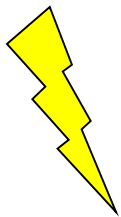


# Efficienza del sistema fotosintetico

**Resa quantica** =  $\Phi$  = n. prodotti fotochimici/n. fotoni assorbiti

**Numero quantico o richiesta quantica** = n. fotoni necessari per ottenere un dato prodotto



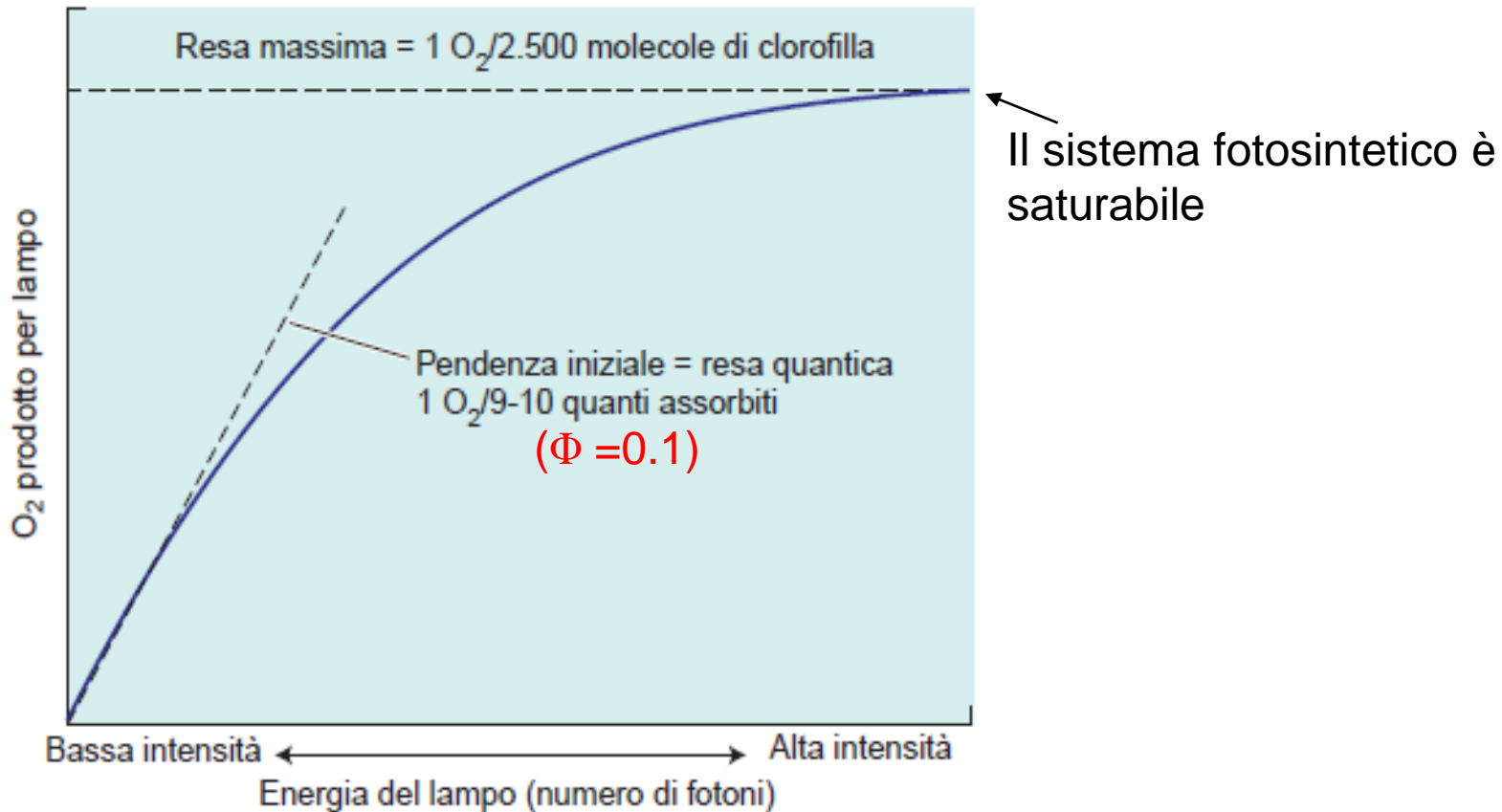
$$\Phi_{\text{fotochimica}} = 0.95$$

$$\Phi_{\text{fluorescenza}} = 0.05$$

La resa quantica degli eventi fotochimici è pari a 0.95

Tuttavia, sono necessari circa 10 fotoni (cioè 10 quanti) per rilasciare 1 O<sub>2</sub>

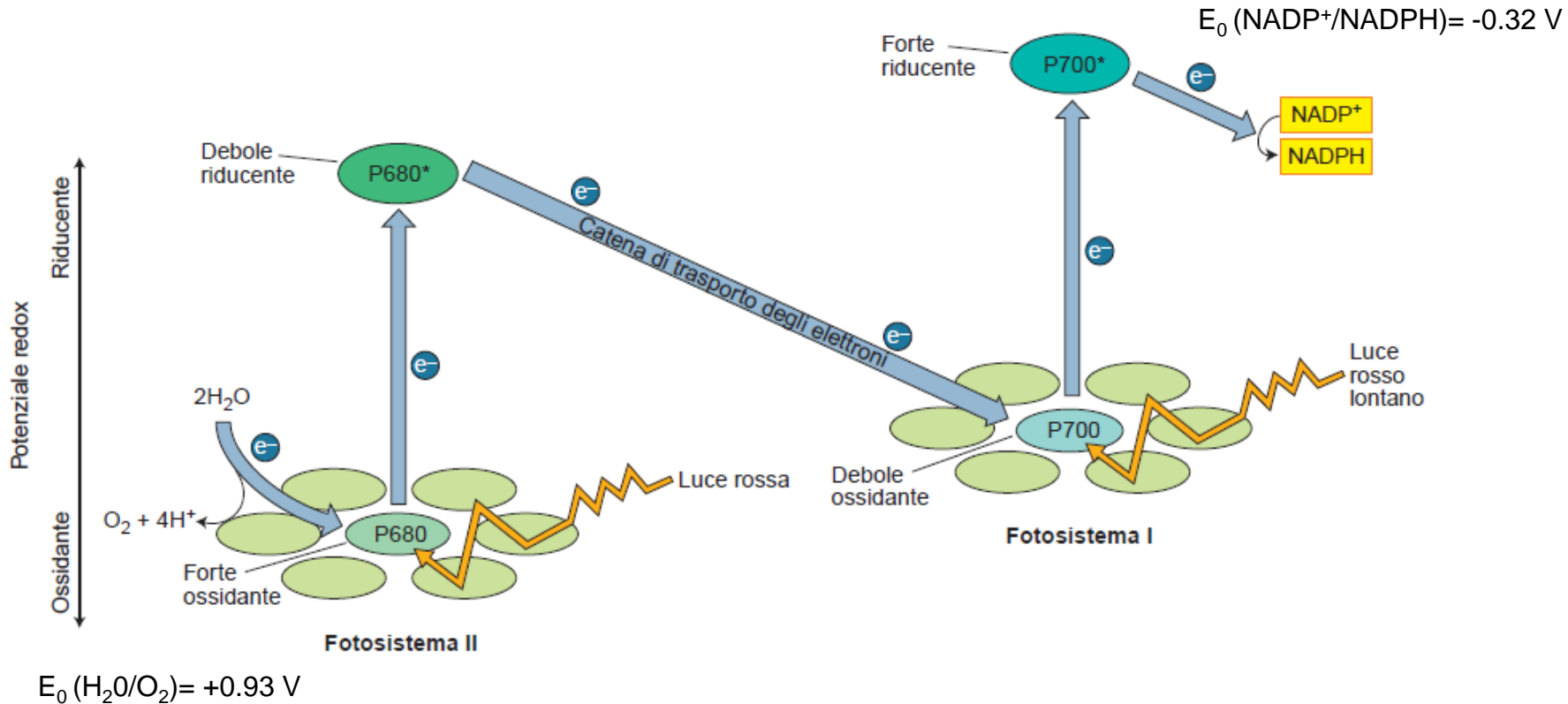
Quindi, la resa quantica della fase tilacoidale (= per la produzione di O<sub>2</sub>) è teoricamente pari a 0.1



## La fotosintesi ossigenica avviene grazie a due fotosistemi che agiscono in serie

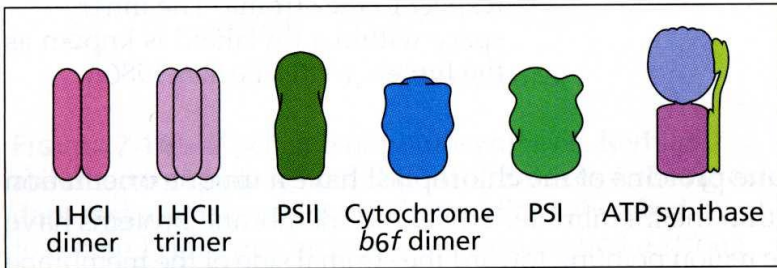
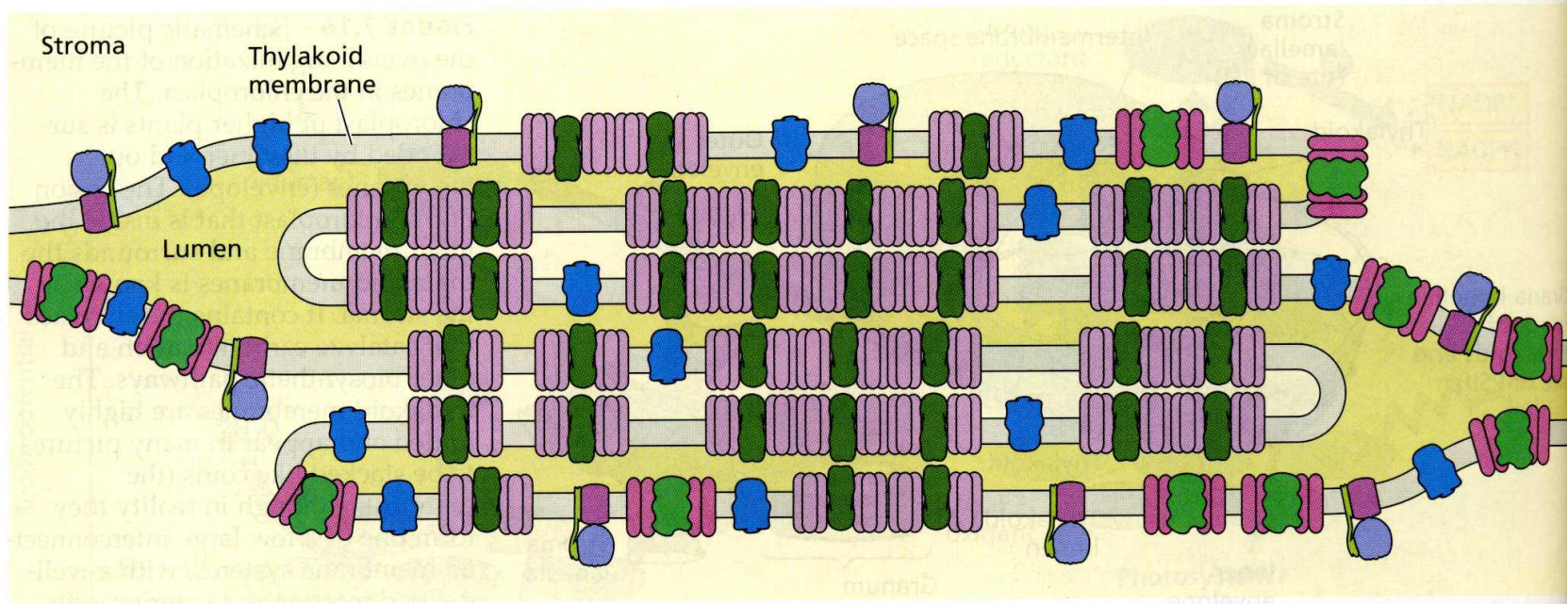
PS II: produce un forte ossidante (che ossida l'acqua) e un debole riducente che riduce PS I

PS I: produce un forte riducente (che produce NADPH) e un debole ossidante che ossida PS II



Gli elettroni si muovono contro il gradiente dei potenziali redox, dall'acqua al  $\text{NADP}^+$ , grazie all'energia della luce

(A)



**Tabella 12.4** La distribuzione dei componenti fotosintetici nelle regioni della membrana del cloroplasto

Componente	Tilacoidi (%)	
	Impilati	Esposti allo stroma
PSII	85	15
PSI	10	90
Complesso del citocromo $b_6f$	50	50
LHC-II	90	10
ATP sintasi	0	100
Plastocianina <sup>a</sup>	40	60

I due eventi fotochimici sono separati spazialmente

<sup>a</sup> Le percentuali indicano la distribuzione relativa di ciascun componente, impilato o esposto allo stroma, tranne nel caso della plastocianina, per la quale la localizzazione si riferisce al lume della rispettiva regione della membrana.

