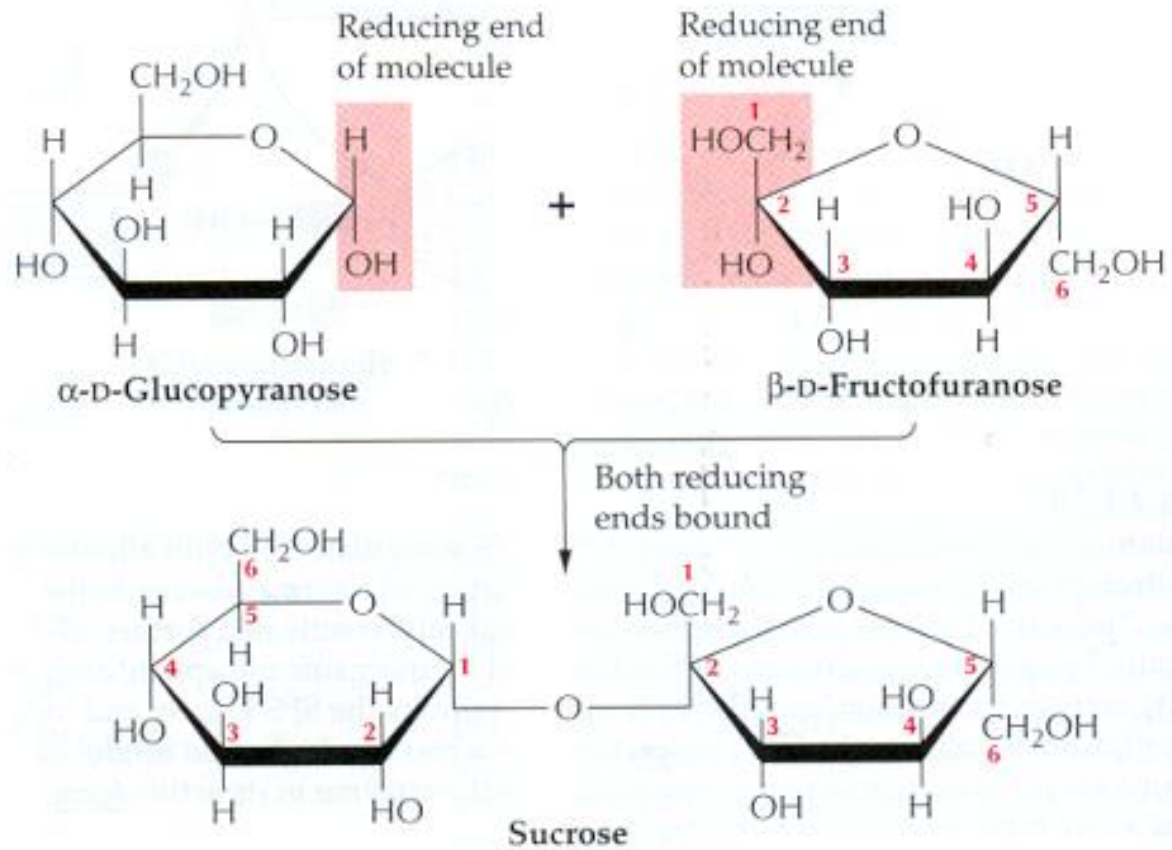


Saccarosio



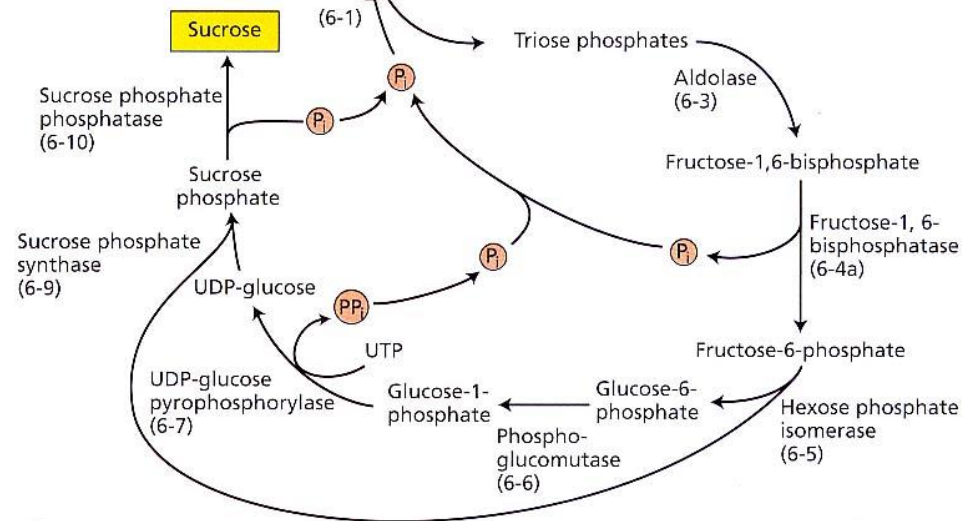
