



FOTOSINTESI



Gli stadi del processo che portano da **PGA** a **glucosio** , e quindi a **saccarosio** e **amido** sono esattamente opposti a quelli della glicolisi.

Infatti il **PGA**, oltre a formarsi nella fotosintesi è anche un intermedio nella **glicolisi**, dato che le principali vie metaboliche possono essere percorse nei due sensi: in questo caso, se è possibile ottenere **PGA** da **glucosio** sarà anche possibile ottenere **glucosio** da **PGA**.

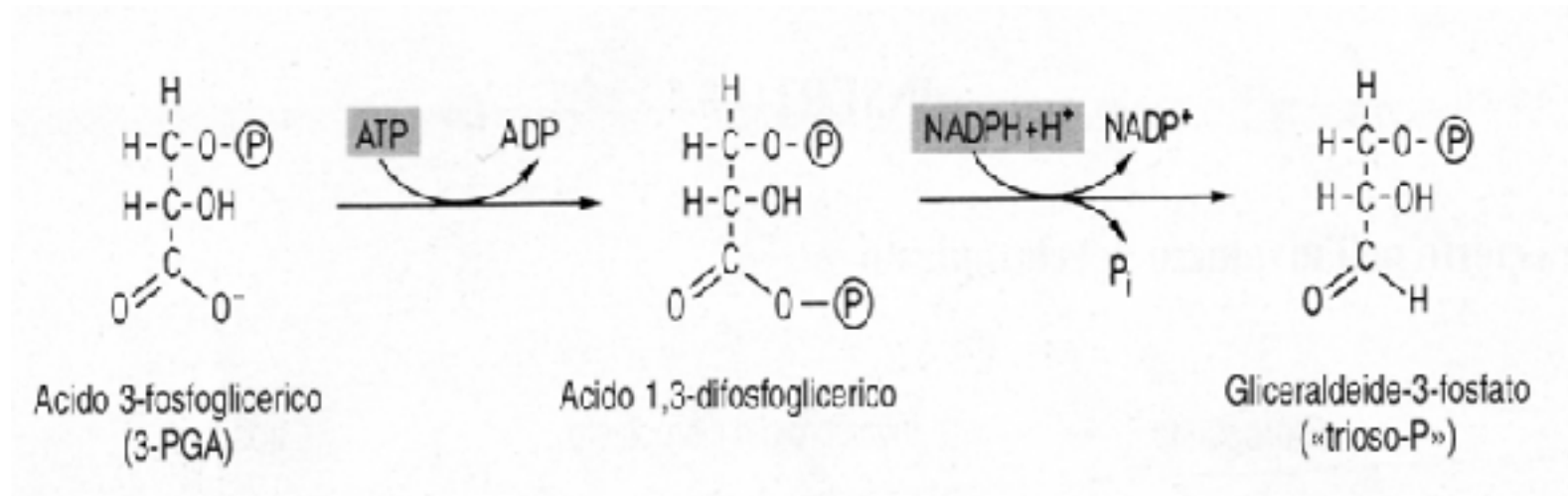
L'unica diversità tra i due opposti processi consiste nel **coenzima riducente**, che nel caso della fotosintesi è l'**NADPH**, nel caso della glicolisi l'**NAD**.

Questo conferma la regola secondo la quale **NAD** è il tipico coenzima delle vie metaboliche degradative in cui prevalgono le ossidazioni, mentre **NADP** è il tipico coenzima delle vie biosintetiche in cui prevalgono le riduzioni.

Le **reazioni di riduzione del PGA** possono essere sintetizzate in un semplice schema.



Riduzione del PGA



Il **PGA** deve essere ridotto, con spesa di energia (ATP+NADPH). Il **PGA** viene dapprima attivato dall'**ATP**, che gli dona il gruppo **fosfato**, quindi ridotto a GLICERALDEIDE-3-P (**GP3**) dall'**NADPH**.





Quale è quindi il destino della G3P?

In linea teorica, ogni due molecole di trioso fosfato potrebbe essere prodotto un glucosio, che potrebbe entrare nelle vie di biosintesi del saccarosio o dell'amido.

Tuttavia, se ciò avvenisse, sarebbe al contempo necessario trovare un modo per rigenerare il ribulosio 1-5 difosfato per vie esterne al ciclo di Calvin. Ma il ciclo di Calvin, è, appunto, un **ciclo**. Questo vuol dire che gli intermedi di reazione, alla fine del ciclo, si riformano.

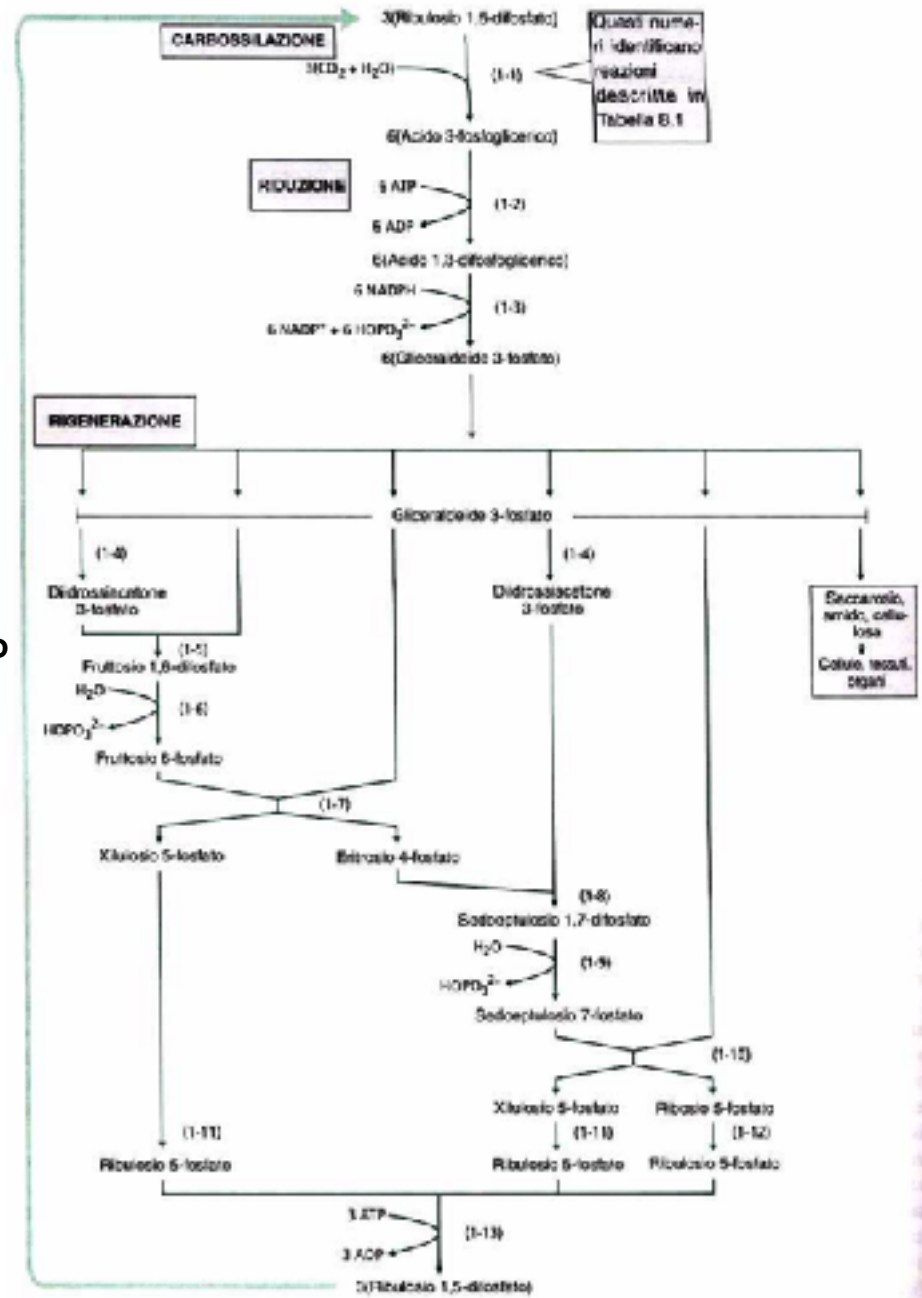
Questo accade anche per il ribulosio 1-5 difosfato. Le vie metaboliche che portano alla sua rigenerazione sono complesse, e coinvolgono zuccheri fosfati a 4, 5, 6, 7 atomi di C, oltre al consumo di un ATP per molecola rigenerata.

All fine, ogni tre "giri" del ciclo di Calvin, viene liberata una molecola di G3P.





Rigenerazione del RuDP



Conversione della GP3 in esosi

La **GP3** prodotta nella fase oscura della fotosintesi viene poi trasformata in zuccheri esosi.

La **GP3** ha già il numero di ossidazione di uno zucchero e quindi la sua successiva trasformazione non richiede altre tappe riduttive endoergoniche (con spesa di energia).

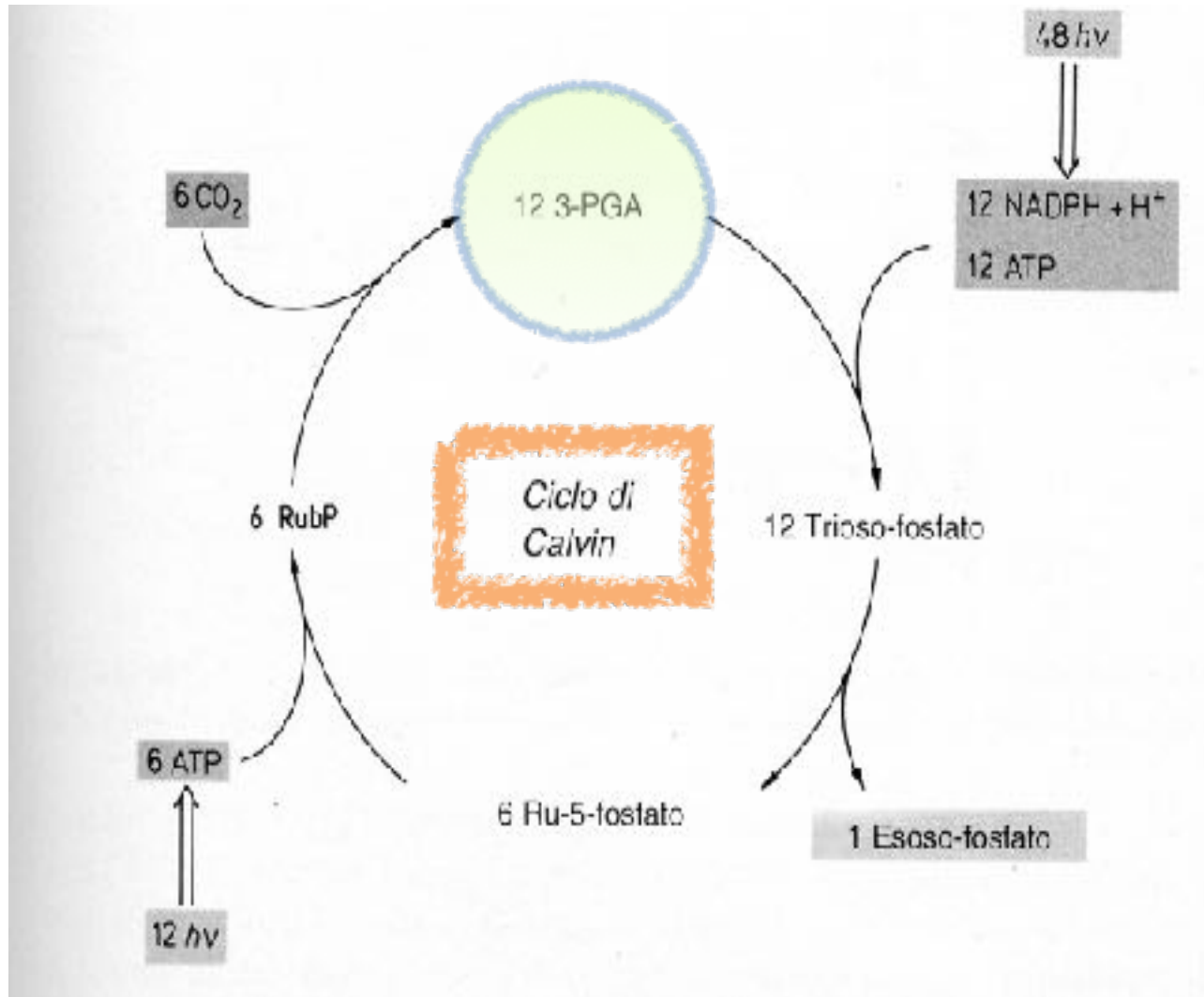
Nel processo bilanciato di costruzione di una molecola di **esoso** (glucosio), 6 molecole di **CO₂** si combinano con 6 di **RuDP** per formarne 12 di **PGA**.