**Principali complessi proteici dei tilacoidi,  
con orientamento vettoriale definito!!!**

**FOTOSISTEMA II**

**CITOCROMO  $b_6f$**

**FOTOSISTEMA I**

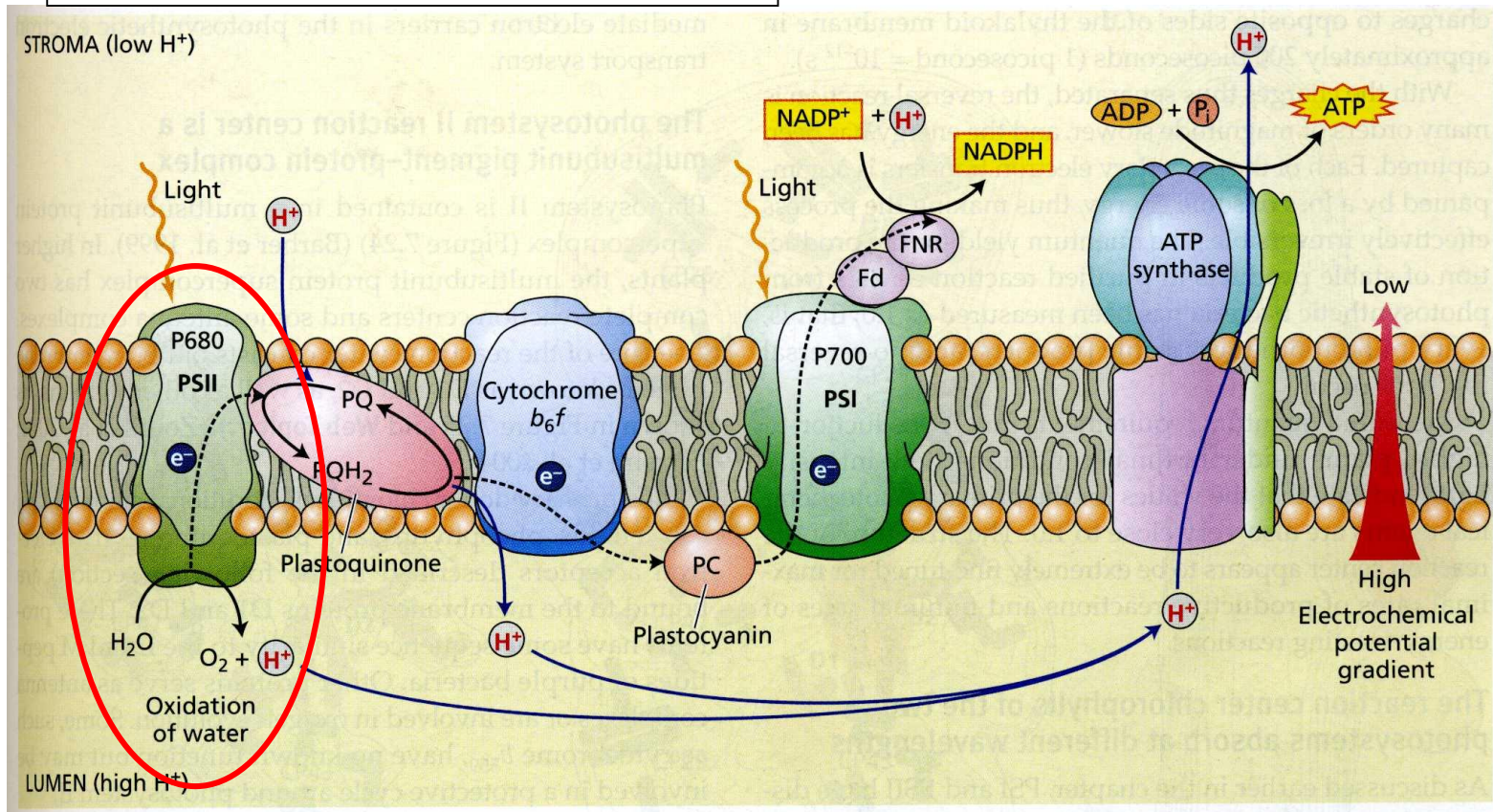
**ATP SINTASI**

**Trasportatori diffusibili**

**Plastochinone**

**Plastocianina**

**Ferredossina**



# Fotosistema II: 20 proteine (codificate da geni nucleari o plastidiali) e pigmenti associati

**TABLE 12.2** Protein subunits of the plant PSII core complex. Most of the smaller and more peripheral subunits are not included.

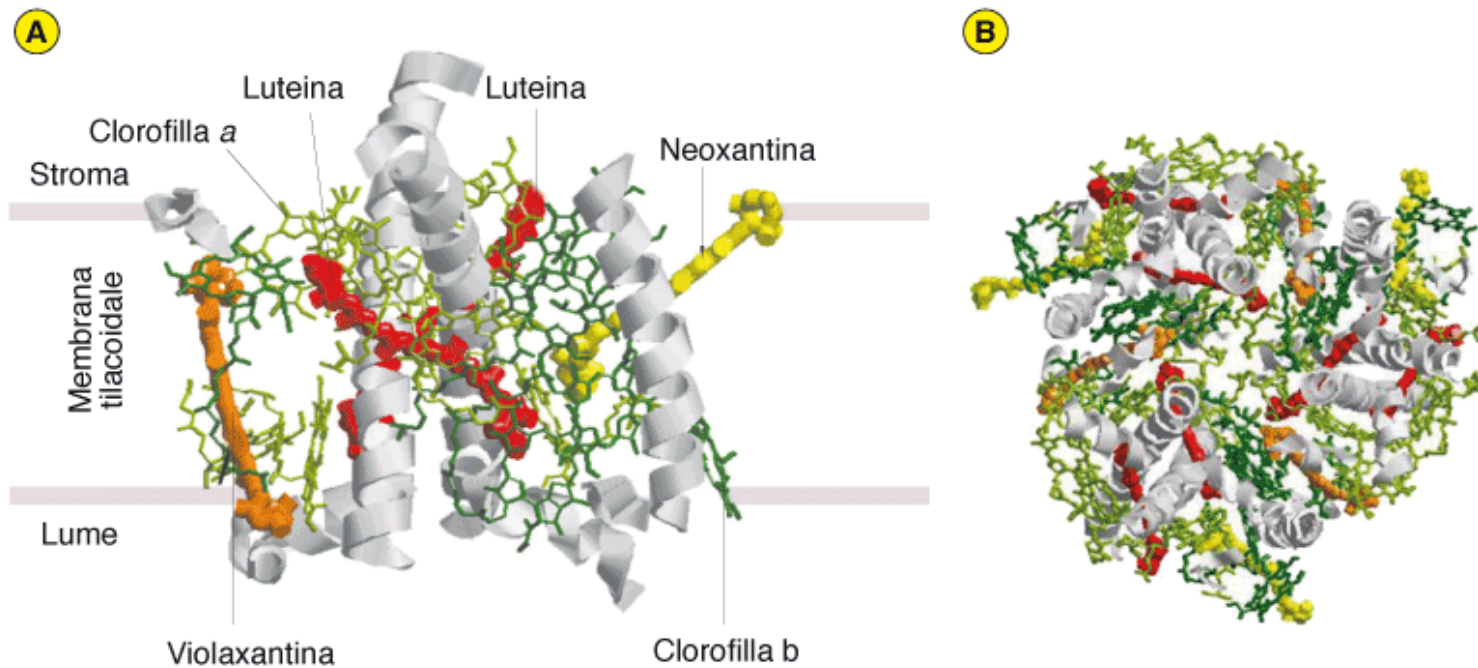
Protein	Gene	Location of gene <sup>b</sup>	Mol. mass (kDa)	Function
<b>Hydrophobic subunits</b>				
D1	<i>psbA</i>	Chloroplast	32	Reaction center protein
D2	<i>psbD</i>	Chloroplast	34	Reaction center protein
CP47	<i>psbB</i>	Chloroplast	51	Core antenna
CP43	<i>psbC</i>	Chloroplast	43	Core antenna
Cyt. <i>b</i> -559 $\alpha$ Subunit	<i>psbE</i>	Chloroplast	9	Unknown
Cyt. <i>b</i> -559 $\beta$ Subunit	<i>psbF</i>	Chloroplast	4	Unknown
PsbH	<i>psbH</i>	Chloroplast	10	Unknown
PsbI	<i>psbI</i>	Chloroplast	4.8	Assembly
<b>Hydrophilic subunits</b>				
33 kDa	<i>psbO</i>	Nucleus	33	O <sub>2</sub> evolution
23 kDa	<i>psbP</i>	Nucleus	23	O <sub>2</sub> evolution
17 kDa	<i>psbQ</i>	Nucleus	17	O <sub>2</sub> evolution



**LHCII** rappresenta più del 50% delle proteine della membrana tilacoidale

Nei tilacoidi è presente come trimero, e generalmente a ciascun dimero di PSII si associano 8 trimeri di LHCII

Ciascun monomero con tre eliche transmembrana, che lega 14 chl<sub>a</sub>, 4 xantofille e varie chl<sub>b</sub>

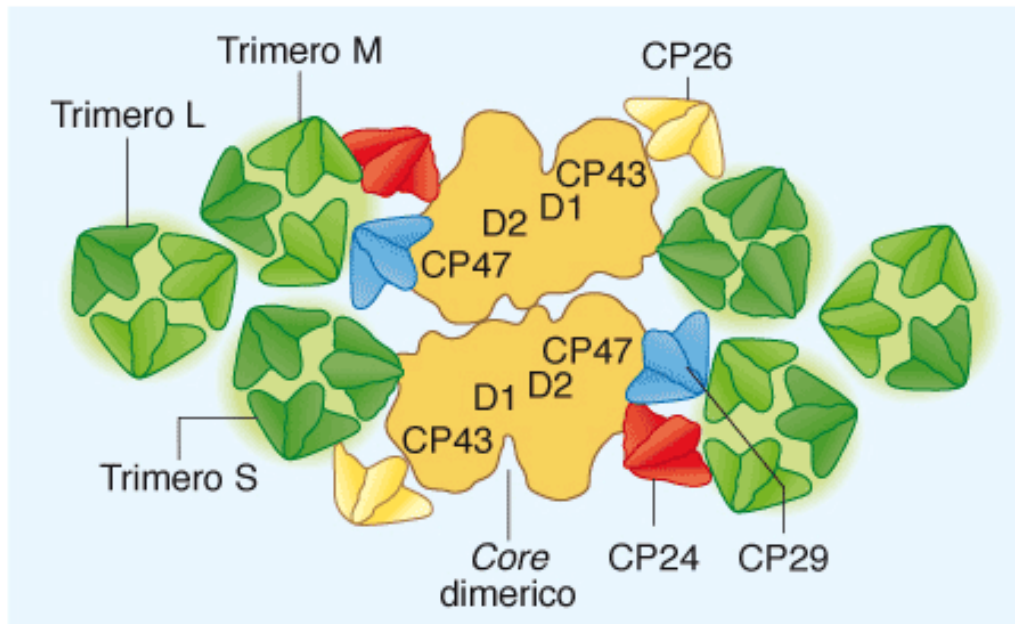


**Figura 4.15A-B** • (A) Immagine ad alta risoluzione della struttura di un monomero dell'LHCII mostrante le tre eliche della proteina che attraversano la membrana tilacoidale e le molecole di clorofilla *a*, clorofilla *b* e carotenoidi legate nel complesso. (B) Struttura di un trimero dell'LHCII.



Oltre ai trimeri (che compongono il LHCII), vi sono **complessi minori monomerici**: CP24, CP26, CP29

Monomeri con struttura simile al monomero LHCII. Legano clorofille e xantofille.  
Per ciascun dimero di PSII è presente una coppia di ciascun monomero.



**Figura 4.16** ● Rappresentazione schematica dell'organizzazione del PSII mostrandone la collocazione, attorno al core dimerico, dei complessi antenna monomerici CP24, CP26 e CP29 e dei trimeri dell'LHCII diversi per composizione e forza di legame con il resto del fotosistema (trimeri S = *strongly bound*, formati da subunità proteiche lhcb1 e lhcb2; trimeri M = *moderate bound* e L = *light bound* contenenti anche la subunità lhcb3).