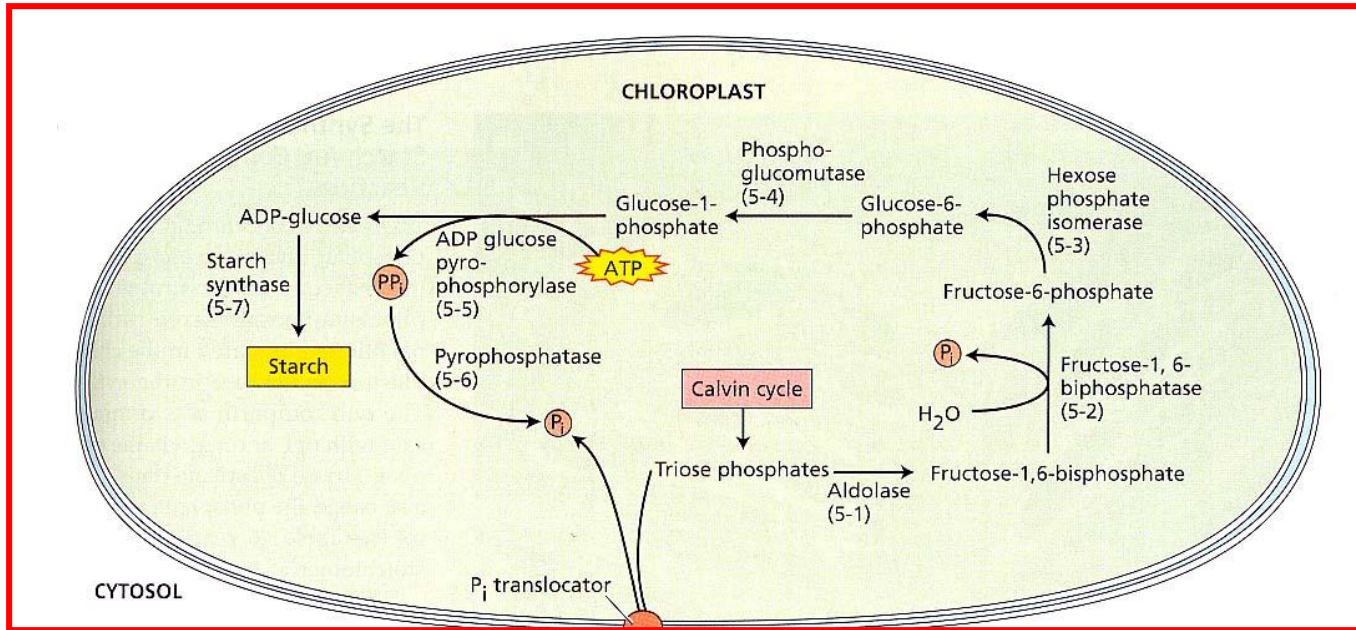
Disaccaride composto da glucosio e fruttosio

Legame α (1 \rightarrow 2)