Solo 2 molecole di **GP3** sono destinate alla sintesi di esosi, mentre le altre dieci (!!!) possono proseguire il ciclo per diventare, alla fine, 6 molecole di **RuDP**, pronte ad essere utilizzate di nuovo («rigenerazione del substrato»).

I conti tornano: 10 **GP3** significano 30 atomi di C ($10 \times 3 = 30$), così come 6 RuDP ($6 \times 5 = 30$).



METABOLISMO C3 o delle piante C3



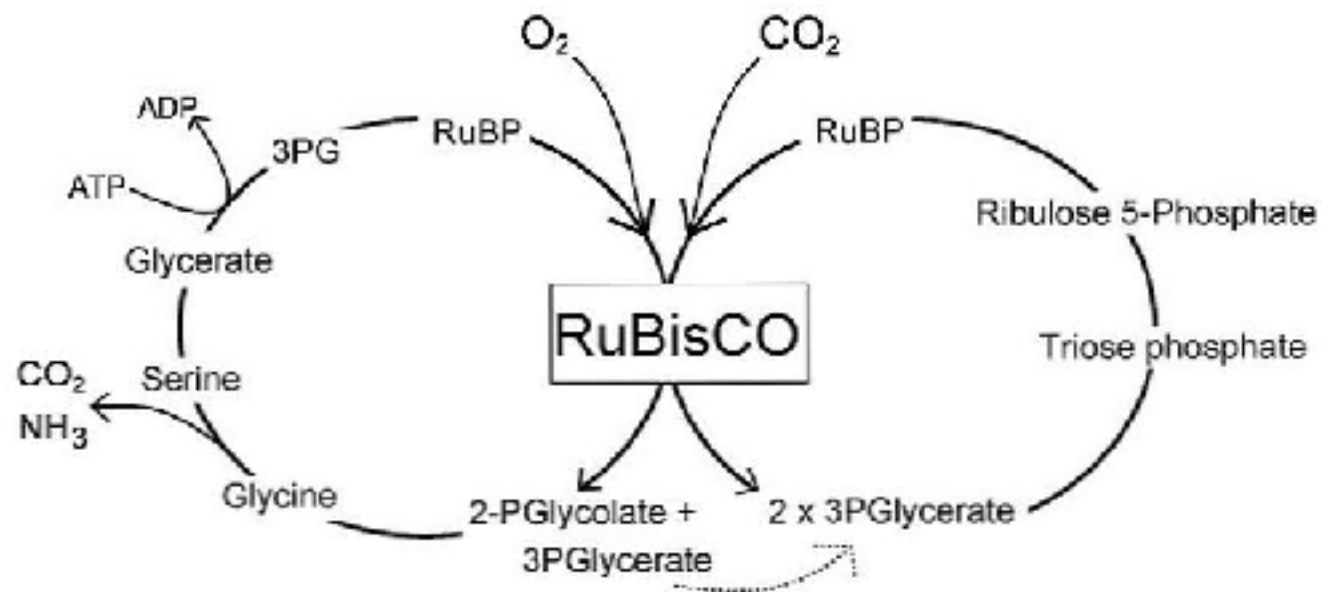
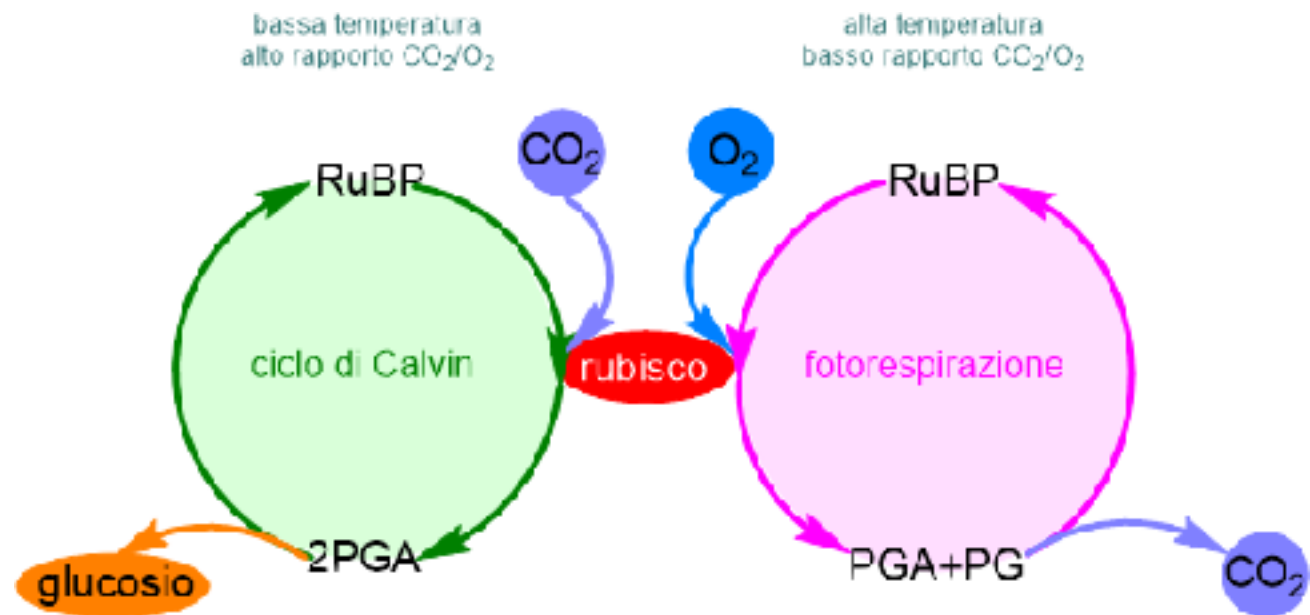


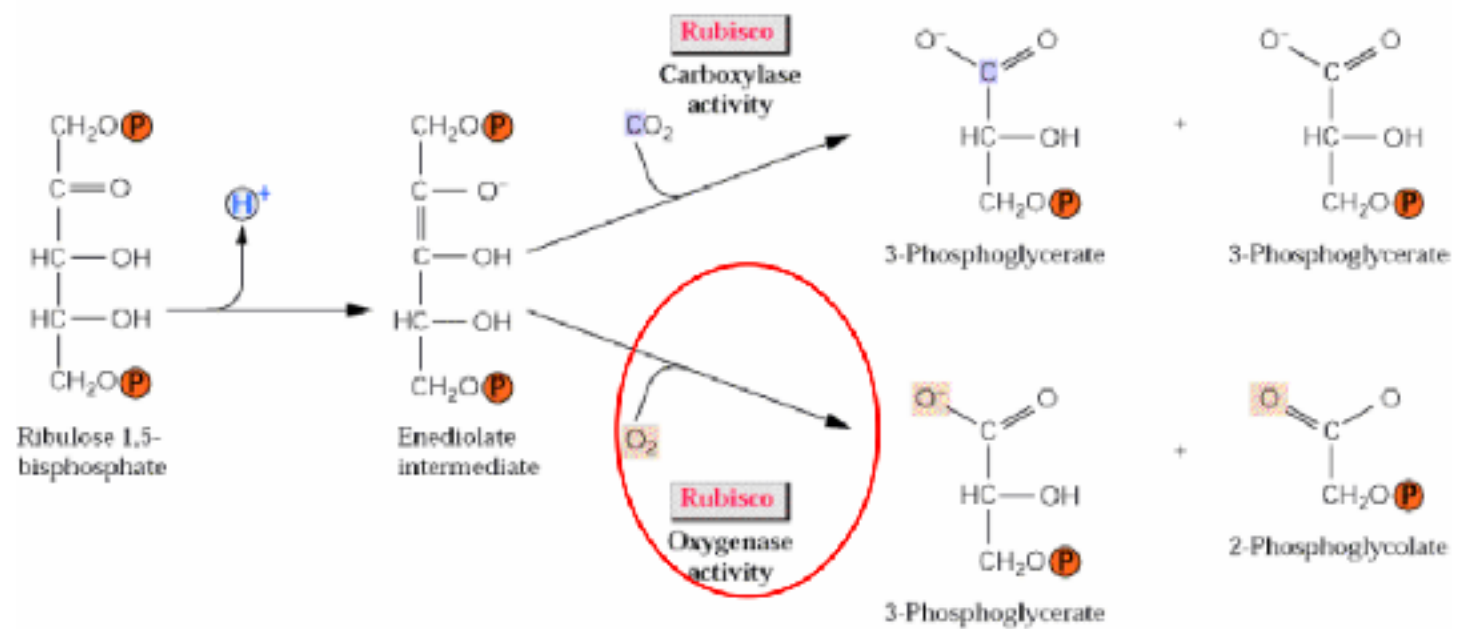
La **RibUlosio BlfoSfato Carbossilasi - Ossigenasi**, come dice il nome, ha la capacità di catalizzare l'unione del **RuDP** sia a una molecola di anidride carbonica, che a una molecola di ossigeno. Questa sua mancanza di specificità è probabilmente dovuta al fatto che questo enzima si è evoluto quando sul pianeta la quantità di ossigeno in atmosfera era molto bassa, e quella di anidride carbonica al contrario molto alta. Di conseguenza, questa sua mancanza di specificità non era un problema.

Tuttavia, le condizioni in cui l'enzima si trova a operare fanno sì che spesso il problema della ossigenazione del RuDP sia molto importante.

Perché è un problema? Perché l'ossigenazione del RuDP produce non due molecole di **3-fosfoglicerato**, ma una di 3-fosfoglicerato, e una di **2-fosfoglicolato** ($C_2O_3H_2$). Di conseguenza, il quantitativo di triosi prodotto è 1, e non 2. Questo ha ovvie conseguenze a cascata sui passaggi successivi, e in particolare impedisce la rigenerazione del RuDP, che deve essere prodotto per altre vie, con conseguente "spesa" in termini di energia.










A 25° Carbossilazione/ossigenazione = 3:1

Cosa succede quando la temperatura aumenta?



A 35° Carbossilazione/ossigenazione = 1:1





Per la LEGGE DI HENRY, a temperatura costante, la solubilità di un gas in un liquido è proporzionale alla pressione che il gas esercita sulla soluzione.

$$C = P \times \alpha$$

α = coefficiente di assorbimento alla temperatura T

C = volume di gas (riportato a 0°), assorbito alla pressione di 1 atmosfera da un volume unitario di acqua

Il coefficiente di assorbimento è diverso per ogni gas e diminuisce all'aumentare della temperatura; quindi un aumento di T determina una diminuzione della concentrazione di gas nella soluzione in misura diversa da gas a gas

A 25°C è di 1.3×10^{-3} mol/atm·L per l'ossigeno, e 3.4×10^{-2} mol/atm·L per l'anidride carbonica.