Disposizione e caratteristiche dei complessi antenna periferici importanti per:

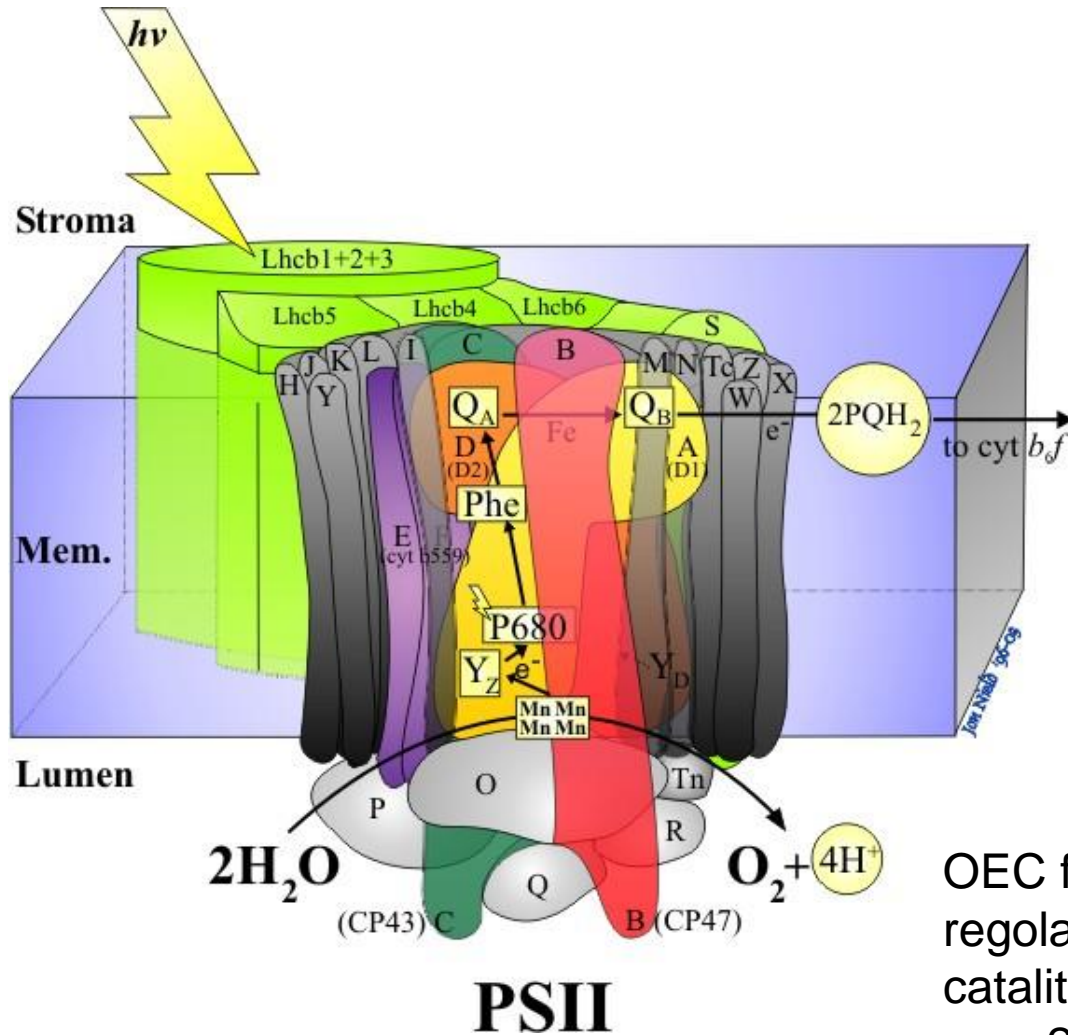
- trasferimento energia
- meccanismi di fotoprotezione

In sintesi,  
complessi antenna periferici:

- LHCII (trimeri S, M, L)
- Complessi minori monomerici (CP24, CP26, CP29)

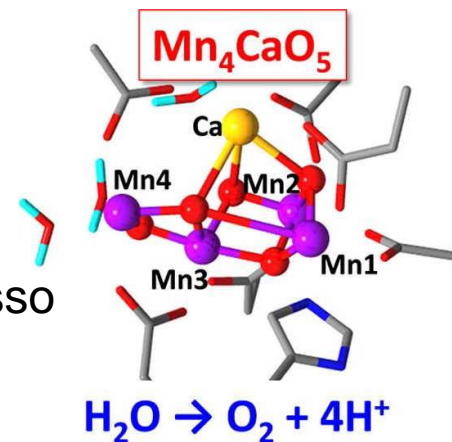
Il PS-II funziona come un'acqua-plastoquinone ossidoreduttasi dipendente dalla luce

L'ossidazione dell'acqua coinvolge una complessa serie di reazioni operate dal complesso evolvente ossigeno (OEC), associato al PSII e affacciato sul lume tilacoidale

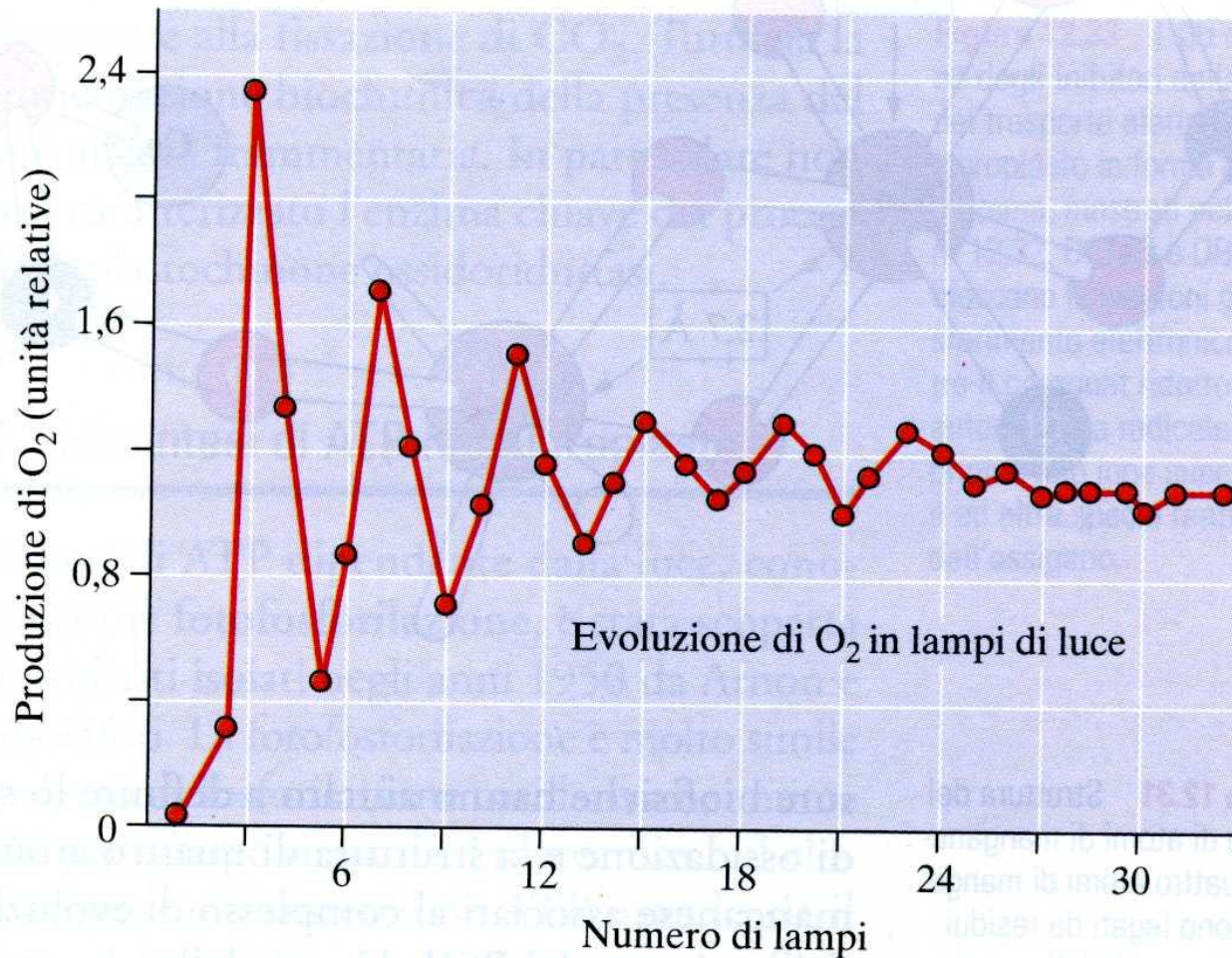


P680 non riceve elettroni direttamente dall'acqua, ma da un residuo di tirosina (Tyr161) della proteina D1, che a sua volta riceve elettroni da OEC.

Come funziona OEC?



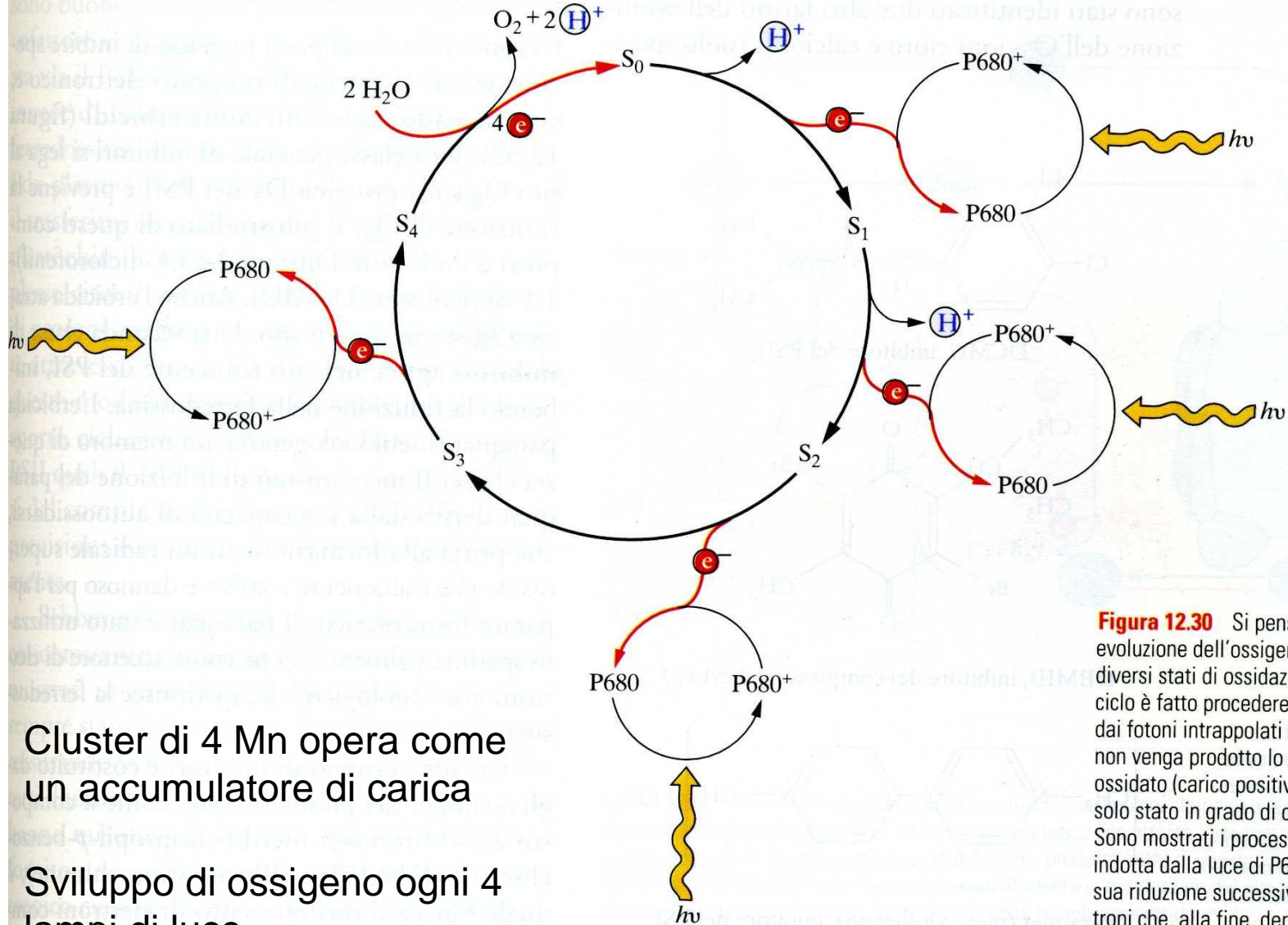
OEC fatto da calotta regolatoria + complesso catalitico  $Mn_4CaO_5$  con 2 Cl<sup>-</sup>



**Figura 12.29** L'evoluzione di O<sub>2</sub> in seguito a lampi di luce. Viene mostrato l'andamento dell'evoluzione dell'ossigeno in seguito a una serie di brevi lampi di luce. La quantità massima di ossigeno è prodotta al terzo lampo, dopo di che si osserva un picco periodico dopo ogni quarto lampo. Il rendimento di ogni lampo si abbassa a un valore di stato stazionario dopo circa 20 lampi.