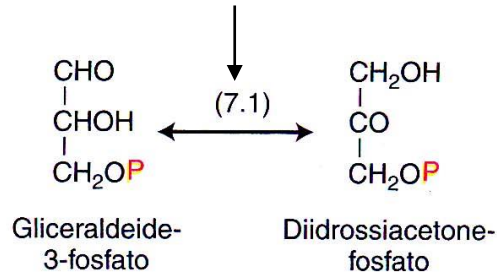
Il saccarosio è uno zucchero non riducente

Sintesi dell'amido



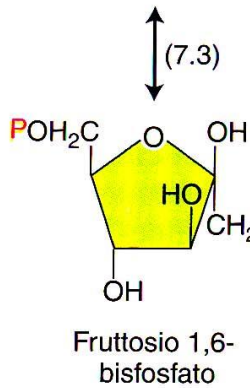
Sintesi dell'amido

Trioso fosfato isomerasi

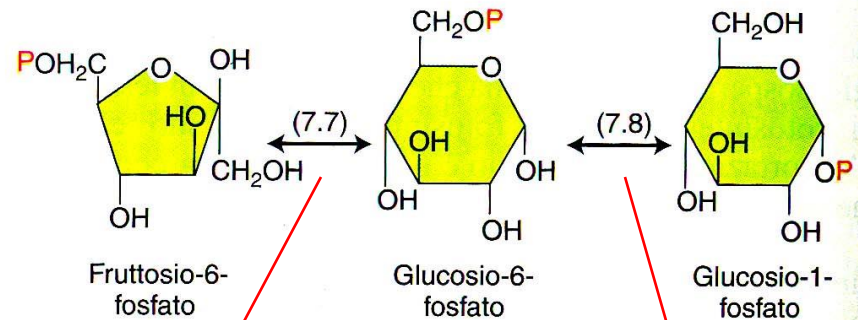
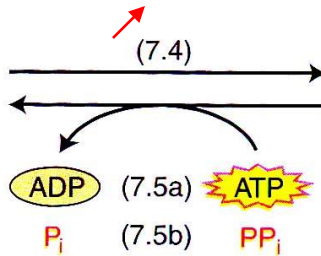


Triosi fosfati (7.2)