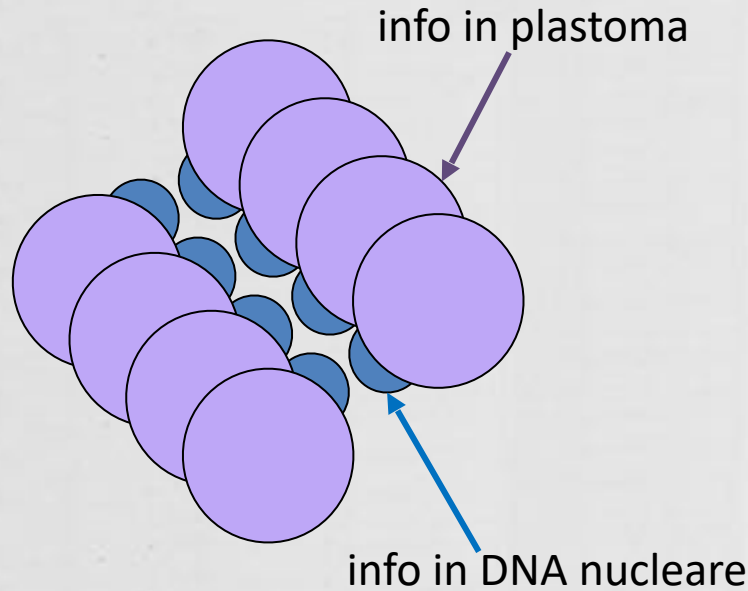




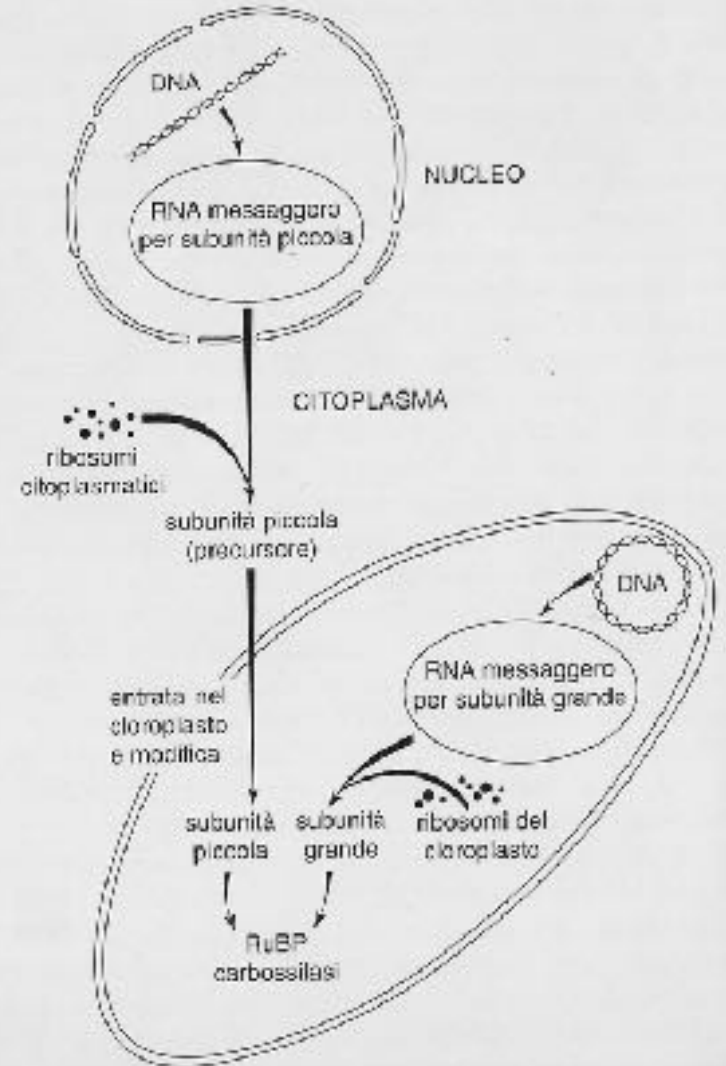
| Temperature (°C) | α (CO ₂) | [CO ₂] (μM in solution) | α (O ₂) | [O ₂] (μM in solution) | $\frac{[\text{CO}_2]}{[\text{O}_2]}$ |
|------------------|-----------------------------|-------------------------------------|----------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|
| 5 | 1.424 | 21.93 | 0.0429 | 401.2 | 0.0515 |
| 15 | 1.019 | 15.69 | 0.0342 | 319.8 | 0.0462 |
| 25 | 0.759 | 11.68 | 0.0283 | 264.6 | 0.0416 |
| 35 | 0.592 | 9.11 | 0.0244 | 228.2 | 0.0376 |



PS: il DNA che codifica per la RUBISCO sta in parte nel cloroplasto, in parte nel nucleo della cellula.



La ribulosibisfosfato carbossilasi (RuBP carbossilasi) dei cloroplasti è fatta da 8 subunità grandi e 8 subunità piccole. L'informazione per costruire la subunità grande è contenuta nel DNA dei cloroplasti, quella per costruire la subunità piccola nel DNA nucleare. Nel citoplasma viene sintetizzato un precursore della subunità piccola, di dimensioni maggiori di quelle definitive: una parte di questa molecola viene idrolizzata nel passaggio attraverso l'involucro del cloroplasto. Lo schema illustra in quali compartimenti cellulari avvengono le diverse fasi del «montaggio» della RuBP carbossilasi.





Tuttavia, non è solo “colpa” della temperatura.

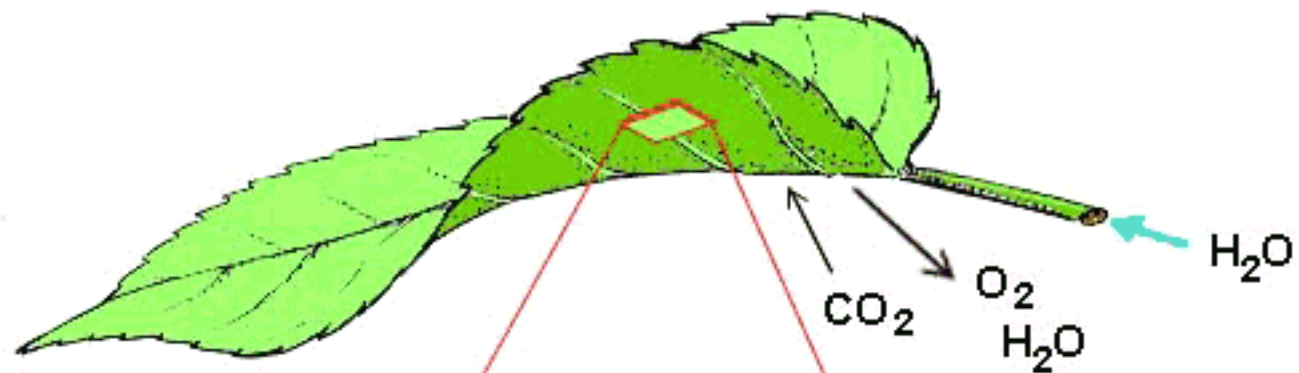
O meglio, la temperatura non agisce esclusivamente da sola, e solo direttamente sulla solubilità dei gas.

Conta anche l’acqua.

Sul pianeta il clima varia molto, specialmente in senso latitudinale dall’equatore ai poli. Abbiamo climi che variano da caldi e aridi, in particolare nei deserti, ai climi tropicali, caldi ma con abbondanza d’acqua, ai climi temperati, come il nostro, ove raramente hanno eventi di eccessiva aridità, a climi continentali freddi come quelli del nord Europa.

La disponibilità idrica, combinata con la temperatura, è un’altro fattore importante per l’equilibrio tra fotorespirazione e ciclo di Calvin.





**NERVATURA
CON TESSUTI
LEGNOSO
E CRIBROSO**

**MESOFILLO
A PALIZZATA**

**MESOFILLO
SPUGNOSO**

CUTICOLA

STOMI

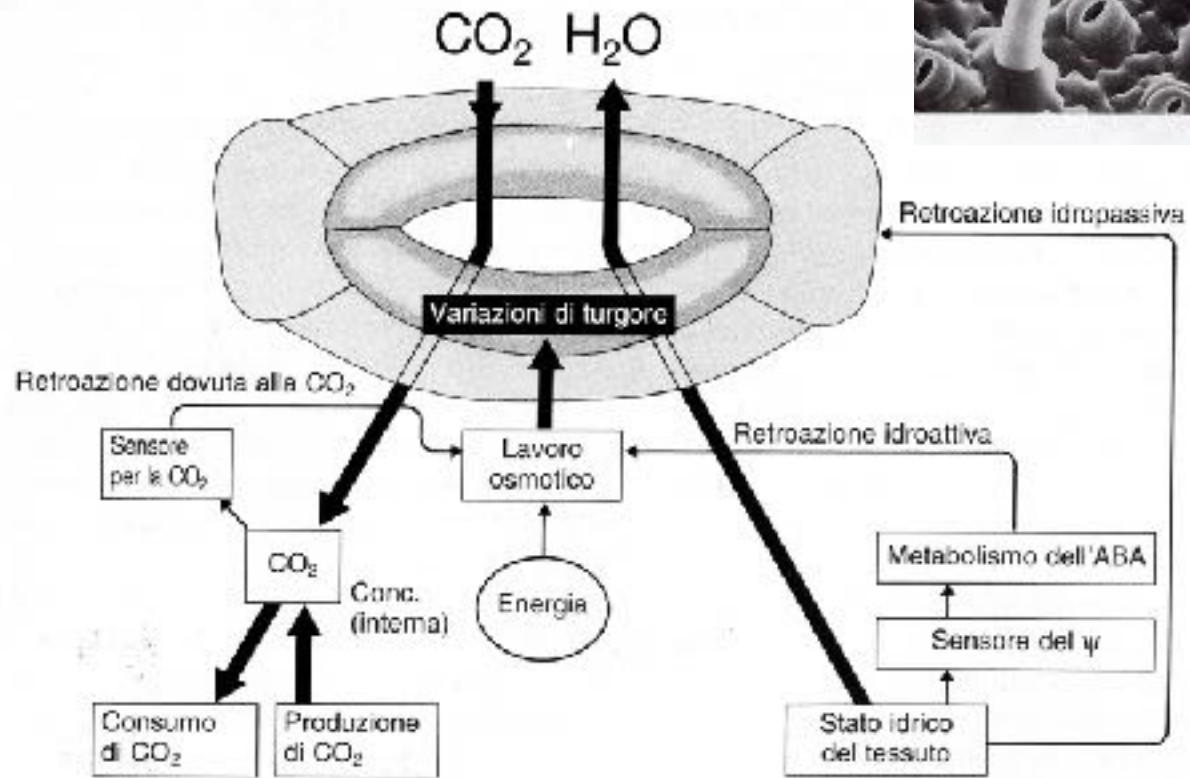
CUTICOLA

**EPIDERMIDE
SUPERIORE**

**EPIDERMIDE
INFERIORE**



Gli stomi



Modello di sistema di retroazione che interviene nel controllo dei movimenti di apertura degli stomi. I sensori per la concentrazione di CO_2 e per il potenziale idrico fogliare (ψ) sono situati nelle cellule stomatiche. ABA: acido abscissico (da RASCHKE).





Le piante si trovano costrette a gestire anche la quantità d'acqua che hanno a disposizione.

Se vi è abbondanza d'acqua, tenere gli stomi aperti anche a alte temperature non è un grosso problema, visto che le perdite possono essere compensate facilmente.

Tuttavia, in condizioni di scarsa disponibilità idrica o comunque quando l'evapotraspirazione non riesce a essere compensata, le piante si trovano costrette a chiudere gli stomi durante porzioni del giorno, o per l'intera giornata, per evitare perdite letali di acqua.

Tuttavia, la fotosintesi non si ferma, causando un aumento della concentrazione dell'ossigeno, e una diminuzione della concentrazione di anidride carbonica. A stomi chiusi non vi è ricambio dell'aria arricchita di ossigeno della foglia, con conseguente incremento della fotorespirazione, e consumo di energia per ripristinare gli intermedi di reazione del ciclo di Calvin.

Per questo, in alcuni gruppi di piante si sono evoluti metabolismi additivi al ciclo di Calvin, detto C₃. Questi sono i metabolismi C₄ e CAM.