## Modello degli stati S (Kok-Joliot)

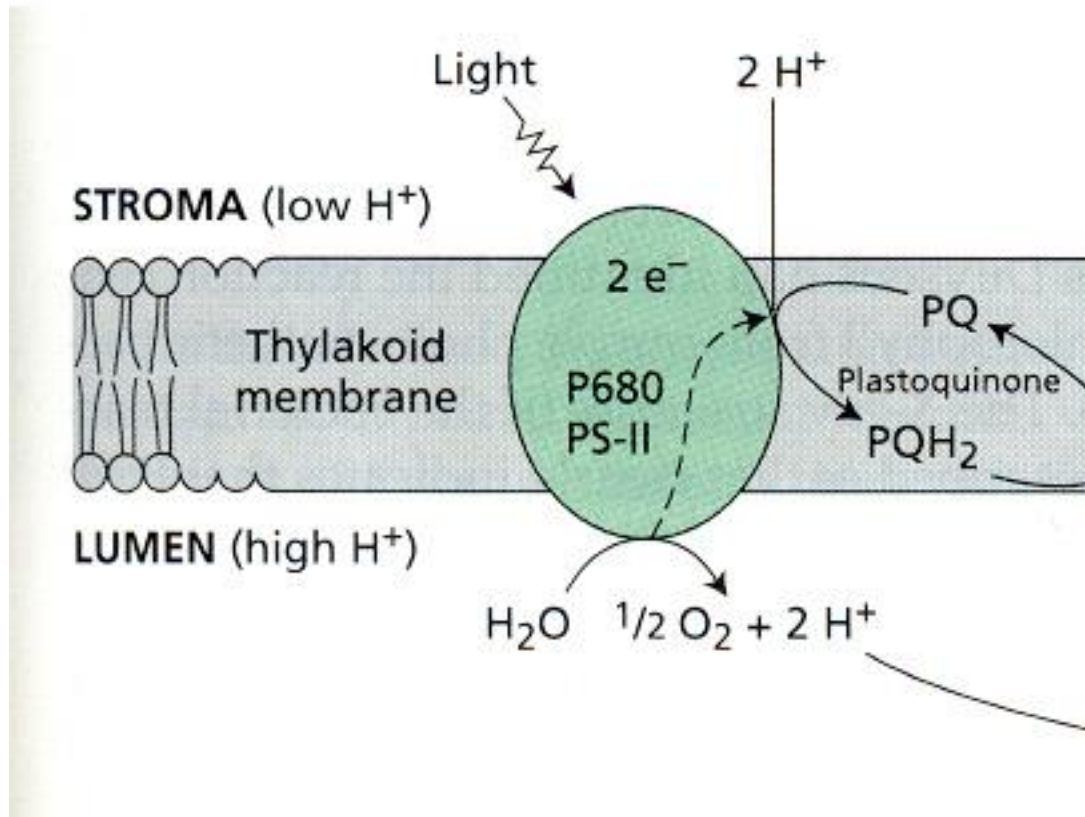
Ogni reazione fotochimica ( $e^-$  verso il  $P680^+$ ) fa avanzare l'OEC da uno stato di ossidazione all'altro



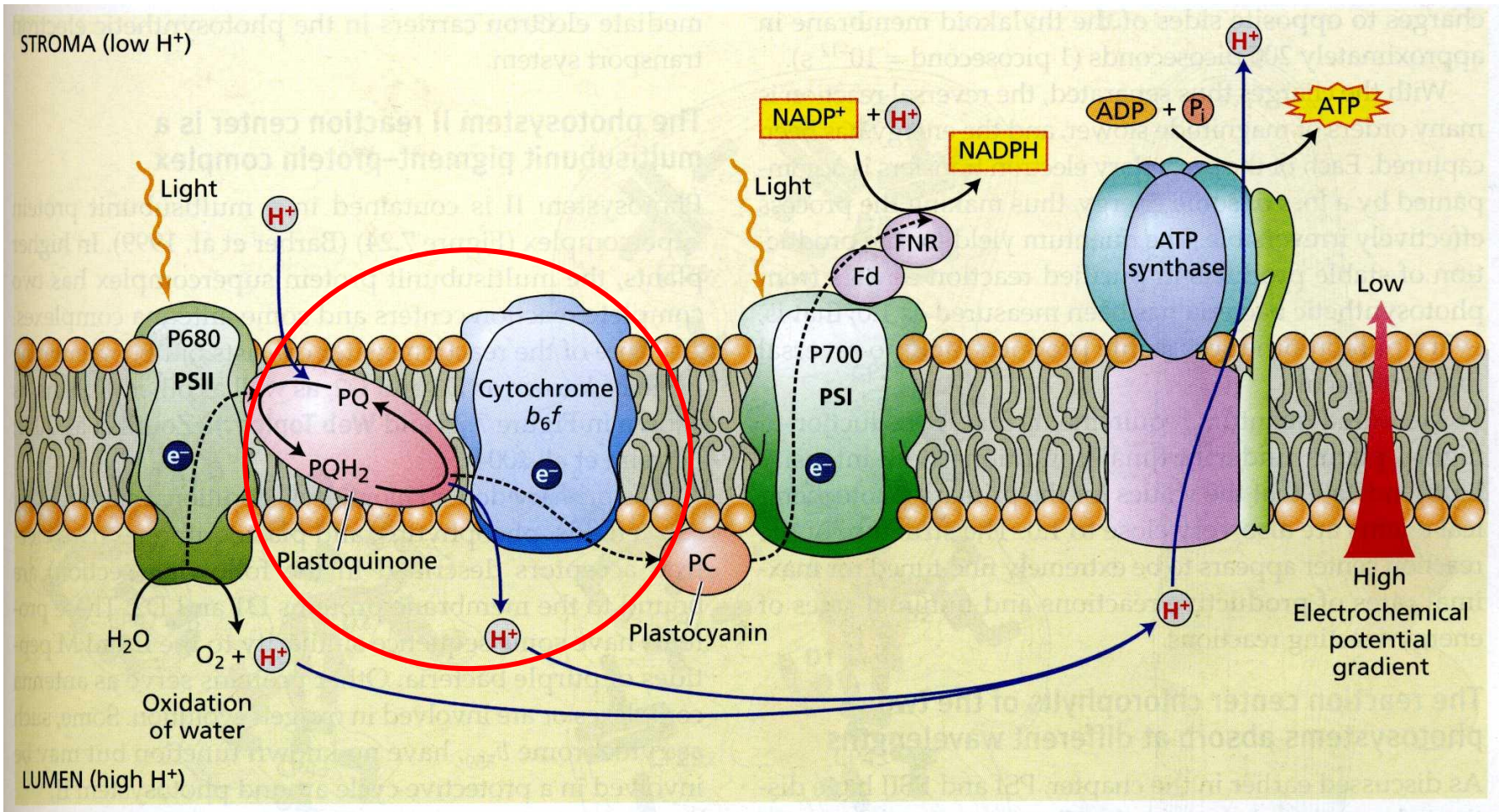
Cluster di 4 Mn opera come un accumulatore di carica

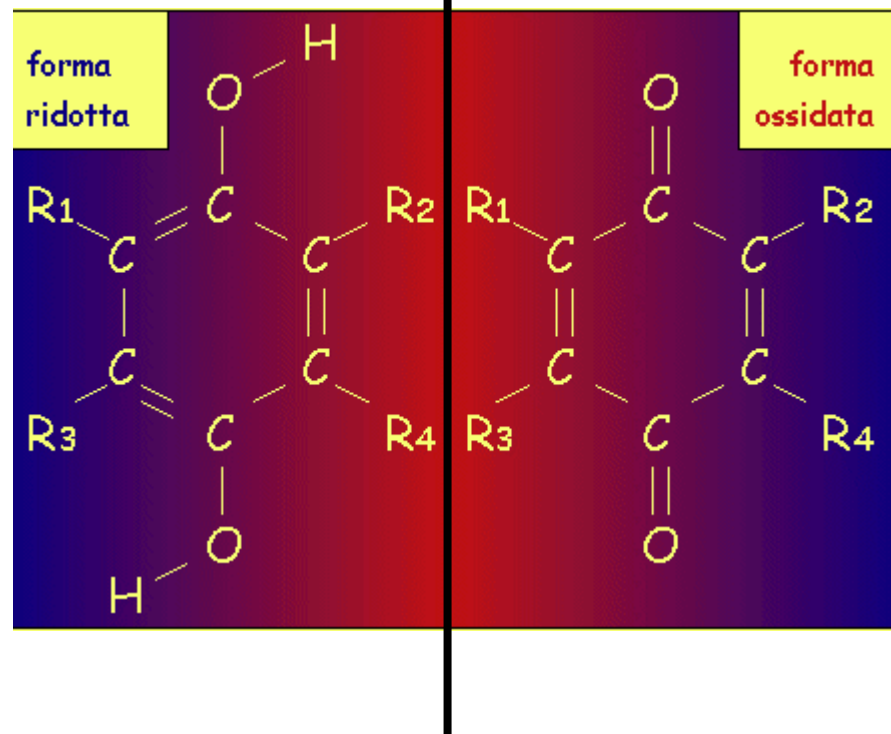
Sviluppo di ossigeno ogni 4 lampi di luce

**Figura 12.30** Si pensa che l'apparato di evoluzione dell'ossigeno esista in cinque diversi stati di ossidazione (da S<sub>0</sub> a S<sub>4</sub>). Il ciclo è fatto procedere sequenzialmente dai fotoni intrappolati dal PSII fino a che non venga prodotto lo stato S<sub>4</sub> altamente ossidato (carico positivamente). S<sub>4</sub> è il solo stato in grado di ossidare l'acqua. Sono mostrati i processi di ossidazione indotta dalla luce di P680 e quello della sua riduzione successiva da parte di elettroni che, alla fine, derivano dall'acqua.



I protoni rilasciati a seguito dell'ossidazione dell' $\text{H}_2\text{O}$  si accumulano nel lume





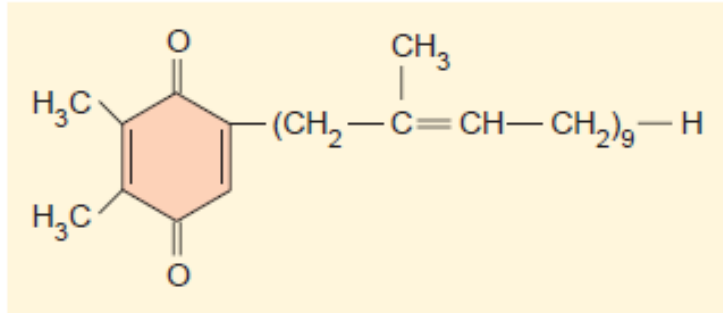
## Chinoni

Molecole organiche, con anello a sei atomi di carbonio, che possono subire facilmente reazioni di ossidoriduzione.

Nella forma ridotta l'anello presenta due ossidrili **OH** opposti.

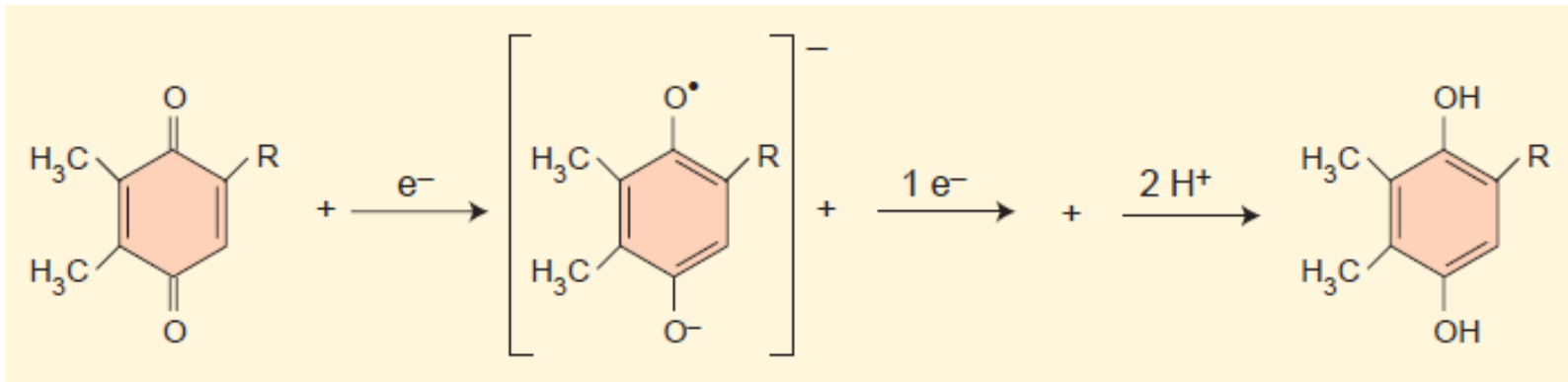
Nella forma ossidata l'anello presenta due gruppi chetonici **C=O**.

I gruppi **R<sub>n</sub>** sono sostituenti organici di vario tipo.



**Plastochinone**

Molecola idrofobica che si può muovere nel doppio strato lipidico dei tilacoidi



Chinone  
(Q)

Plastosemichinone  
(Q<sup>•-</sup>)

Plastoidrochinone  
(QH<sub>2</sub>)

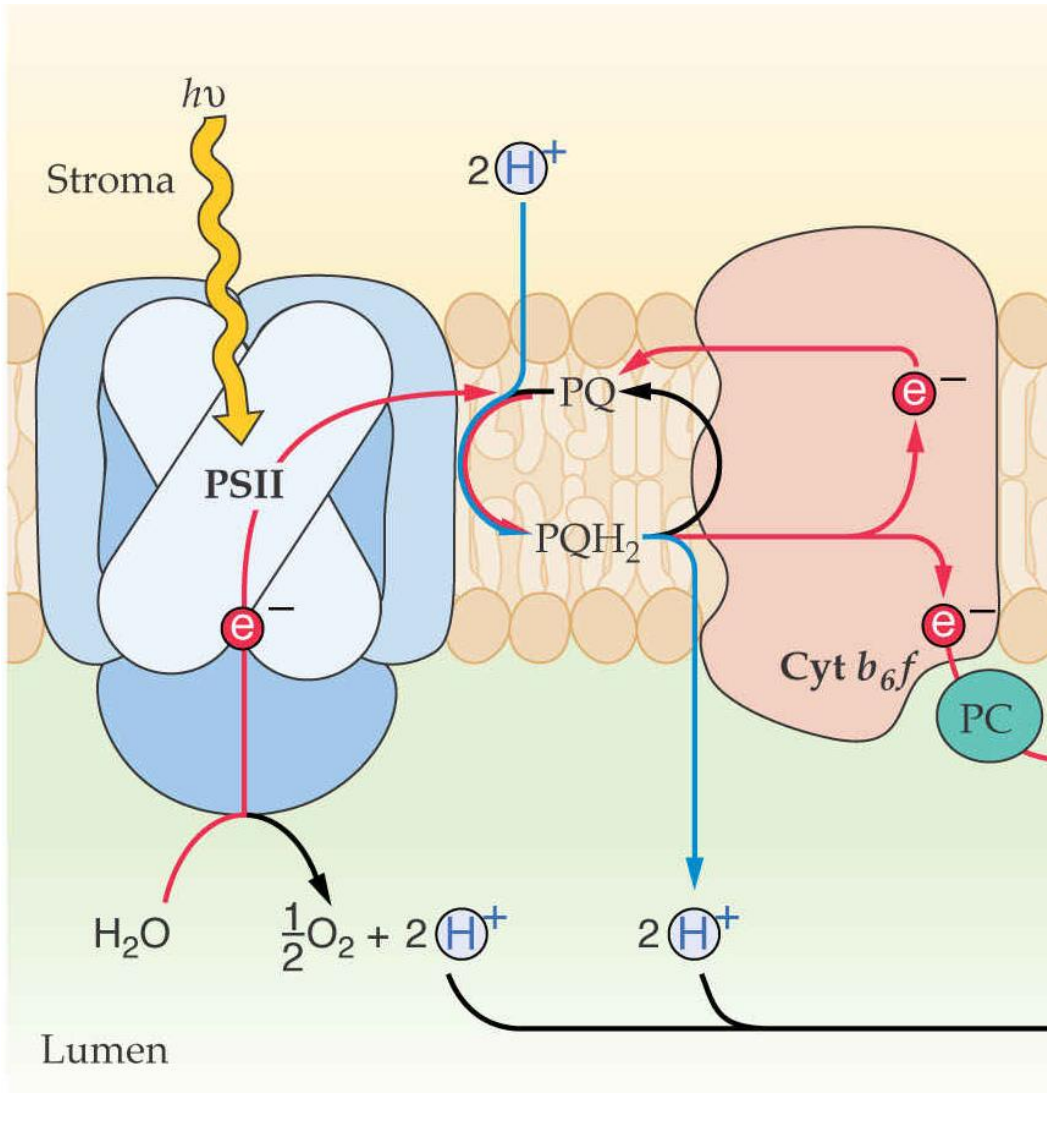
(Q<sub>B</sub>)