Aldolasi



Fruttosio 1,6 bisfosfatasi



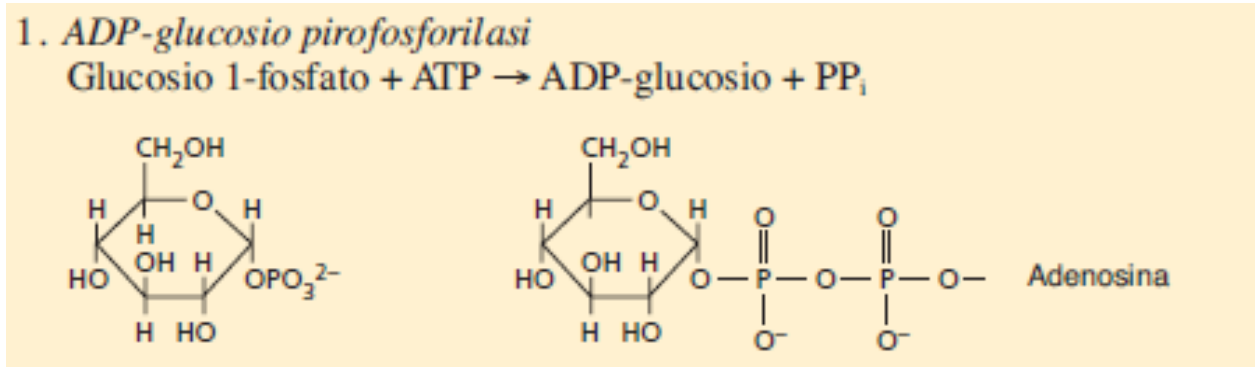
Pool di esosi fosfati

Esoso-fosfato isomerasi

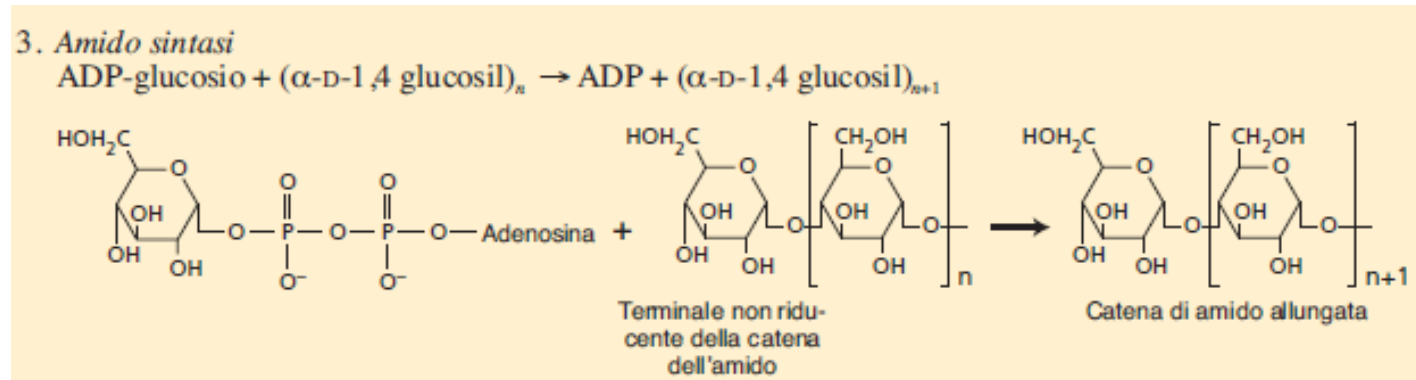
Fosfoglucomutasi



ADP Glucosio pirofosforilasi (AGP)