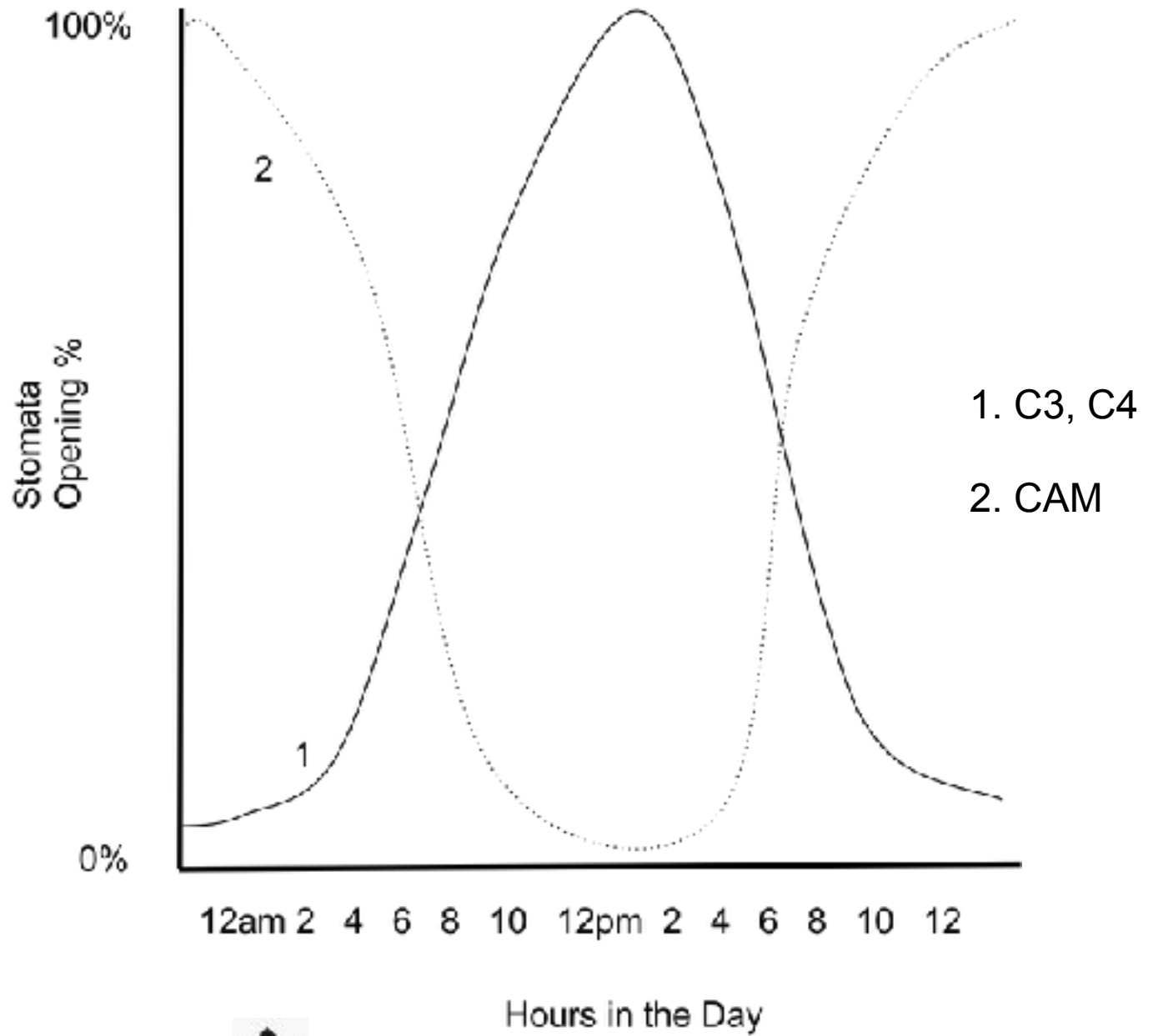


Le piante "CAM" aprono i loro stomi di notte, quando, negli ambienti in cui vivono, fa più freddo, e quindi l'acqua evapora più lentamente, e fissano l'anidride carbonica in composti a 4 atomi di carbonio che vengono conservati in grandi vacuoli.

Di giorno chiudono gli stomi e rilasciano l'anidride carbonica, saturando la RuBisCO e limitando la fotorespirazione. Questo metabolismo è fortemente limitato dalla capacità di immagazzinare carbonio nei vacuoli, e risulta quindi vantaggioso solo in ambienti con forte limitazione di disponibilità idrica.

Le altre piante (C3, C4) apre gli stomi durante il giorno, in risposta all'intensità della luce, l'umidità e la concentrazione di anidride carbonica.





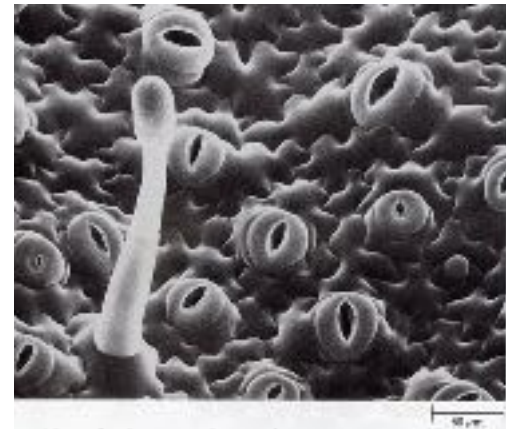


Nelle piante C3 e C4, quando le condizioni sono favorevoli all'apertura (ad esempio, elevata intensità di luce e alta umidità), una pompa protonica favorisce la fuoriuscita di protoni (H^+) dalle celle di guardia, con conseguente negativizzazione del potenziale elettrico. Questo fa aprire canali voltaggio-dipendenti per il potassio (K^+).

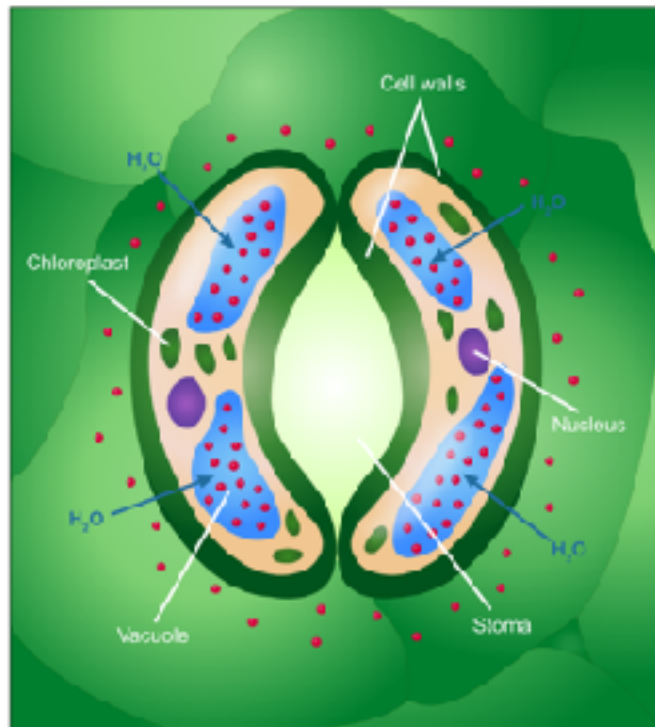
Per mantenere questa tensione negativa, anioni bilanciano l'afflusso di potassio. L'aumento della concentrazione di soluto abbassa il potenziale idrico della cellula, con conseguente afflusso d'acqua per osmosi, e aumento di volume e della pressione del turgore.

Quindi, a causa degli anelli di microfibrille di cellulosa che impediscono un aumento in larghezza, e al fatto che le estremità delle cellule di guardia sono tenute saldamente in posizione dalle cellule epidermiche circostanti, queste possono solo incurvarsi, creando un poro attraverso il quale i gas possono entrare e uscire dalla cellula.



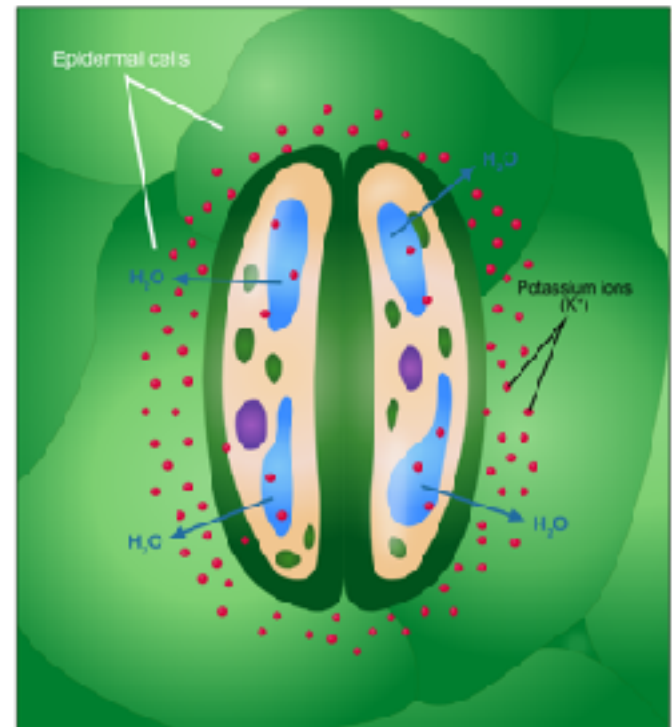


Guard cells (swollen)



Stoma opening

Guard cells (shrunken)



Stoma closing



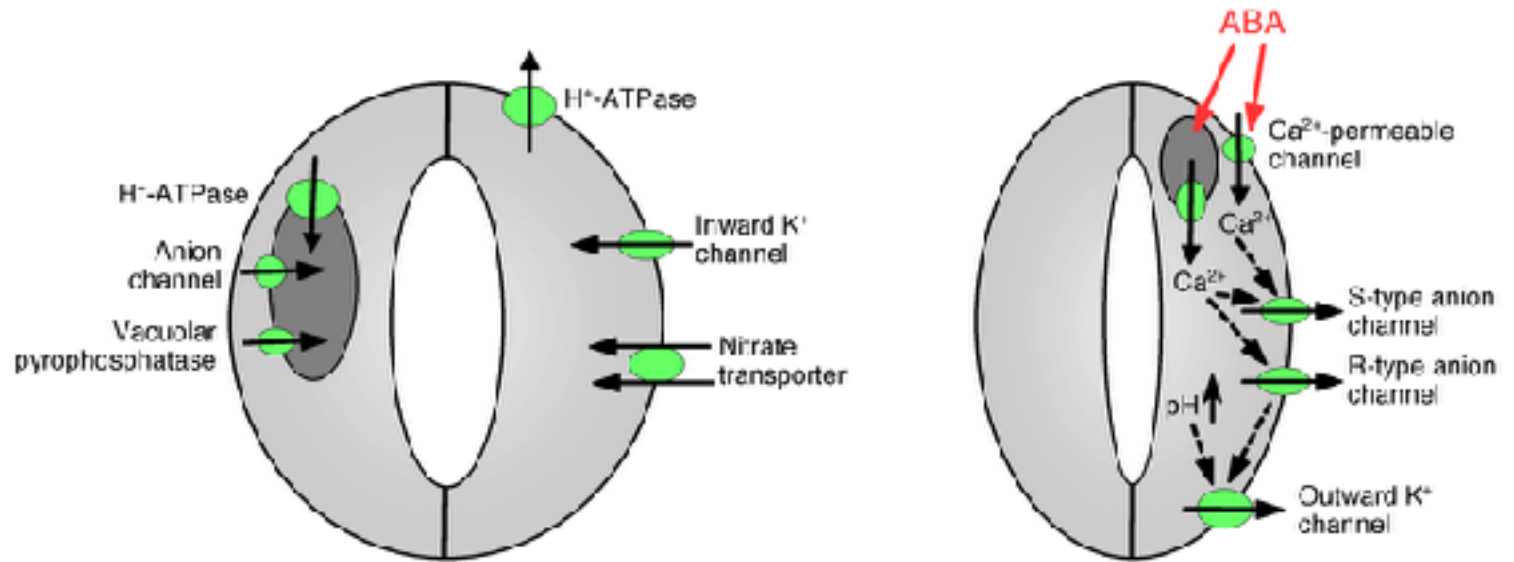
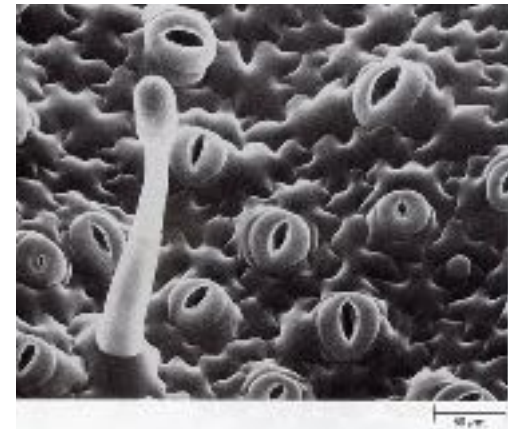


Quando le radici iniziano a percepire una carenza d'acqua nel terreno viene rilasciato acido abscissico (ABA).

Questo si lega alle proteine recettrici nella membrana plasmatica e del citosol delle cellule di guardia. Questo porta a un aumento del pH del citosol, e fa aumentare la concentrazione di ioni calcio (Ca^{2+}) liberi nel citosol tramite afflusso dall'esterno della cellula, e rilascio da depositi interni, come il reticolo endoplasmatico e i vacuoli.

Questo arresta l'assorbimento di ioni potassio (K^+) e, successivamente, la perdita di K^+ . La conseguenza è un aumento del potenziale idrico, che si traduce nella diffusione dell'acqua fuori dalla cellula per osmosi, che si traduce nella chiusura dei pori stomatici.