(=Plastochinolo, Q<sub>B</sub>H<sub>2</sub>)

È un trasportatore di elettroni e protoni



# Fotosistema II → plastoquinone → citocromo $b_6f$

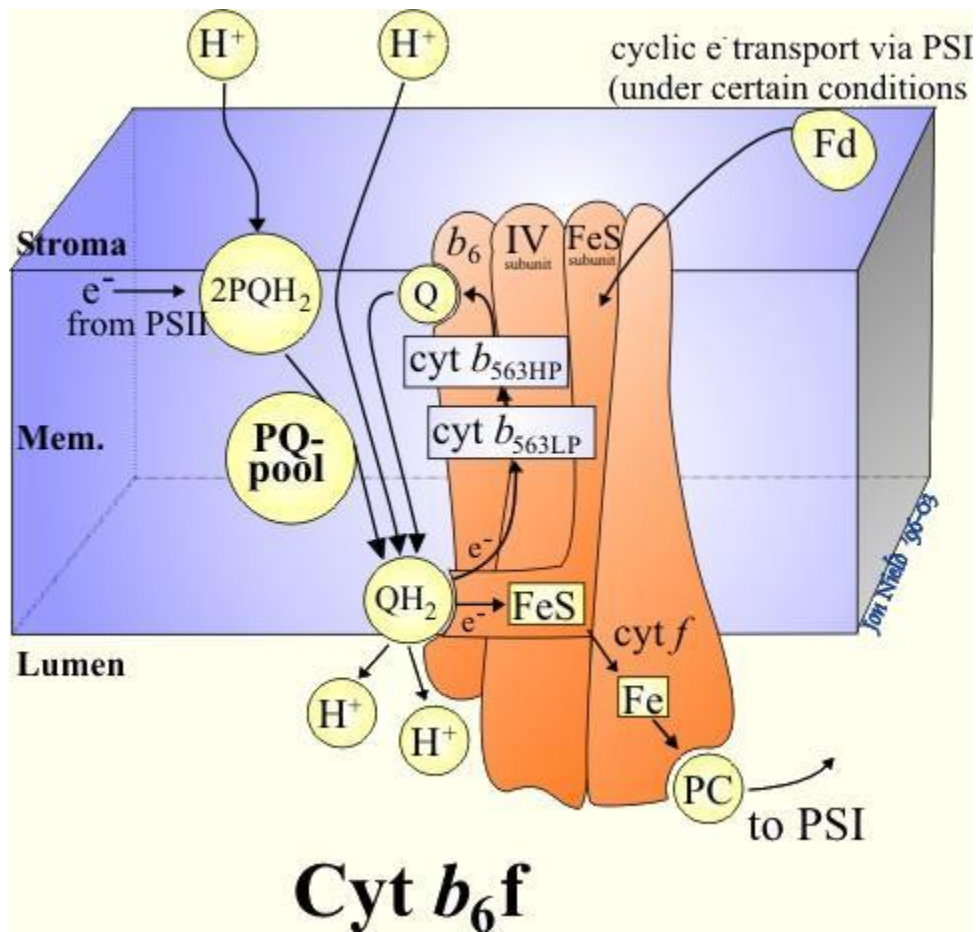


**Tabella 12.7** Le subunità polipeptidiche del complesso citocromo  $b_6f$ 

<i>Proteina</i>	<i>Gene</i>	<i>Ubicazione del gene<sup>a</sup></i>	<i>Massa molecolare</i>	<i>Funzione</i>
Cyt <i>f</i>	<i>petA</i>	C	32	Apoproteina cyt <i>f</i>
Cyt $b_6$	<i>petB</i>	C	24	Apoproteina cyt $b_6$
RFeS	<i>petC</i>	N	19	Apoproteina Rieske Fe-S
Subunità IV	<i>petD</i>	C	17	Legame del chinone al Q <sub>p</sub>
PetG, PetM	<i>petG, petM</i>	N	4,0	Sconosciuta
PetL	<i>petL</i>	C	3,4	Sconosciuta

<sup>a</sup> C, cloroplasto; N, nucleo.

# Complesso citocromico $b_6f$



Nella membrana tilacoidale come dimero

Ogni dimero  
4 subunità  
proteiche  
principali

## Contiene tre carriers di elettroni:

Citocromo di tipo b (cyt  $b_6$ , due gruppi eme)

Citocromo di tipo c (cyt f, un gruppo eme)

Fe-S proteina di Rieske (gruppo FeS)

Centri redox ad alto  
potenziale redox

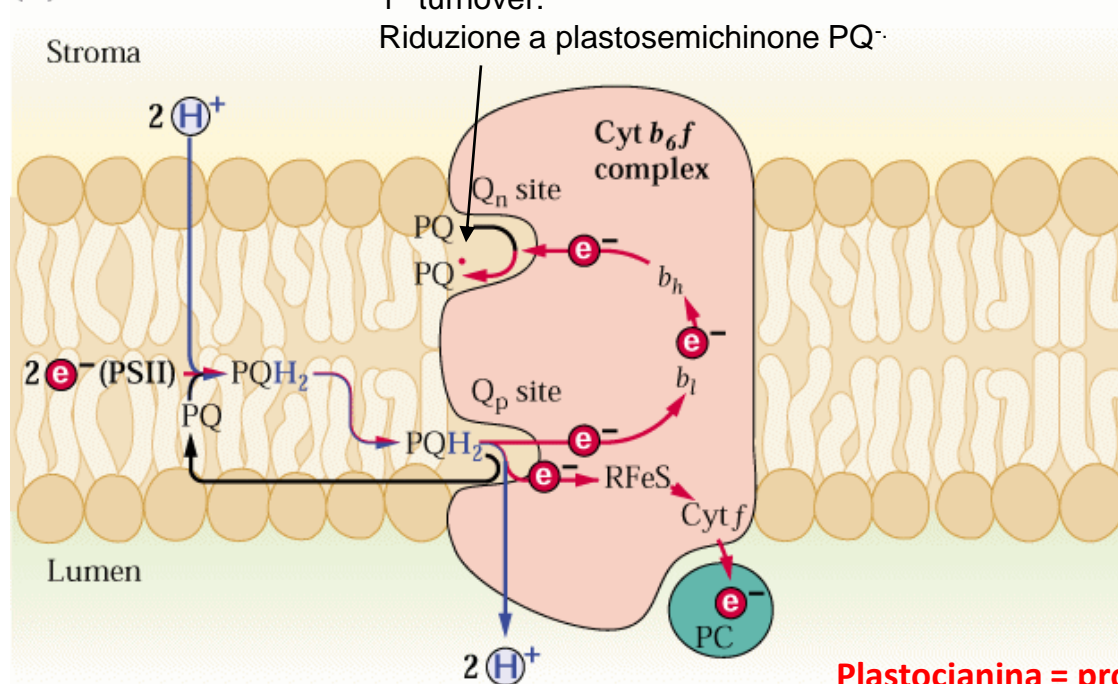
# CICLO DEI CHINONI (Ciclo Q)