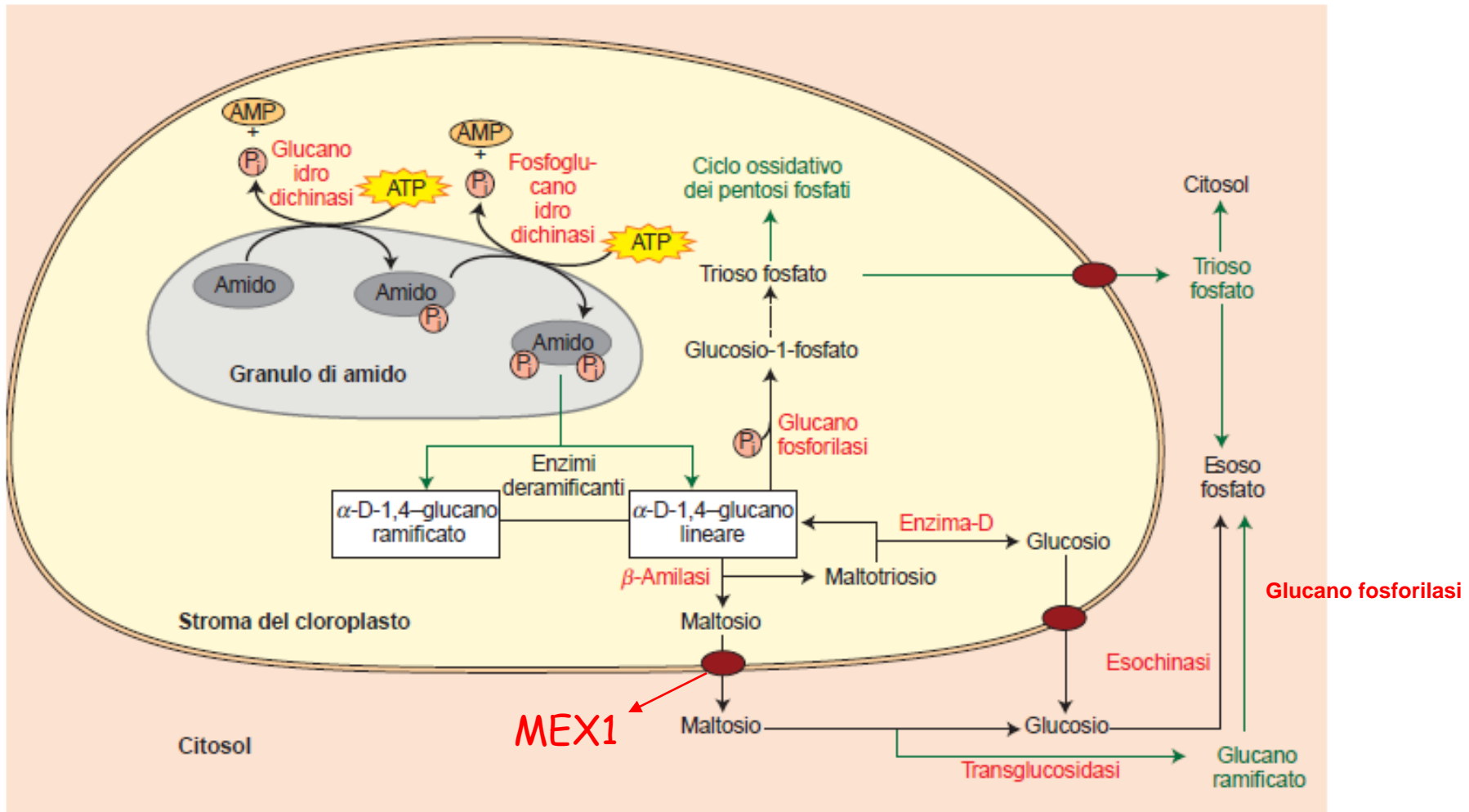


Amido sintasi