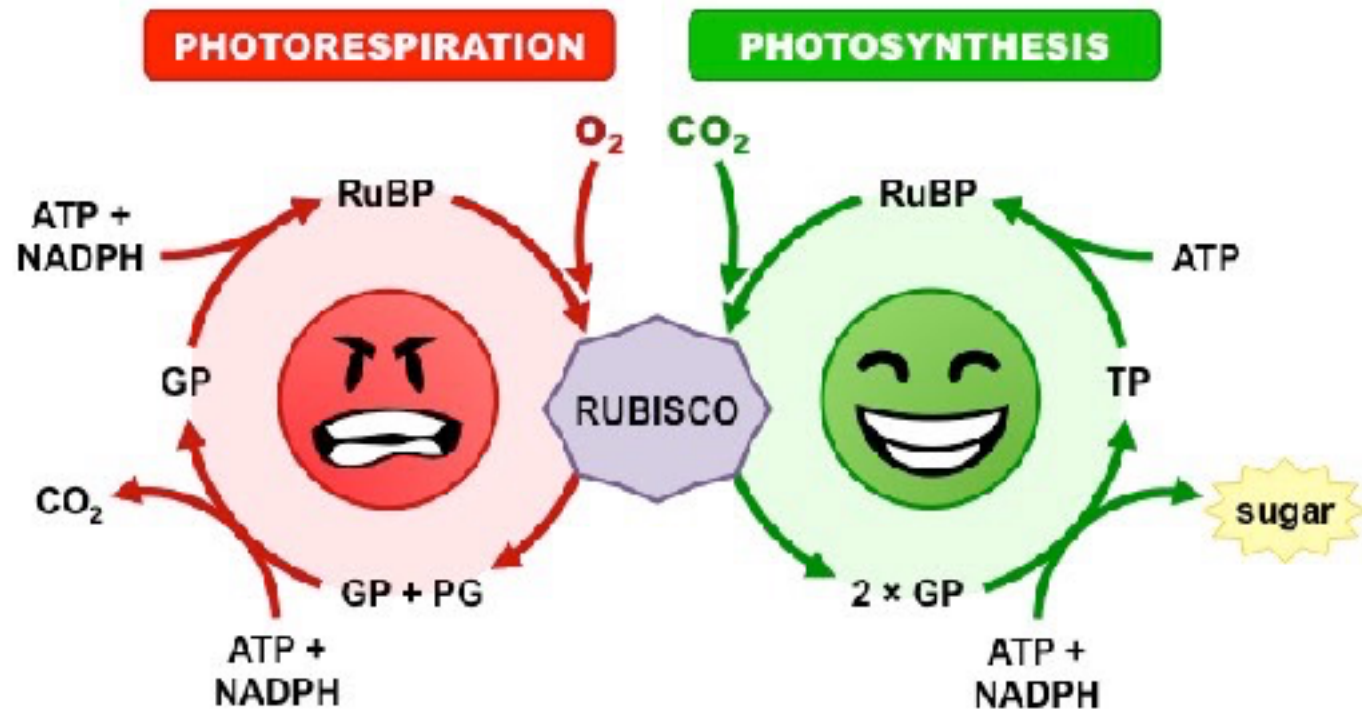






Fotosintesi C3, C4 e CAM







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.



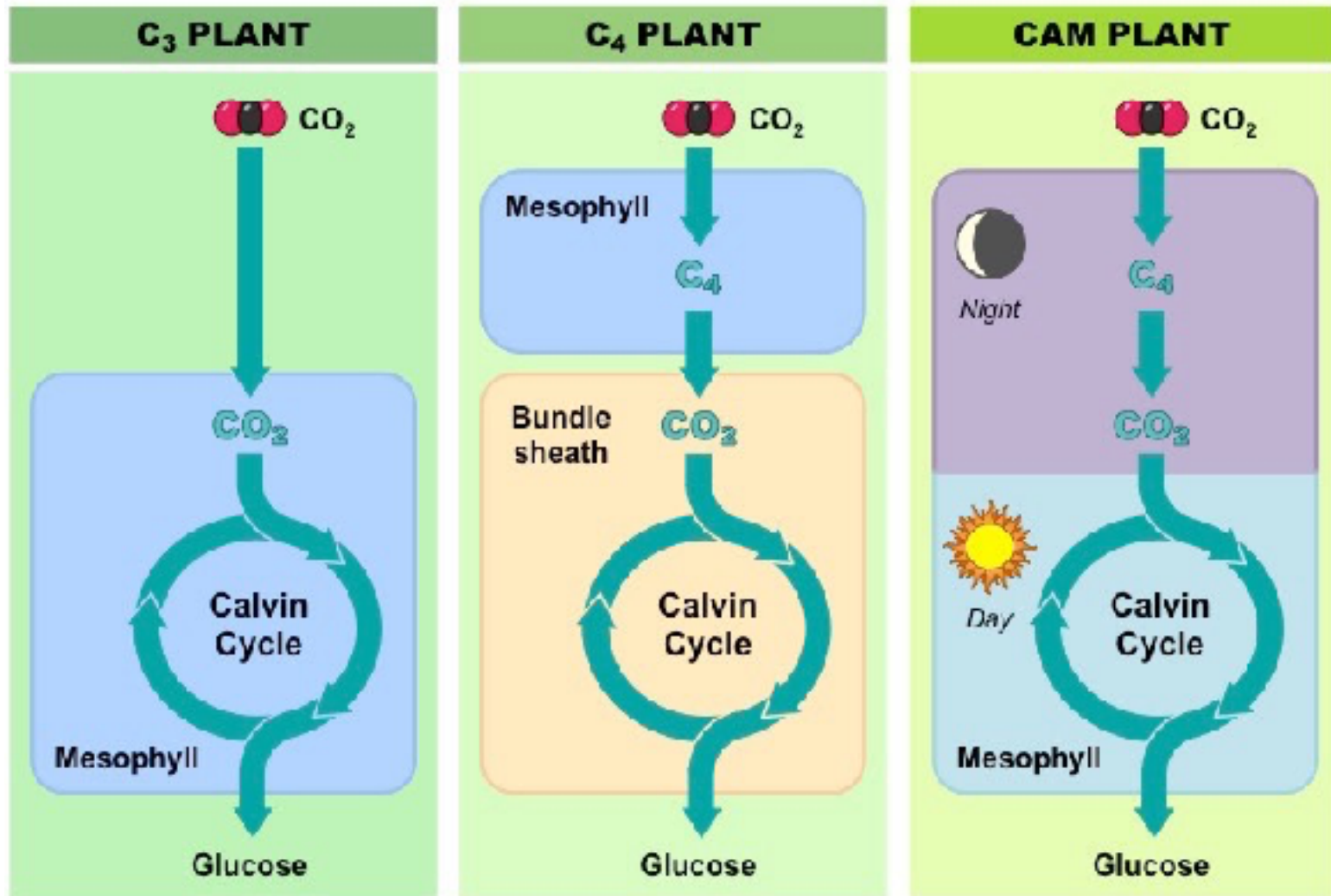


Si tratta di adattamenti fisiologici di piante che vivono in ambienti caratterizzati in genere da forte irraggiamento luminoso e temperature elevate.

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 C₃, C₄, 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 ₂ to RuBP | Fix carbon in cytoplasm - attach CO ₂ 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 ←→ | Loses least water |



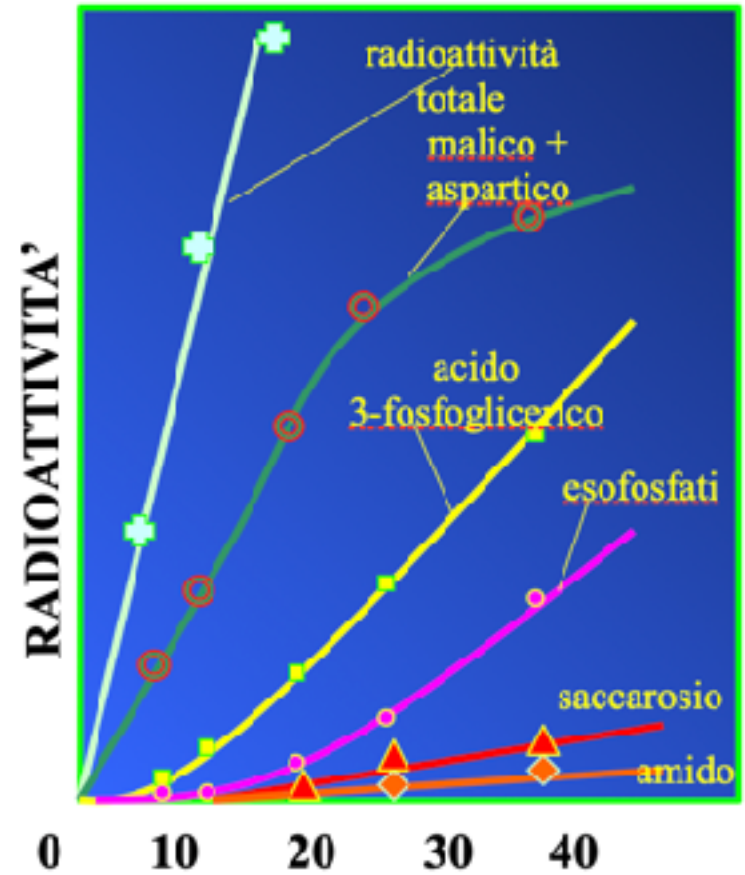
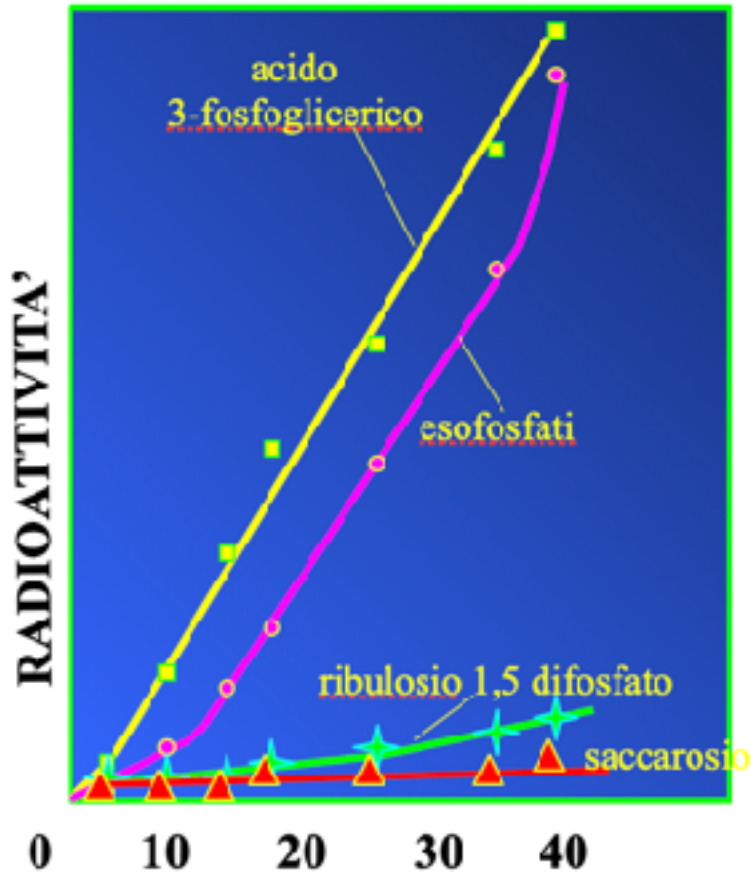


Fotosintesi nelle piante C4





Il loro primo prodotto di fissazione (temporanea) della CO_2 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 CO_2 radioattiva in una pianta che possiede solo il ciclo di Calvin (*Chlorella*, un'alga unicellulare) e in una pianta C_4 (canna da zucchero), noteremo che in *Chlorella* il primo prodotto fotosintetico che compare, già dopo un'esposizione brevissima alla 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 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 C_3 è simile a quello di *Chlorella*.







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...).