ossidazione plastoquinone

un elettrone va verso il PSI

un elettrone innesca un processo ciclico

(A) First turnover

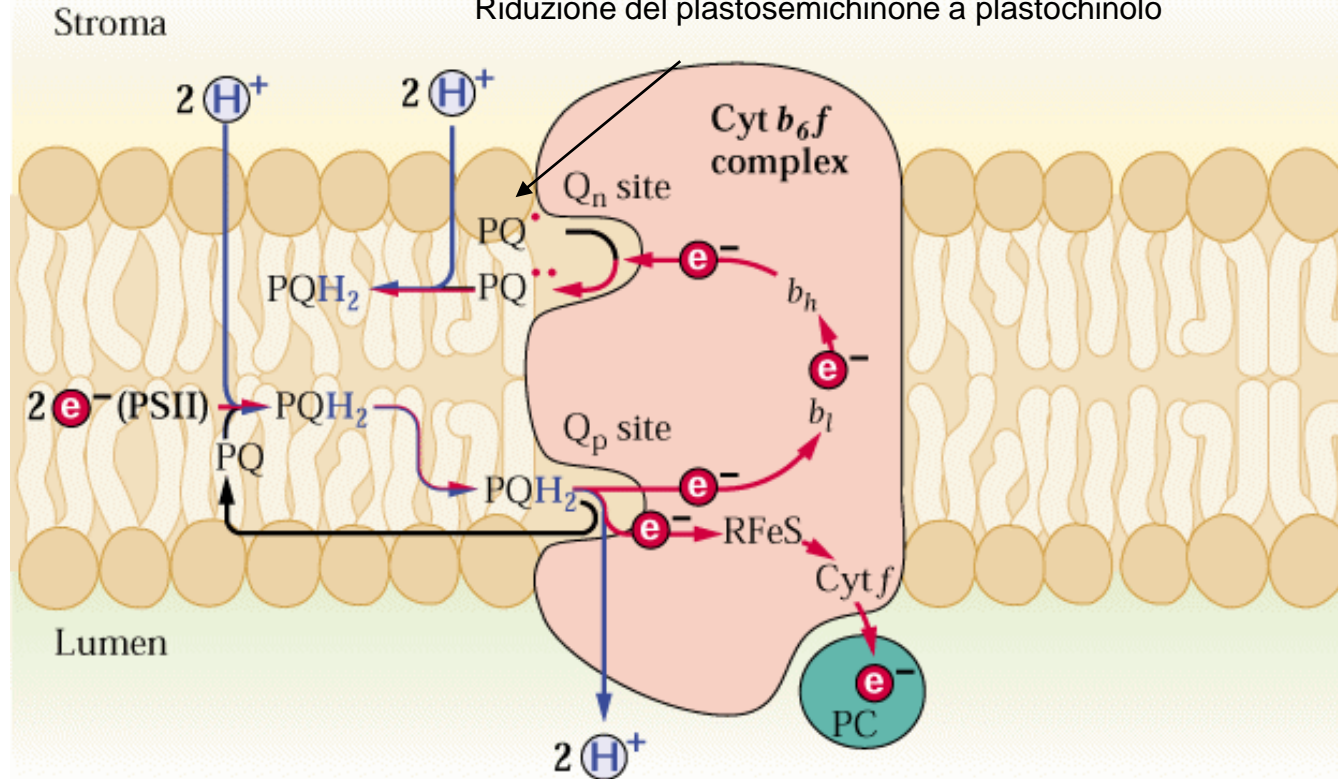


Plastocianina = proteina solubile  
contenente rame

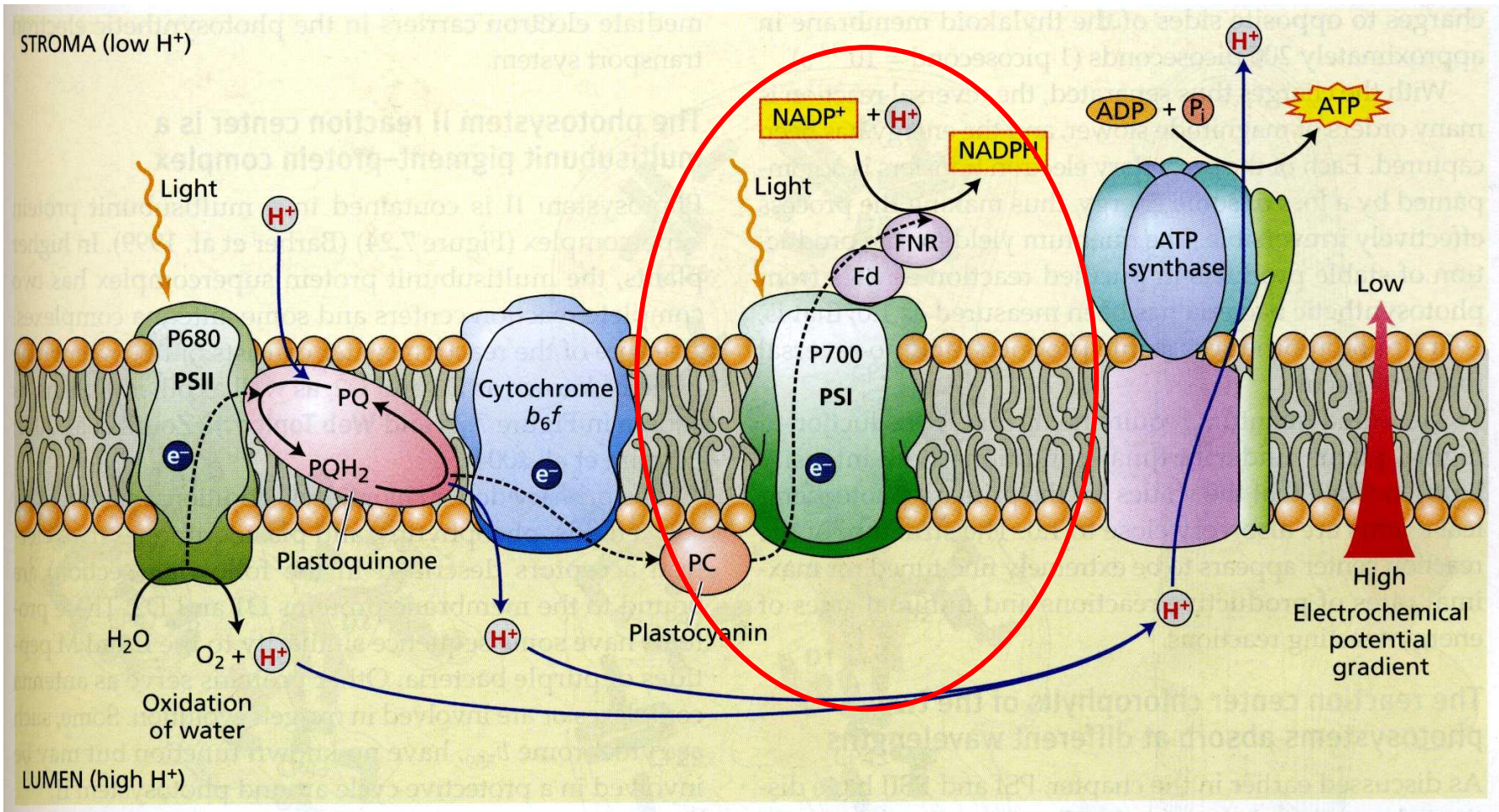
Per la formazione di  $\text{PQH}_2$  vengono prelevati due protoni dello stroma

(B) Second turnover

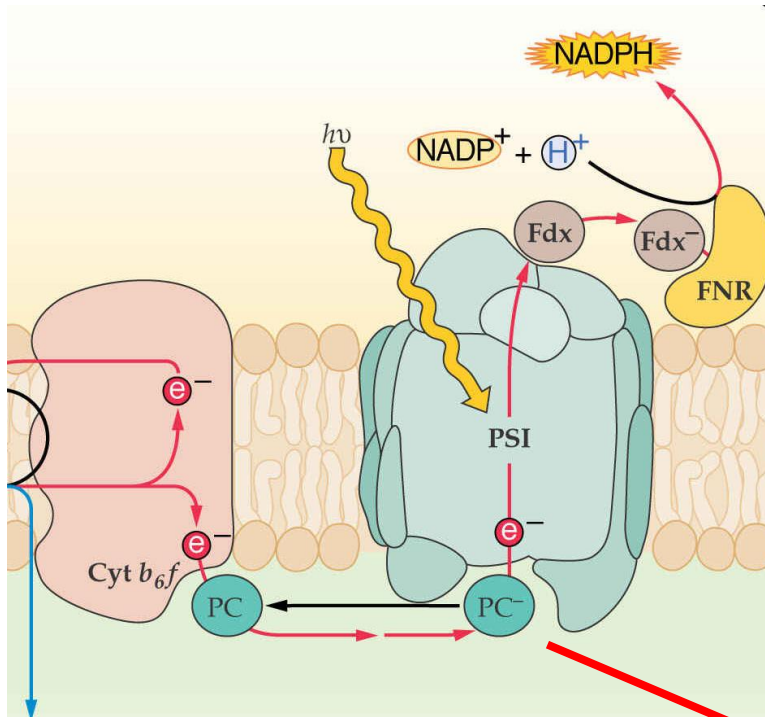
2° turnover:  
Riduzione del plastosemichinone a plastochinolo



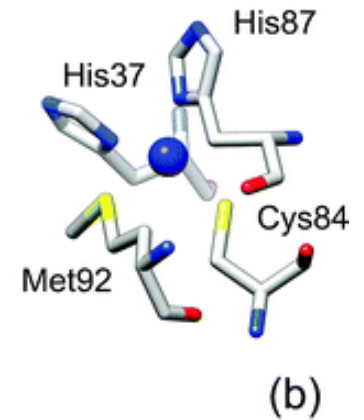
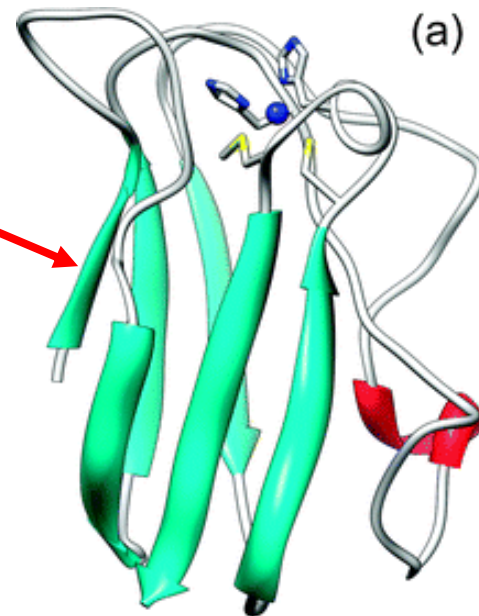
Risultato finale: 4 protoni traslocati e 2 elettroni trasferiti a due PC



# Citocromo *b6f* → Plastocianina → Fotosistema I



Plastocianina: piccola proteina (10.5 kDa)  
Contenente Cu (centro redox; forma ridotta: Cu $^+$ ), solubile in acqua, localizzata nel lume tilacoidale. Monomeric.



# Fotosistema I: 15 subunità proteiche e pigmenti associati

Negli eucarioti è presente in forma monomerica, nei cianobatteri è trimerico

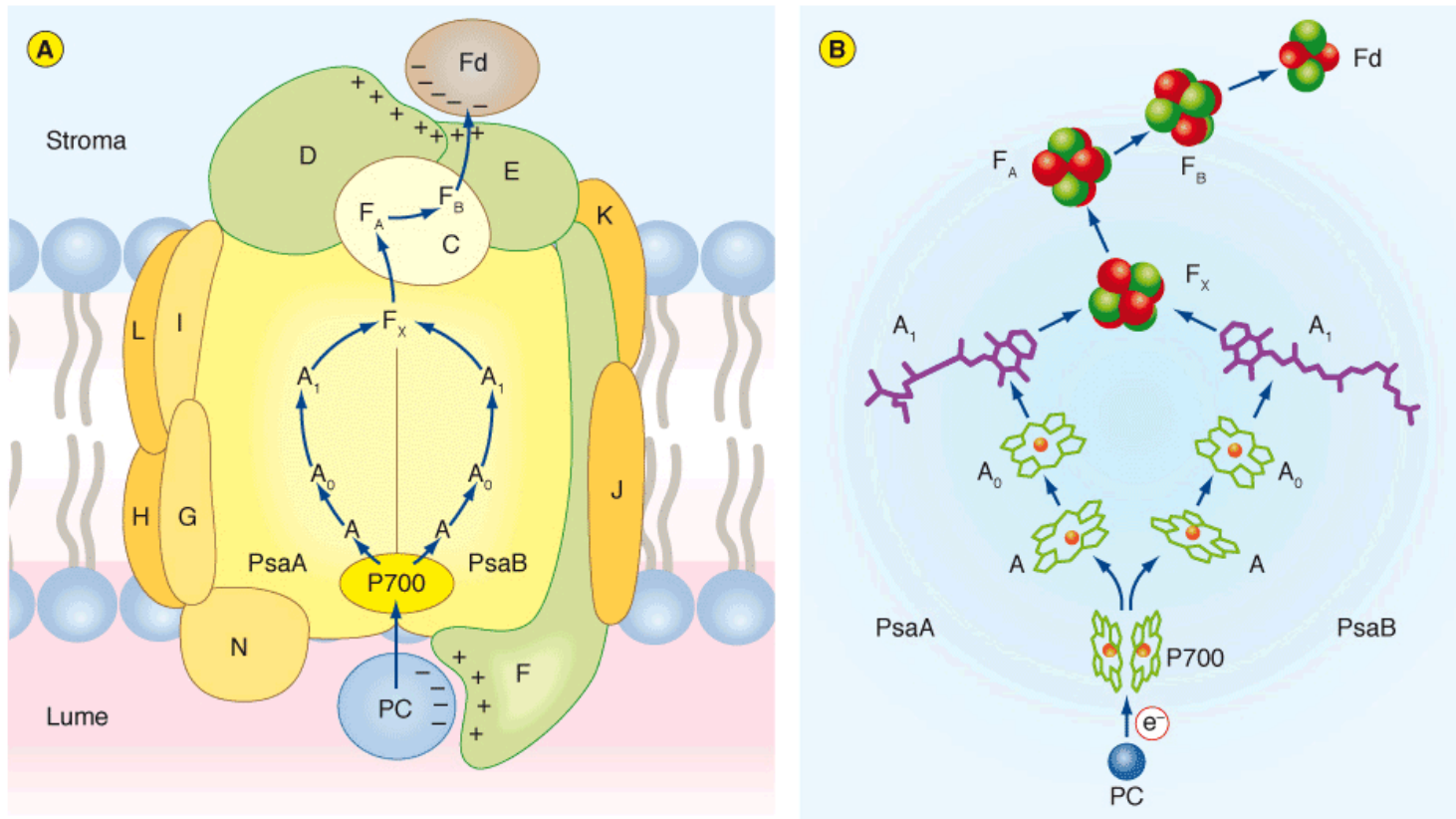
**TABLE 12.4** Protein subunits of the plant PSI core complex.

Protein	Gene	Location of gene	Mol. mass (kDa)	Function
<b>Hydrophobic subunits</b>				
PsaA	<i>psaA</i>	Chloroplast	83	Reaction center protein
PsaB	<i>psaB</i>	Chloroplast	82	Reaction center protein
PsaF	<i>psaF</i>	Nucleus	17	PC docking
PsaG	<i>psaG</i>	Nucleus	11	LHCI binding
PsaH	<i>psaH</i>	Nucleus	10	LHCII-P docking
PsaI	<i>psaI</i>	Chloroplast	4	Unknown
PsaJ	<i>psaJ</i>	Chloroplast	5	Interaction with PsaF
PsaK	<i>psaK</i>	Nucleus	9	LHCI binding
PsaL	<i>psaL</i>	Nucleus	18	LHCII-P docking
PsaO	<i>psaO</i>	Nucleus	10	LHCII-P docking
PsaP	<i>psaP</i>	Nucleus	14	LHCII-P docking
<b>Hydrophilic subunits</b>				
Stromal orientation				
PsaC	<i>psaC</i>	Chloroplast	9	Fe-S apoprotein
PsaD	<i>psaD</i>	Nucleus	18	Ferredoxin docking
PsaE	<i>psaE</i>	Nucleus	10	Ferredoxin docking
Luminal orientation				
PsaN	<i>psaN</i>	Nucleus	10	PC docking



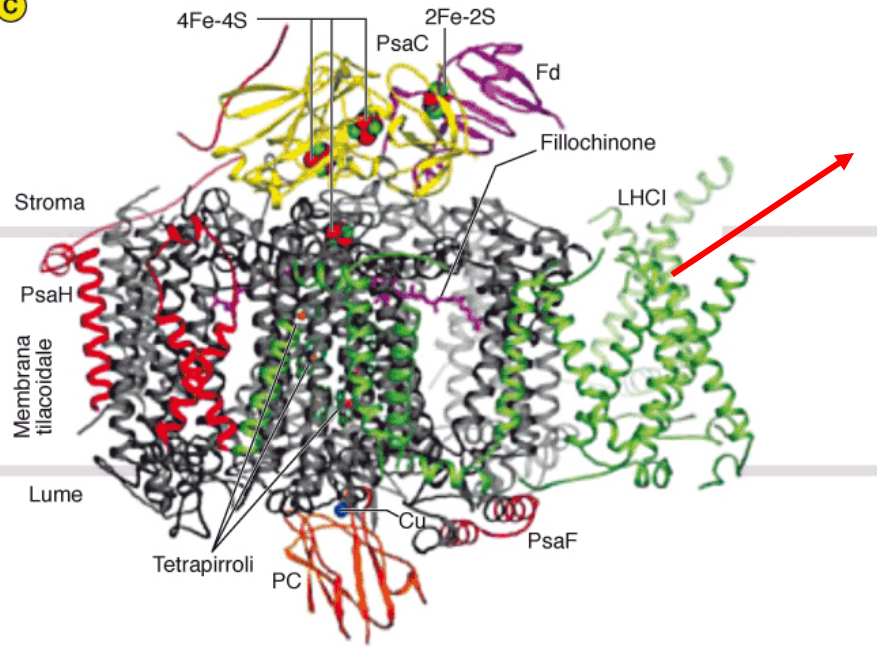
# PSI: core e antenna periferica (LHCI)