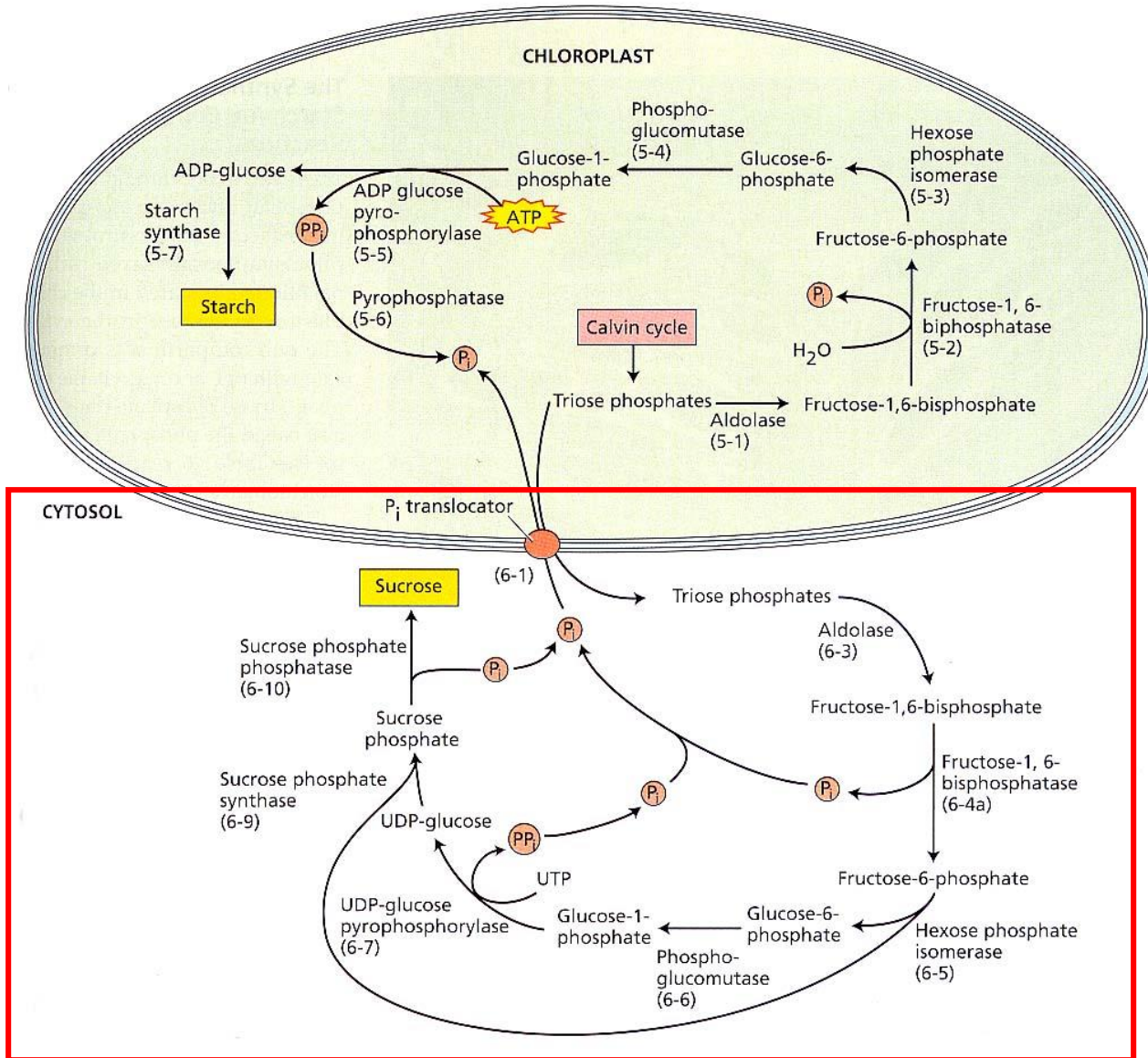
Enzima ramificante: catalizza l'inserzione di legami 1-6