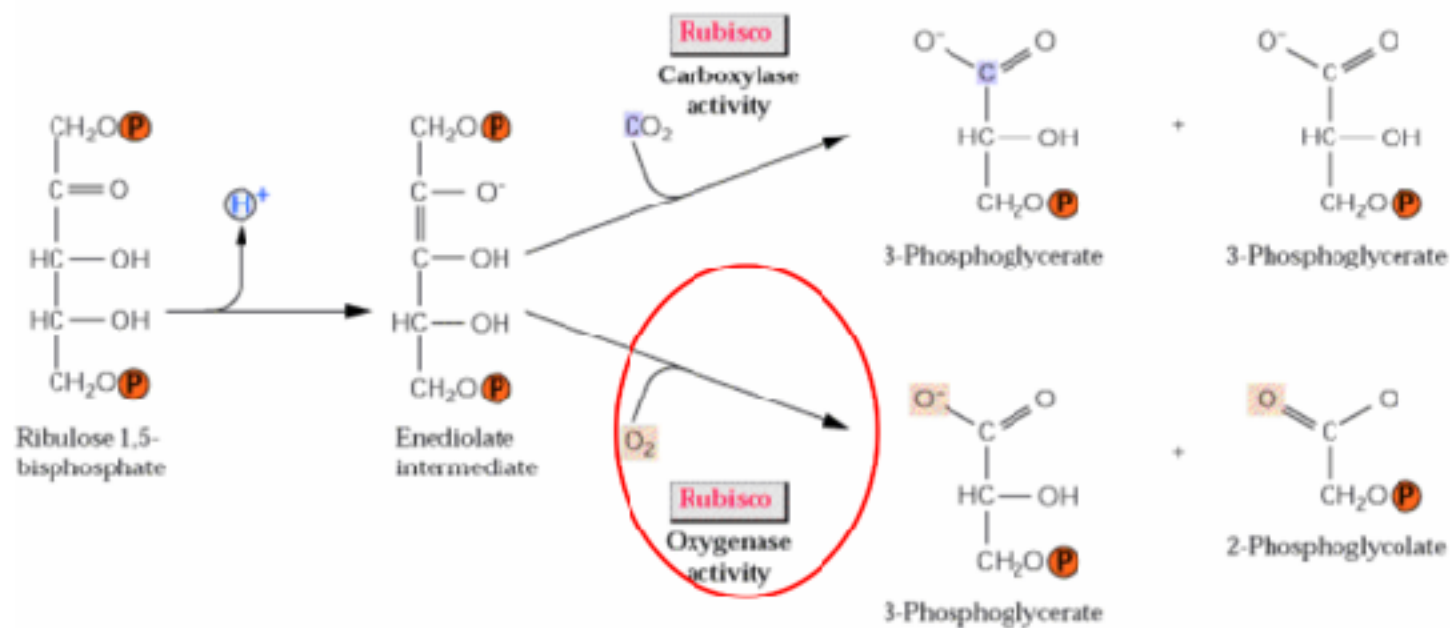
Le graminacee C4 sono in buona parte erbe tropicali (tra cui il “nostro” **mais**, **la canna da zucchero**, **il sorgo**, ma anche molte “malerbe” dei nostri campi...).

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



Canna da zucchero
Saccharum officinarum L.





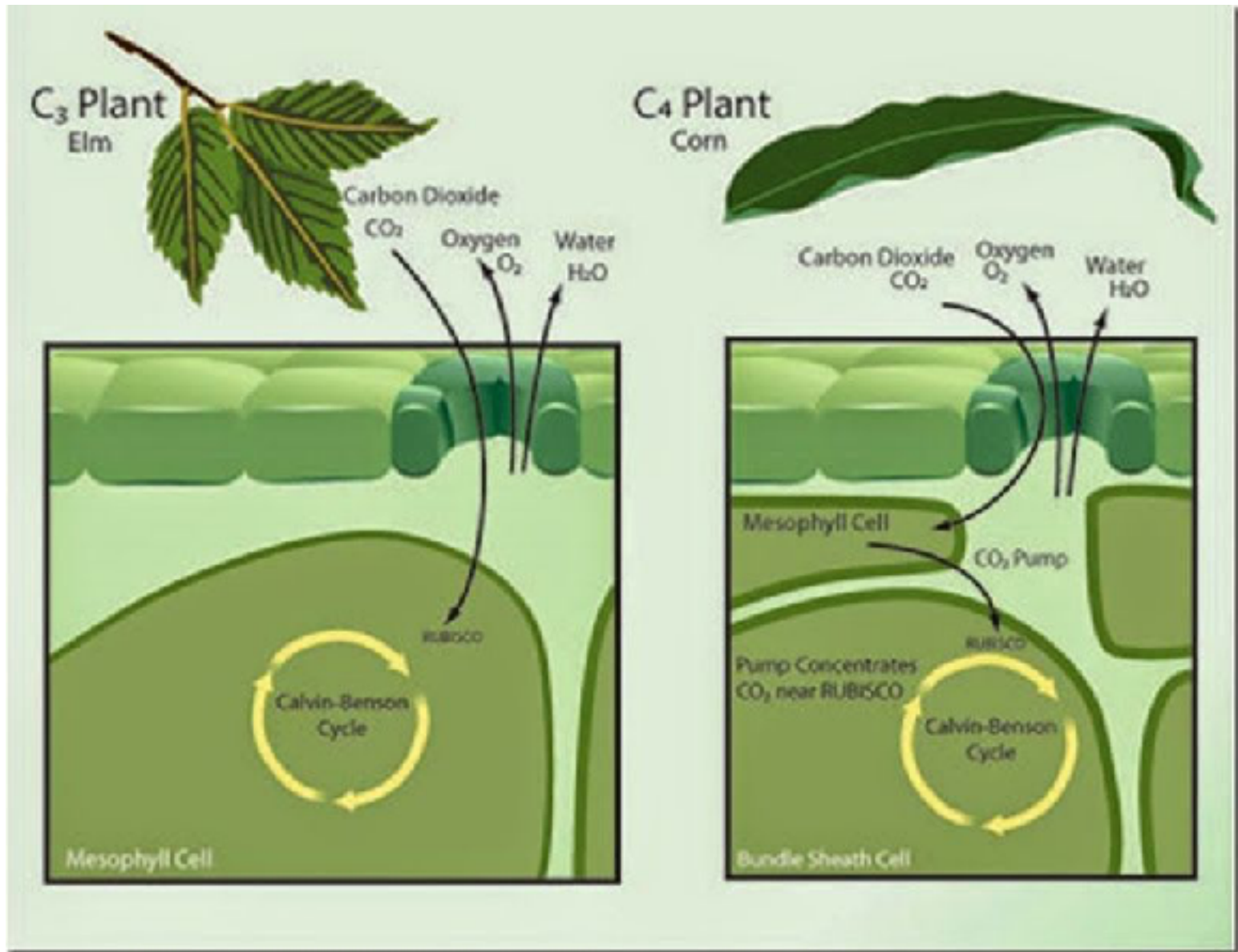


Nelle piante C4 si osserva un meccanismo che incrementa la pressione parziale della CO_2 in alcune cellule specializzate, in modo da ottimizzare l'attività carbossilatica della RuBisCO.

A monte del ciclo di Calvin compare infatti una precedente fissazione provvisoria di 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 CO_2 .

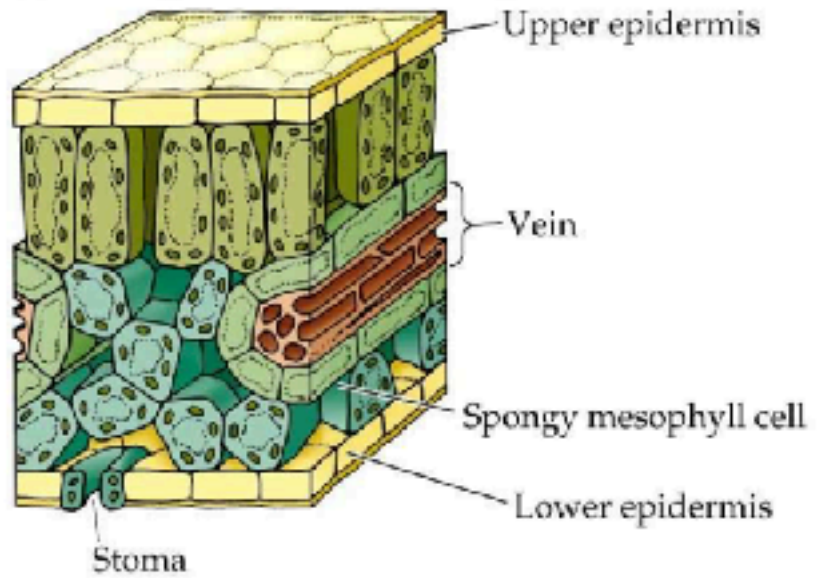
Il tutto avviene grazie ad una compartimentazione spaziale, in due tipi di cellule diverse, che sono anche provviste di cloroplasti con ultrastruttura diversa, e quindi con funzioni diverse.