## Core: centro di reazione + antenna interna



**Figura 4.19A-B** • (A) Modello strutturale del core del PSI. Sono rappresentate le due principali proteine (PsaA e PsaB), che legano i cofattori coinvolti nel flusso di elettroni del centro di reazione, e una serie di polipeptidi minori. Tra questi ultimi il polipeptide C, coinvolto nel trasferimento di elettroni alla ferredossina, il polipeptide F e i polipeptidi D ed E che agganciano al complesso, rispettivamente, la plastocianina (PC) e la ferredossina (Fd). Nella figura è schematizzato il trasferimento di elettroni, persi (uno alla volta) dal P700 nelle reazioni fotochimiche, a due successive molecole di clorofilla a (A e A<sub>0</sub>) e da qui al fillochinone (A<sub>1</sub>), attraverso entrambe le serie di trasportatori legati all'eterodimero. Gli elettroni passano poi ad un centro [4Fe-4S] (F<sub>x</sub>) e, attraverso altri due centri [4Fe-4S] (F<sub>A</sub>, F<sub>B</sub>), legati al polipeptide C, arrivano alla ferredossina. Gli elettroni persi vengono rimpiazzati sul P700<sup>+</sup> da quelli forniti (uno alla volta) della plastocianina. (B) Rappresentazione schematica dei pigmenti e degli altri cofattori che partecipano al flusso di elettroni dalla plastocianina (PC) alla ferredossina (Fd) attraverso il core del PSI (A/A<sub>0</sub> = molecole di clorofilla a, A<sub>1</sub> = fillochinone). Le sfere rosse e verdi rappresentano i centri [4Fe-4S] dei trasportatori F<sub>x</sub>, F<sub>A</sub> e F<sub>B</sub> e il centro [2Fe-2S] della ferredossina, la sfera blu il Cu della plastocianina.

C

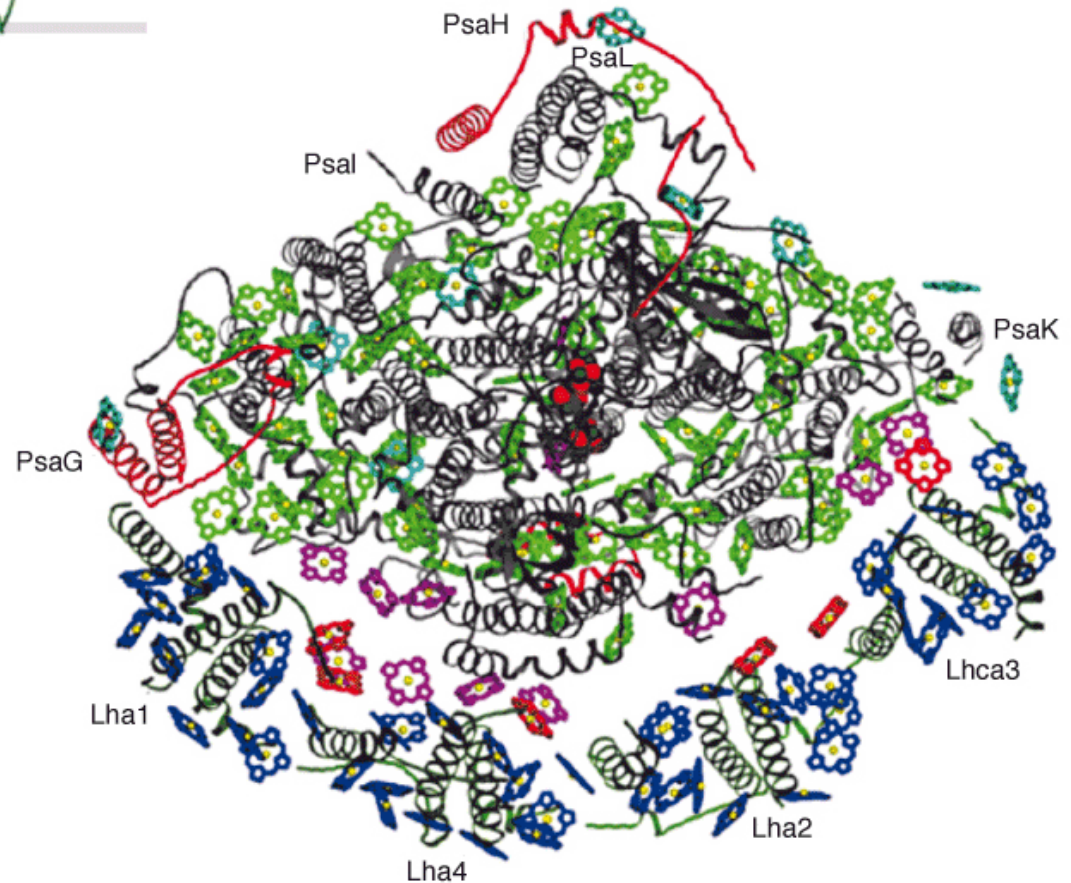


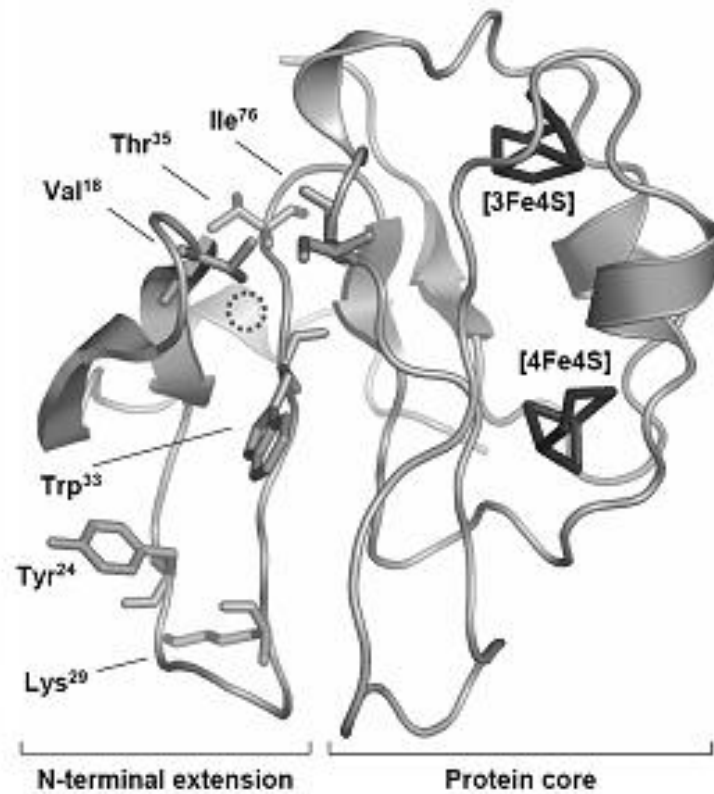
LHCI, antenna periferica di PSI

Presente nelle alghe verdi (9 monomeri) e nelle piante superiori (4 monomeri)

Monomeri LHCI simili a quelli di LHCI

Assemblati in due eterodimeri (Lhca1-Lhca4 e Lhca2-Lhca3) a formare una mezzaluna su un lato di PSI





**Ferredossina:** piccola proteina (11 kDa) che contiene centri Fe-S.

Solubile in acqua, localizzata nello stroma.

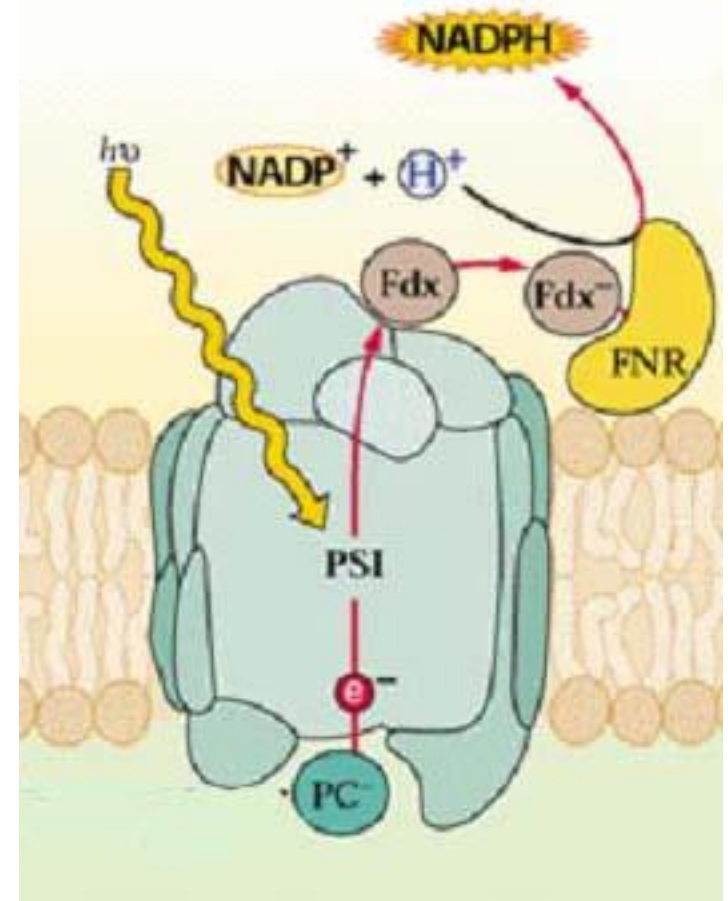
Monomeric.

La ferredossina non trasferisce gli elettroni direttamente al  $\text{NADP}^+$

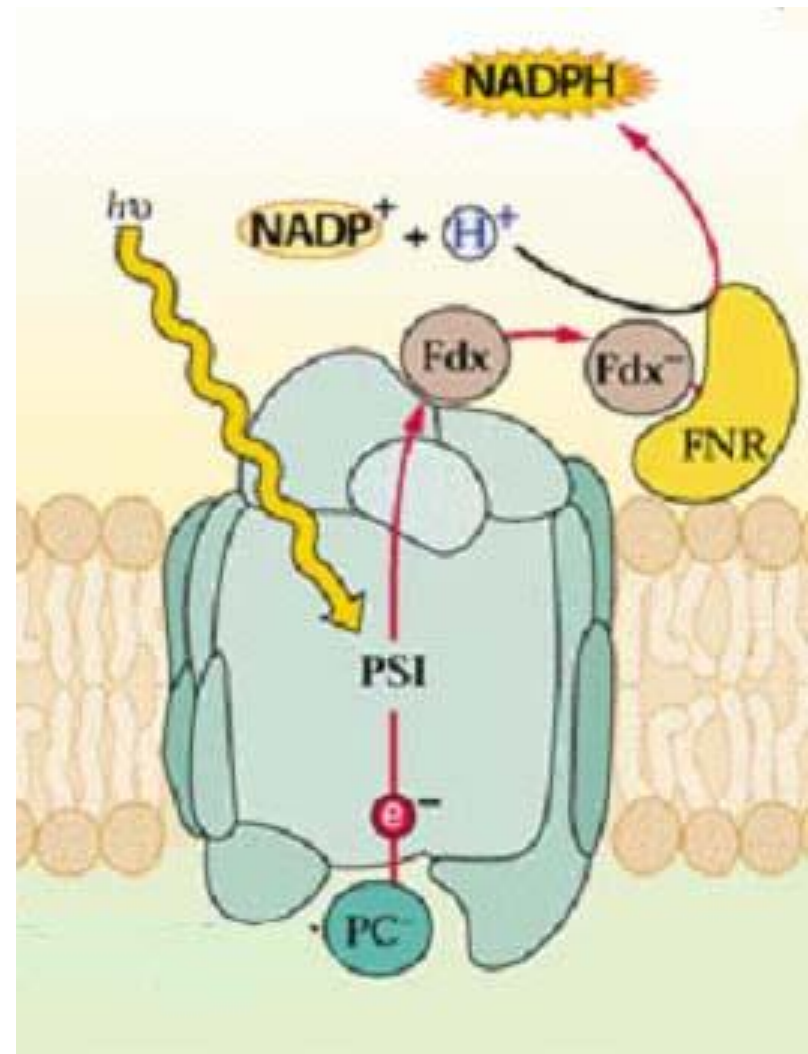
ma alla

Ferredossina- $\text{NADP}^+$  reduttasi (FNR)

Processo a 2 tappe: FNR deve ricevere (uno alla volta) 2 elettroni trasportati dalla Fdx e a questo punto riduce  $\text{NADP}^+$  a NADPH (cedendo 2  $e^-$ )