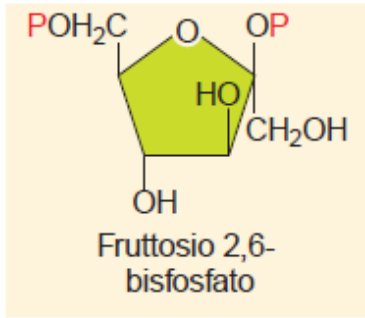
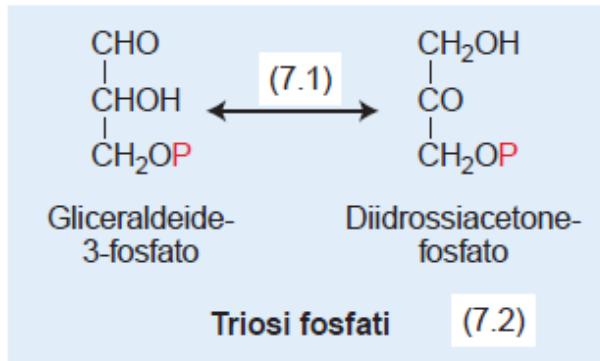
DEGRADAZIONE DELL'AMIDO



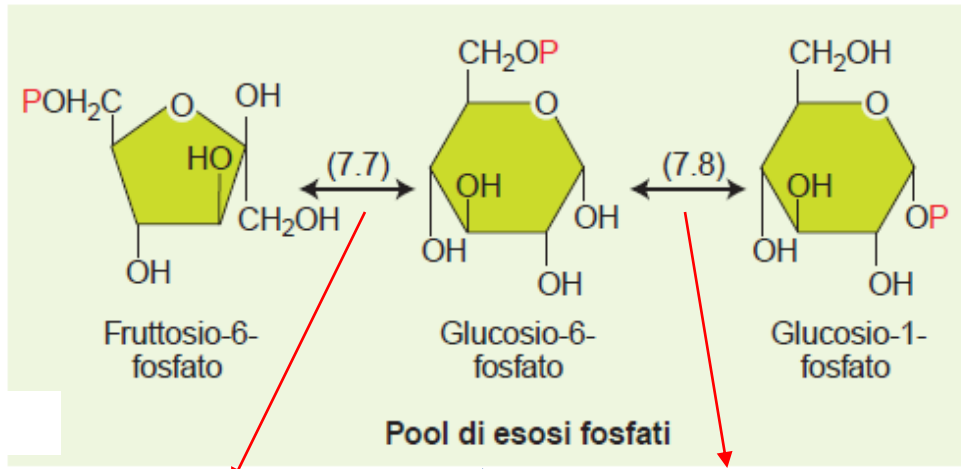
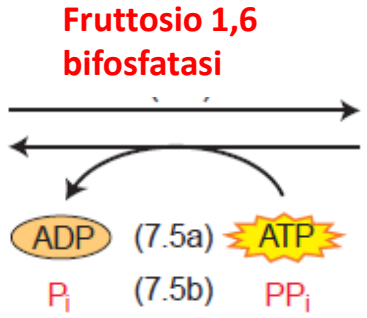
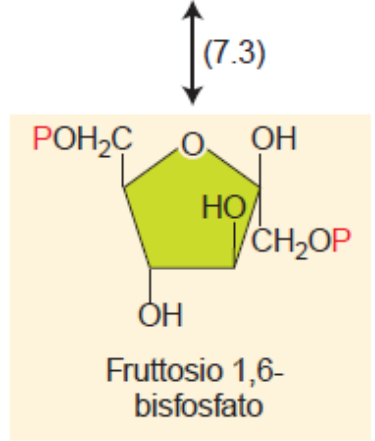
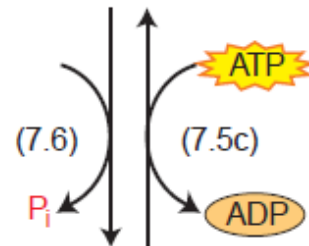
1. Glucano-acqua-dichinasi, Fosfoglucono-acqua-dichinasi
2. Enzimi deramificanti
3. β -amilasi (produce maltosio); glucano fosforilasi (glucosio 1-P)

Sintesi del saccarosio





Nel citosol la Fruttosio 1,6-bisfosfatasi è regolata dall'inibitore Fruttosio 2,6-bisfosfato, non dalle tioredossine (attivate solo di giorno)