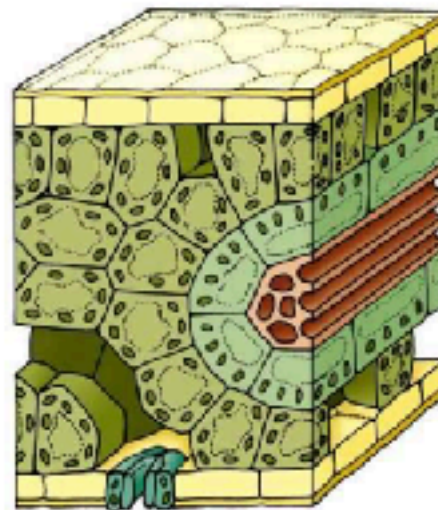




(a) Arrangement of cells in a C_3 leaf

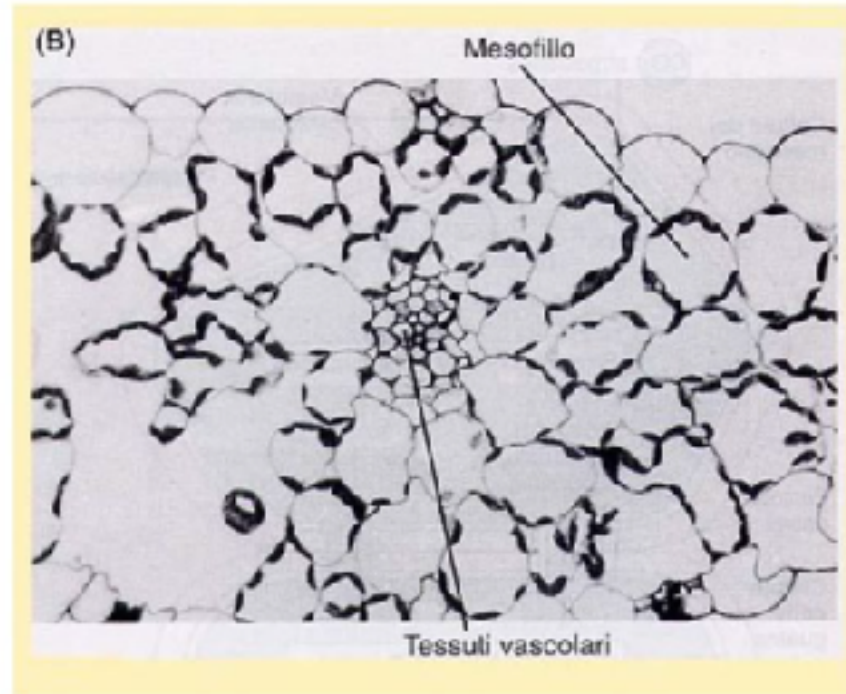


(b) Arrangement of cells in a C_4 leaf



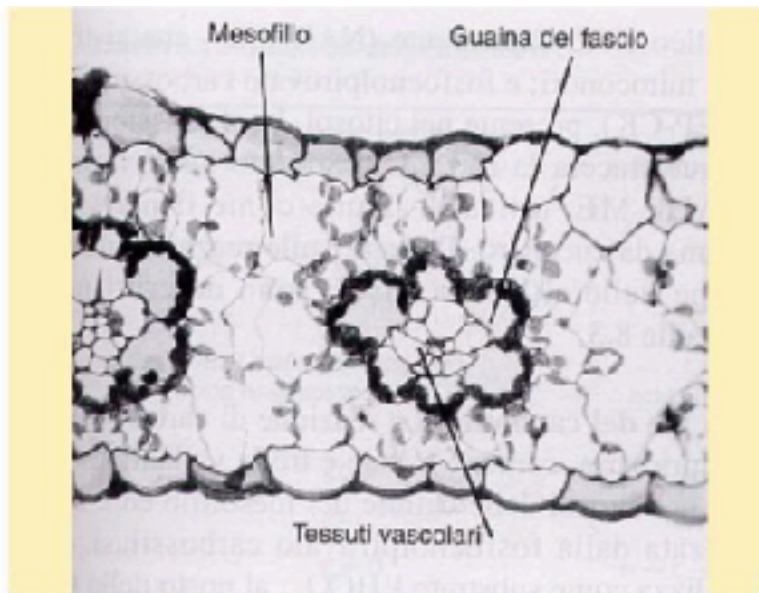
Anatomia Kranz





***Avena sativa* (C3)**





Zea mays (C4)
monocotiledone

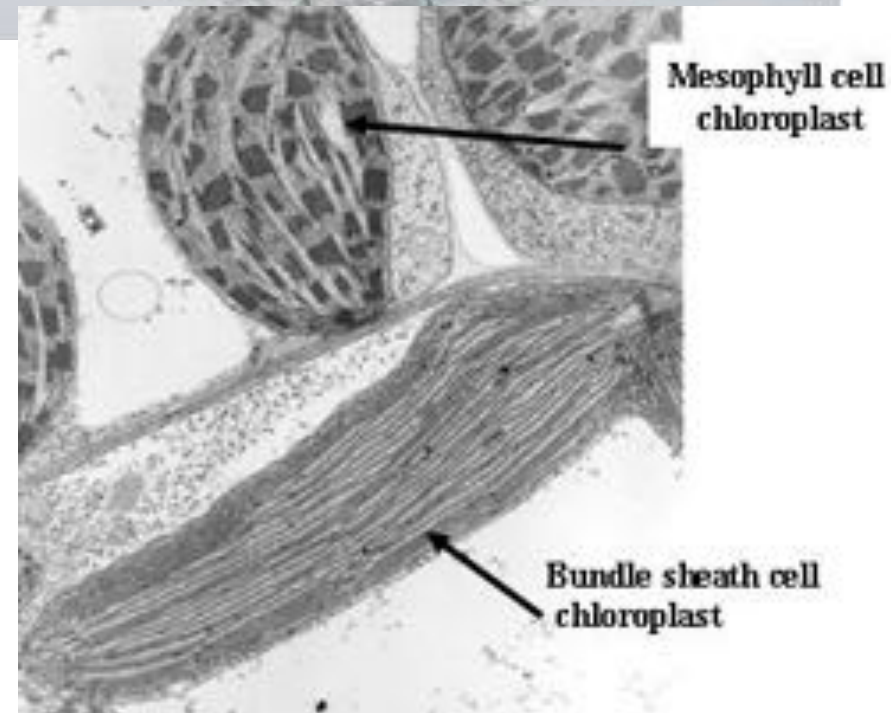


Gomphrena (C4)
dicotiledone



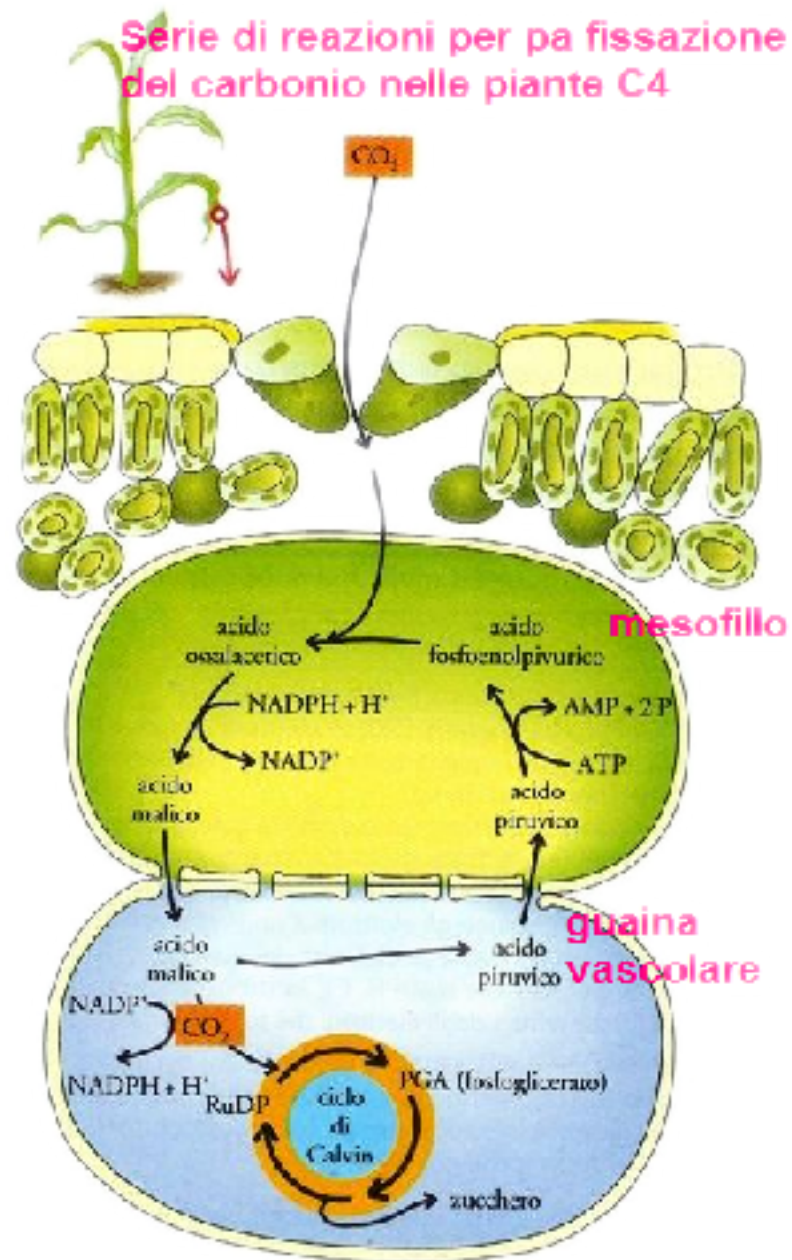


Le cellule della guaina del fascio contengono (spesso) cloroplasti senza grana e pieni di granuli d'amido. Questi cloroplasti non contengono il PS II (questo fotosistema è localizzato nei tilacoidi dei grana che qui mancano).





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.



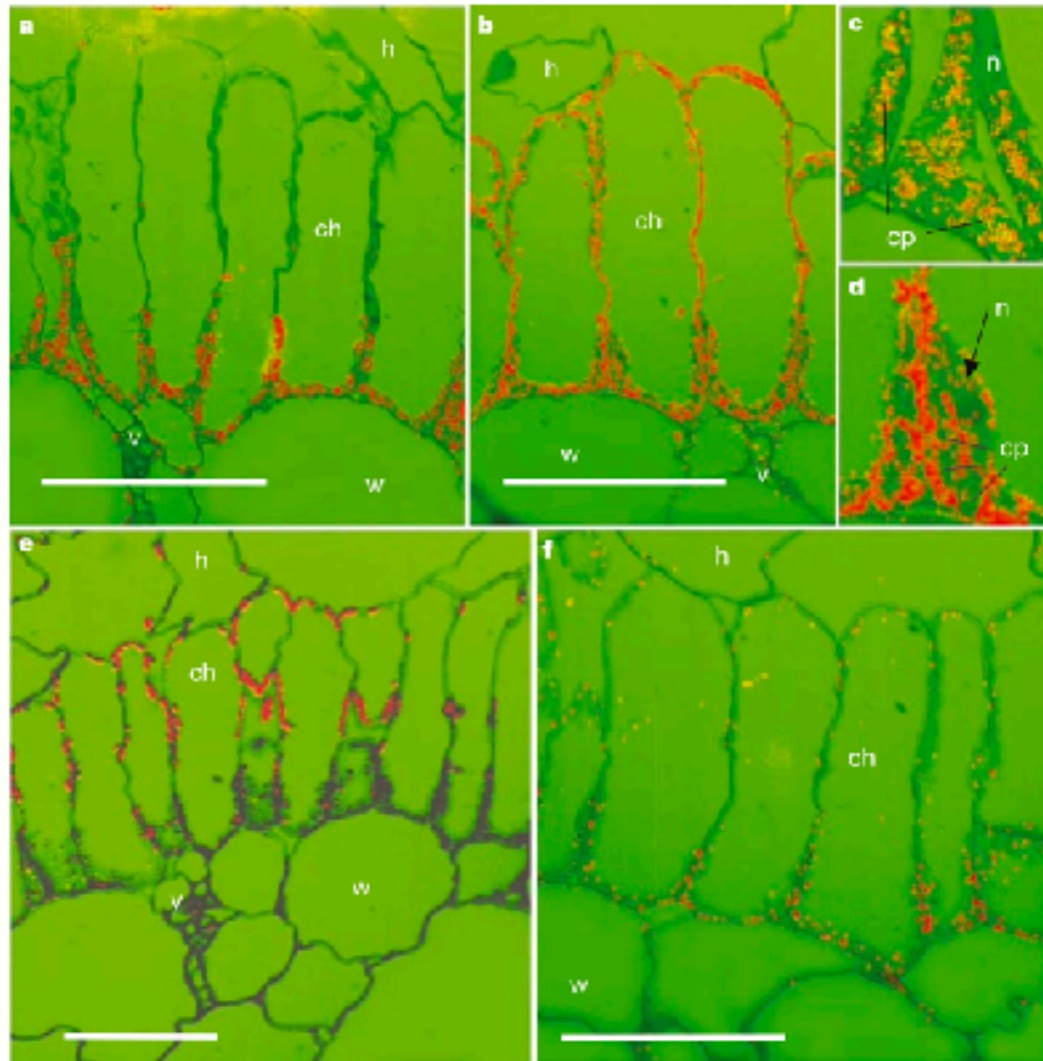


Figure 2 Immunolocalization of photosynthetic enzymes in leaves of *Berceaezowia arefocaspica* by confocal laser scanning microscopy. Immunolocalization of Rubisco (a), PEP carboxylase (b), higher magnification showing Rubisco in chloroplasts in proximal end of cell (c), higher magnification showing 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 μ m.





OOOK... ma....

Come funziona?



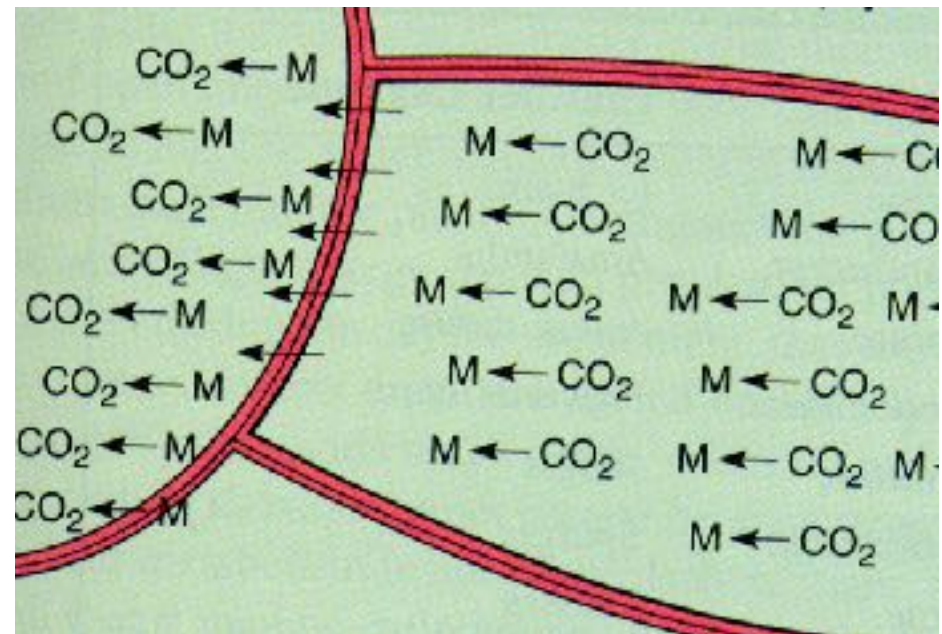


La fissazione provvisoria della CO_2 avviene nelle cellule del mesofillo per opera **dell'enzima PEP (fosfoenolpiruvato) carbossilasi**, che ha **altissima affinità per la CO_2 in forma di ione bicarbonato**; il substrato è il PEP (fosfoenolpiruvato).

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 CO_2 .

Cellula del fascio

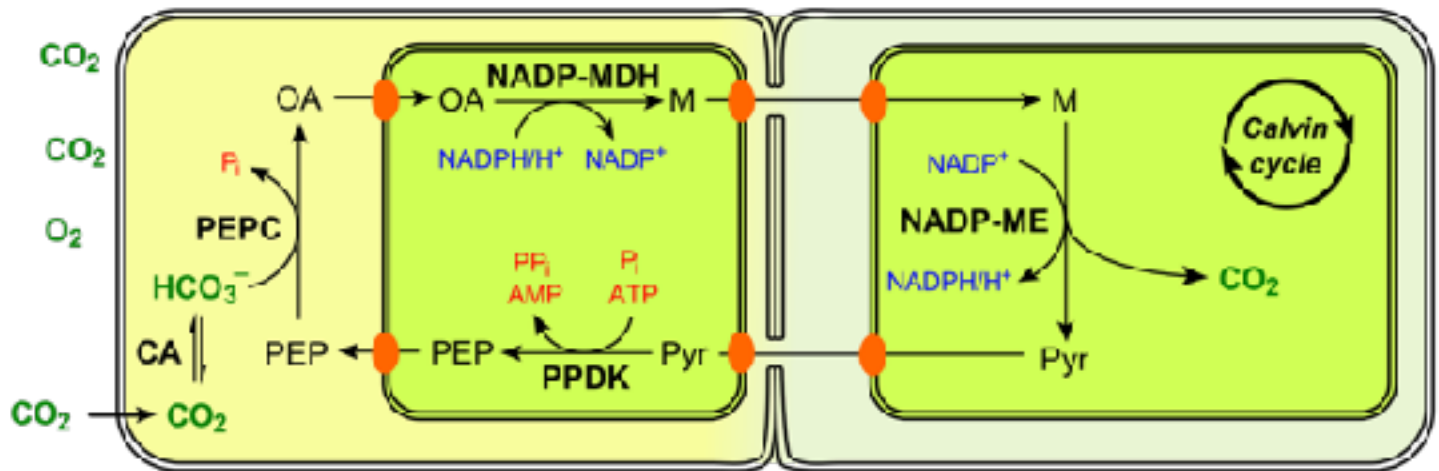
Cellula del mesofillo





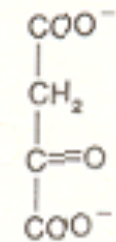
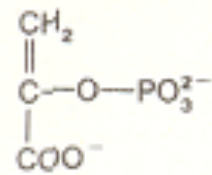
La CO_2 liberata all'interno delle cellule del fascio entra nel «normale» ciclo di Calvin: viene fissata sul ribulosio-1,5-bifosfato dando acido 3-fosfoglicerico ecc ecc.

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.

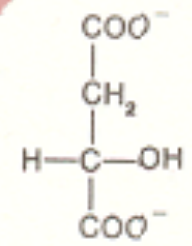
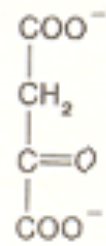




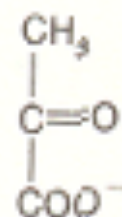
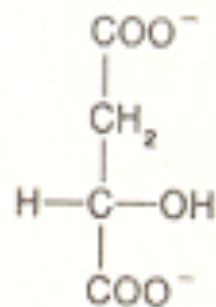
1. *Fosfoenolpiruvato carbossilasi*
acido fosfoenolpiruvico + $\text{HCO}_3^- \rightarrow$ acido ossalacetico + HOPO_3^{2-}



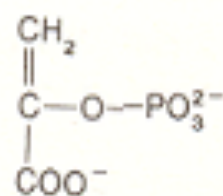
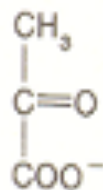
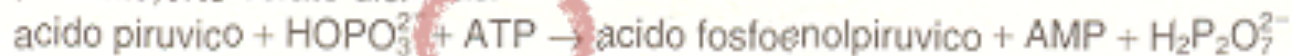
2. *NADP malico deidrogenasi*
acido ossalacetico + $\text{NADPH} + \text{H}^+ \rightarrow$ acido malico + NADP^+



4. *Enzima NADP malico*



Piruvato, ortofosfato dichinasi





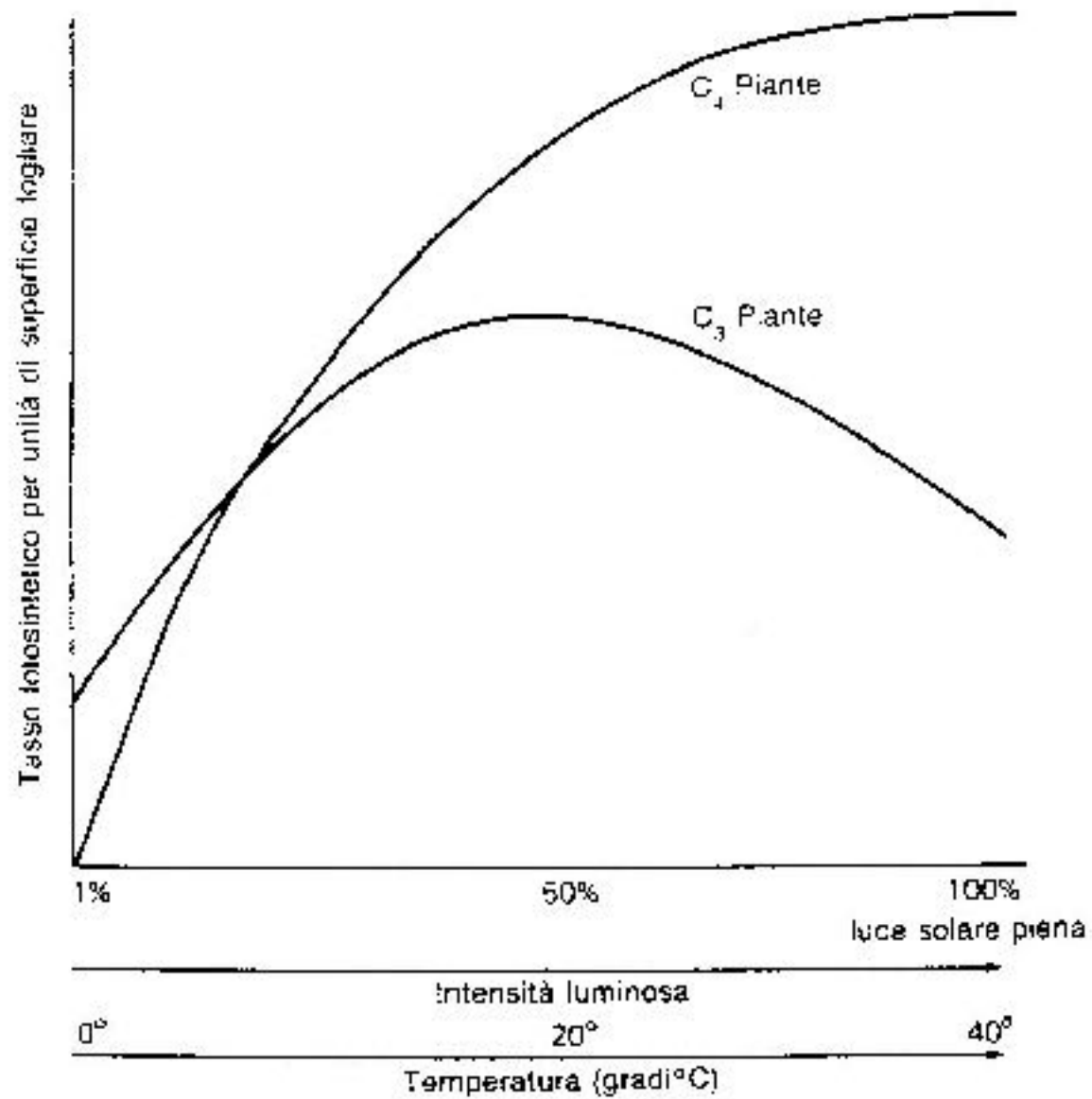
Questo processo, al completamento del ciclo che rigenera il PEP, consuma una molecola di ATP. Il NADPH viene speso nella conversione da ossalacetato a malato, ma viene rigenerato nella decarbossilazione del malato a piruvato.

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.

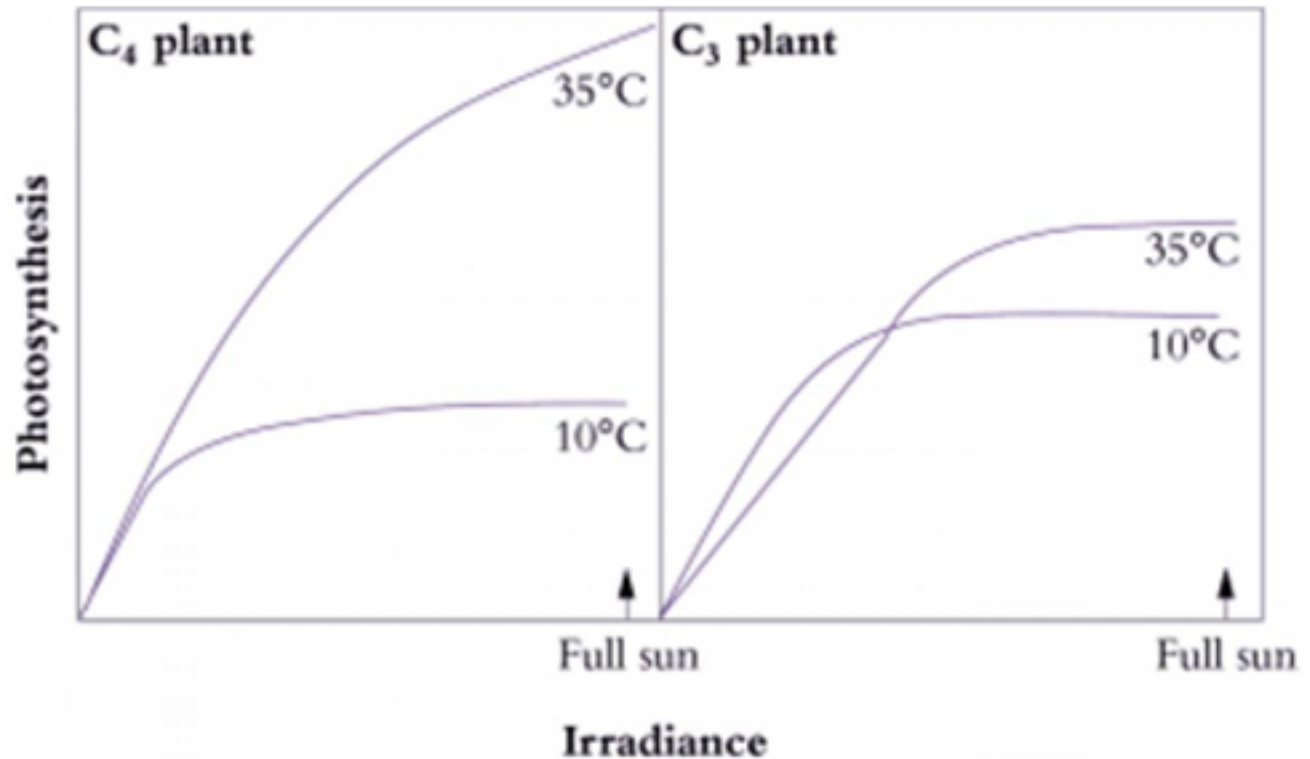
Infatti, le piante C4 cominciano a essere performanti quanto le C3 quando le temperature superano i 10°C, e stravincono la competizione a temperature superiori ai 20°C.







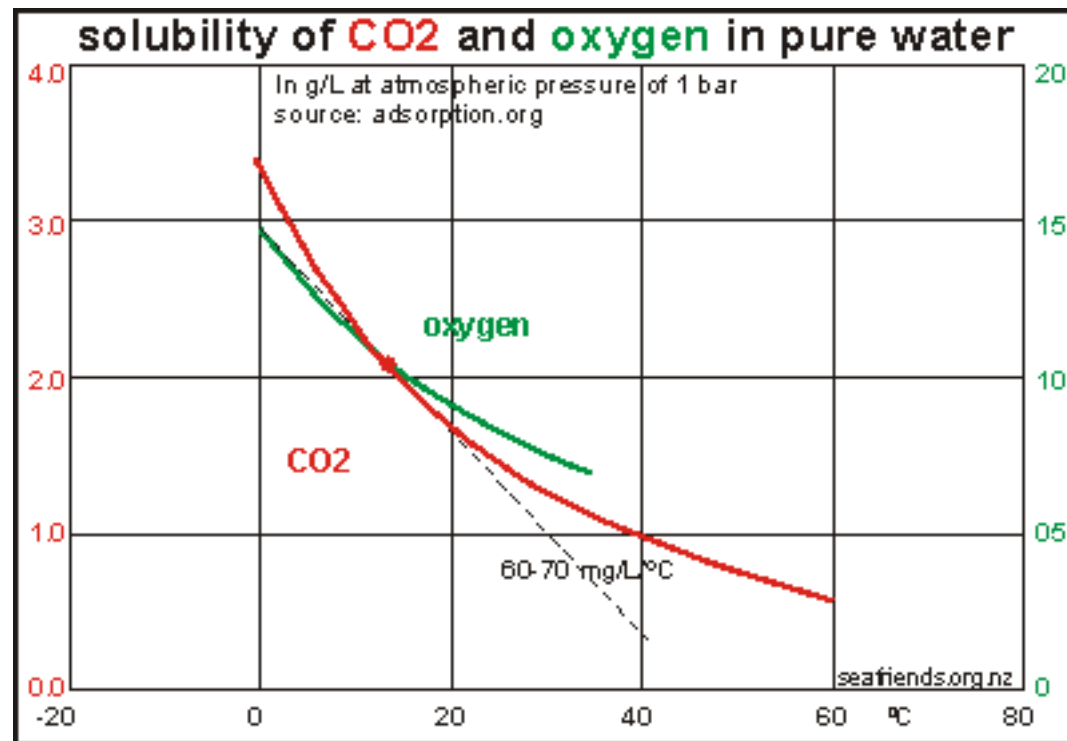
A temperature elevate le piante C4 sono molto più performanti delle C3. Queste sono invece più efficienti a basse temperature.





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).