Fosfofruttochinasi

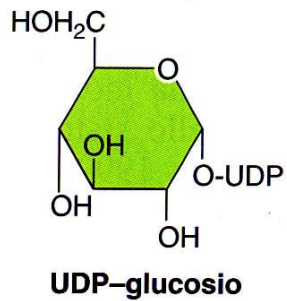
Esoso-fosfato isomerasi

Fosfoglucomutasi

equilibrio

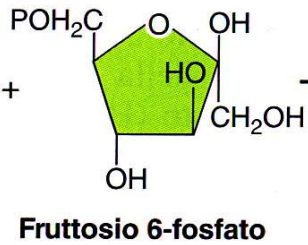
Sintesi del saccarosio

Uridin difosfato-glucosio

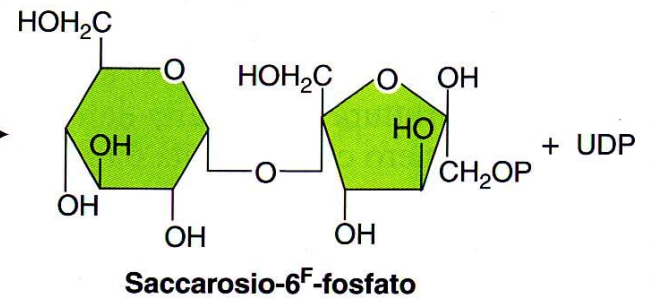


UTP + Glucosio 1-fosfato

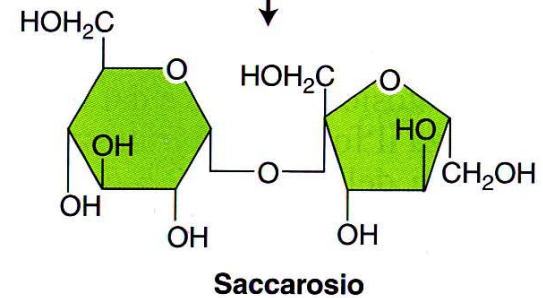
UDP-Glucosio pirofosforilasi



Saccarosio fosfato sintetasi

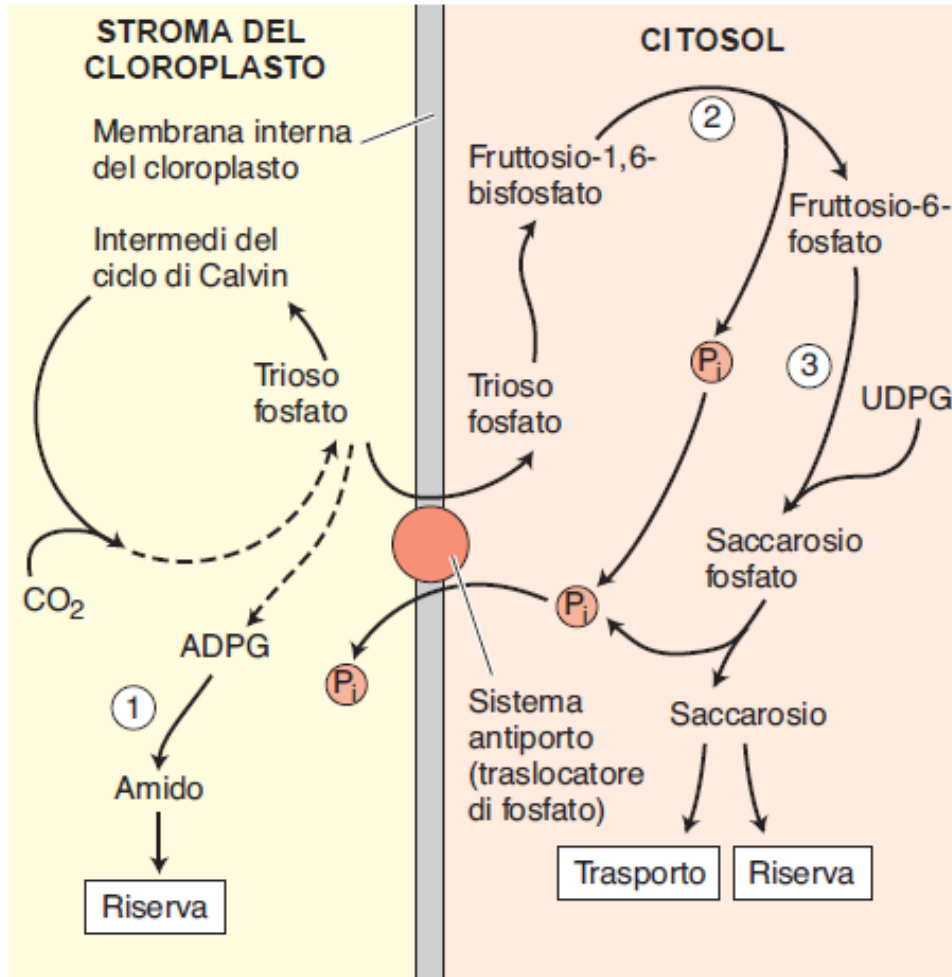


Saccarosio fosfato fosfatasi



Regolazione della allocazione del C tra amido e saccarosio

regolazione tra accumulo, metabolismo e trasporto



Elevata sintesi di saccarosio



Rilascio P_i nel citosol



Scambio P_i con trioso fosfati

Bassa sintesi di saccarosio



Poco P_i nel citosol



Trioso fosfati restano nel cloroplasto



Sintesi di amido

Perché sintetizzare e degradare amido (dispendio energetico) invece di accumulare saccarosio?

Mantenimento equilibrio osmotico!

(Nota: ciascuna catena di amido contiene alcune centinaia di residui di glucosio)