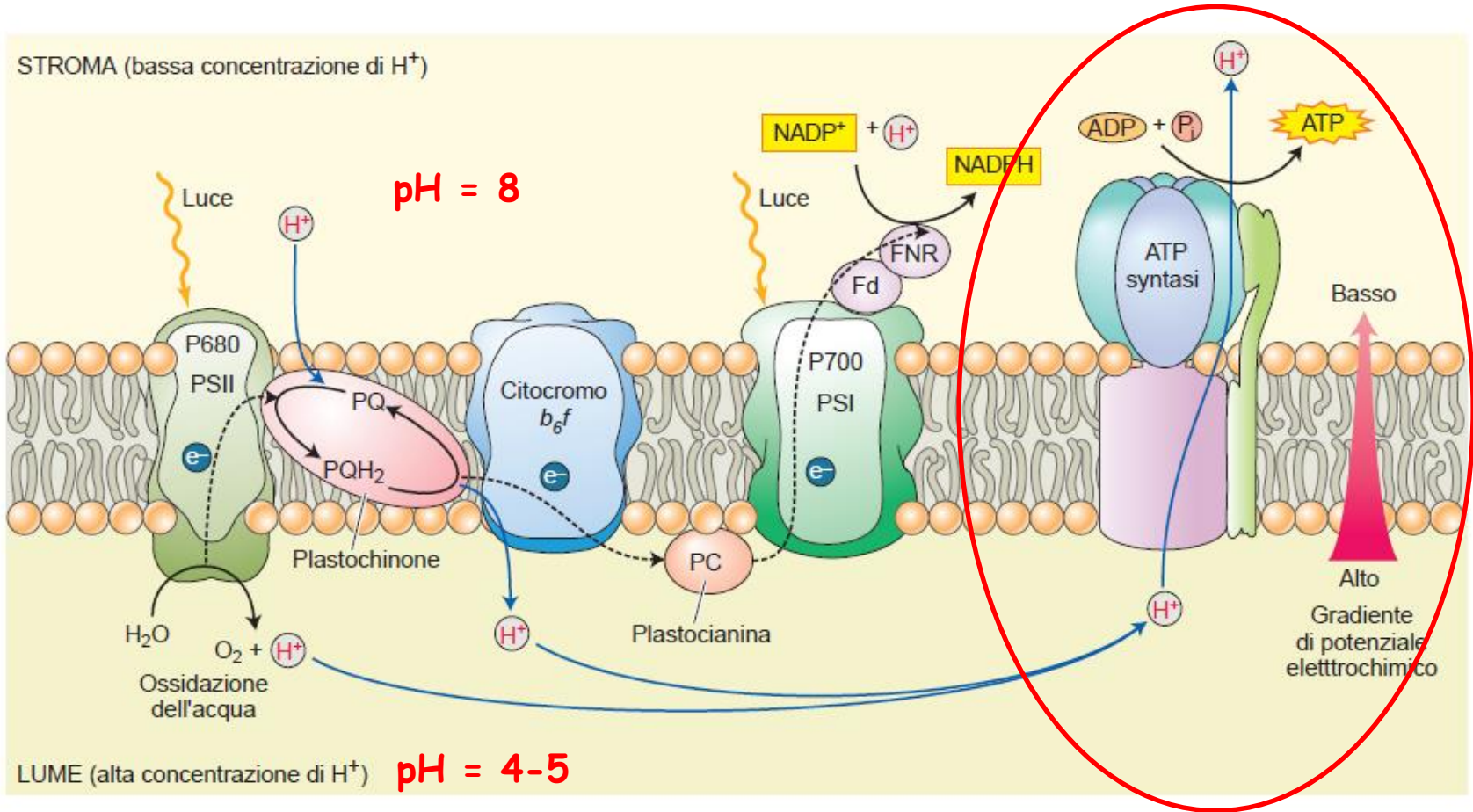


Durante la riduzione del  $\text{NADP}^+$  a NADPH un protone viene prelevato dallo stroma



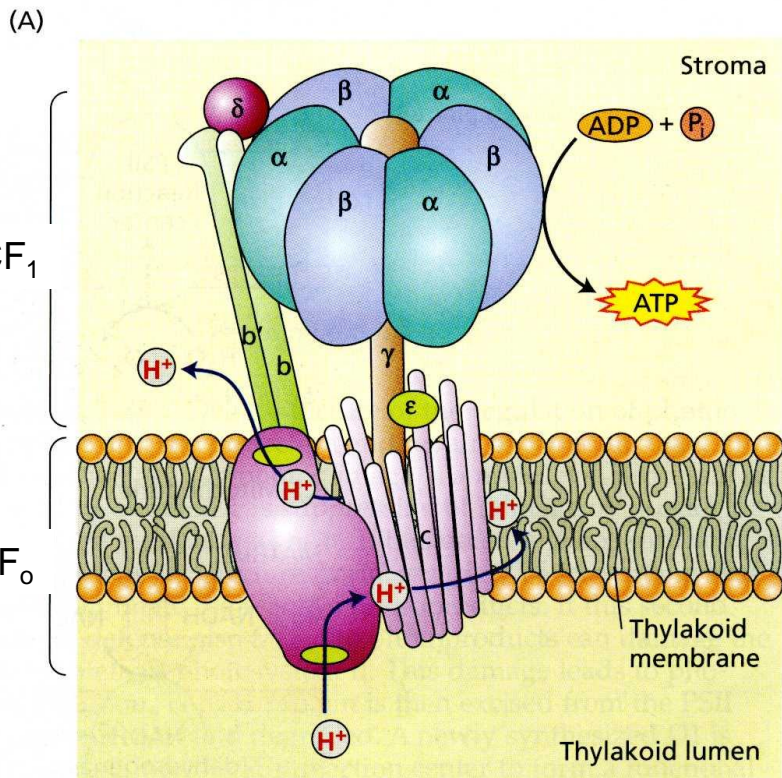
La **ferredossina** oltre a ridurre il  $\text{NADP}^+$  fornisce elettroni per la **riduzione del nitrito** nel cloroplasto e per la **regolazione** di alcuni **enzimi del ciclo di Calvin**

# Sintesi di ATP: FOTOFOSFORILAZIONE



Per **4 elettroni** che arrivano dal PSII (2 PQH<sub>2</sub>) e passano alla ferredossina, vengono sintetizzati **2 NADPH**

Inoltre, vengono immessi nel lume **12 protoni** (8 da riossidazione di due plastoquinoli, 4 da fotoossidazione di due molecole di acqua)



## ATP-sintasi del cloroplasto:

Canale protonico CF<sub>0</sub> costituito da 14 subunità c

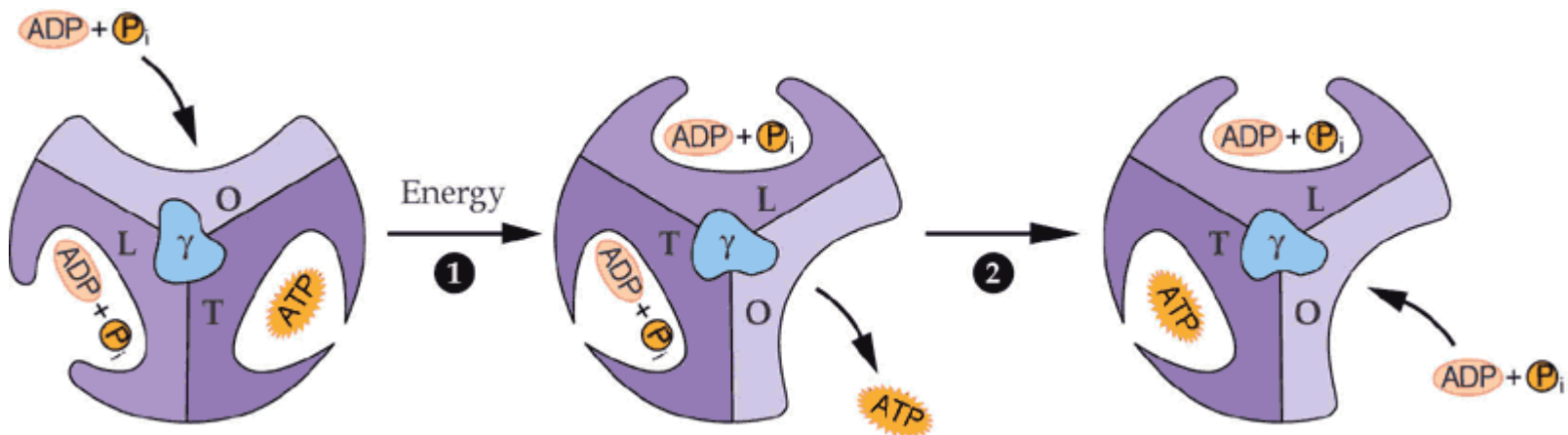
Richiesta una rotazione completa (14 H<sup>+</sup>) per la sintesi di 3 ATP

Quindi:

Necessari 4.6 H<sup>+</sup> per 1 ATP

Per **4 elettroni** che derivano da PSII, vengono accumulati 12 H<sup>+</sup> nel lume, che permettono la sintesi di **2.6 ATP**

È foto-dipendente: attivata dalla luce





Dal **flusso lineare di elettroni**, ogni 4 elettroni trasferiti da H<sub>2</sub>O verso NADP<sup>+</sup> si ottengono 2 NADPH e 2.6 ATP Quindi **ATP/NADPH = 1.3**

La **fissazione di una molecola di CO<sub>2</sub>** nel Ciclo di Calvin richiede 3 ATP e 2 NADPH, con un rapporto **ATP/NADPH = 1.5**

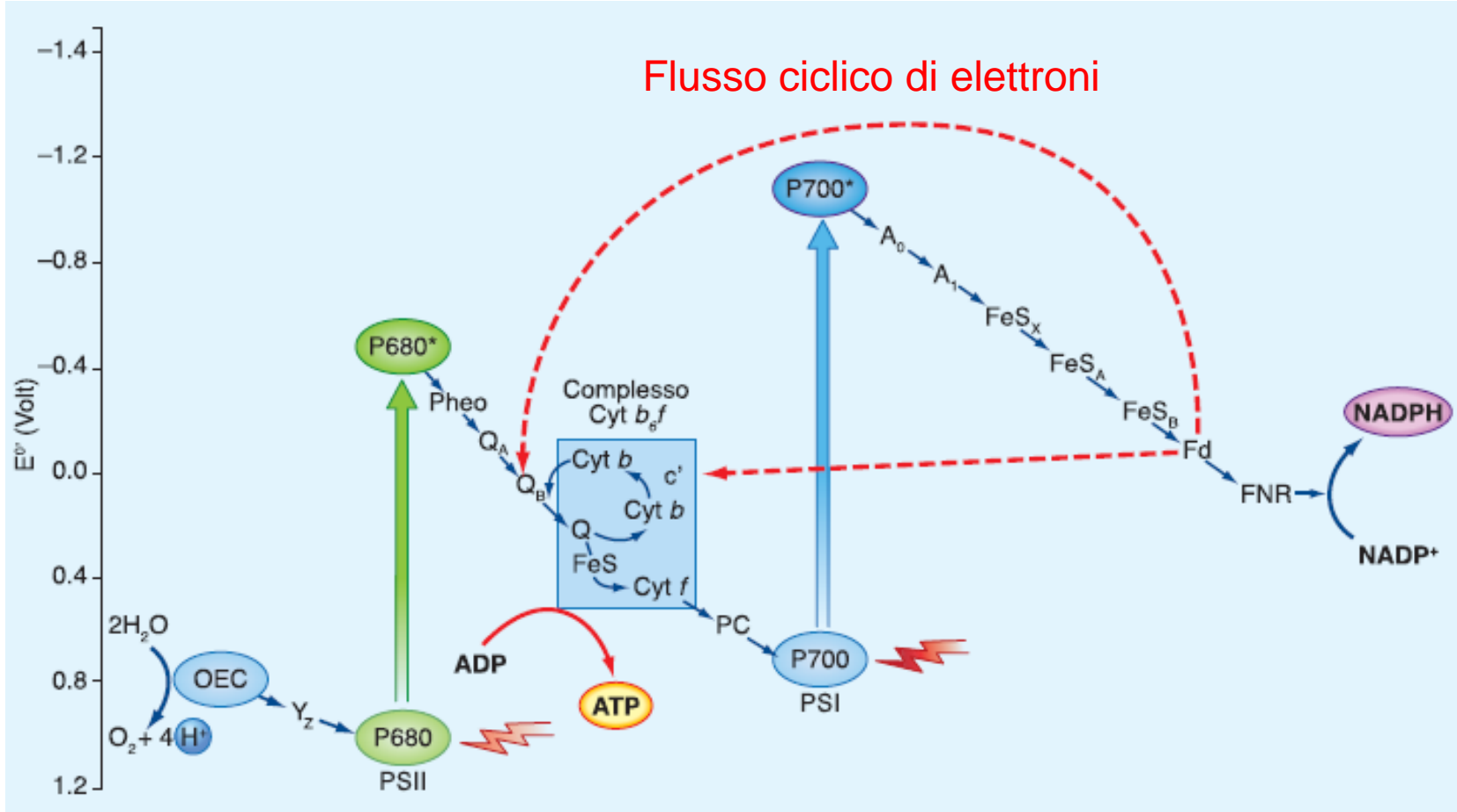
Il flusso lineare di elettroni è **insufficiente a sostenere il fabbisogno** del Ciclo di Calvin

**Necessario un meccanismo per soddisfare il maggior fabbisogno di ATP**

## Flusso lineare vs flusso ciclico di elettroni

**Flusso lineare:** schema a Z (trasferimento vettoriale di  $e^-$ ), 2 fotosistemi, libera  $O_2$ , produce NADPH e ATP, fotofosforilazione lineare

**Flusso ciclico:** trasferimento ciclico di  $e^-$ , solo PSI, produce solo ATP, fotofosforilazione ciclica



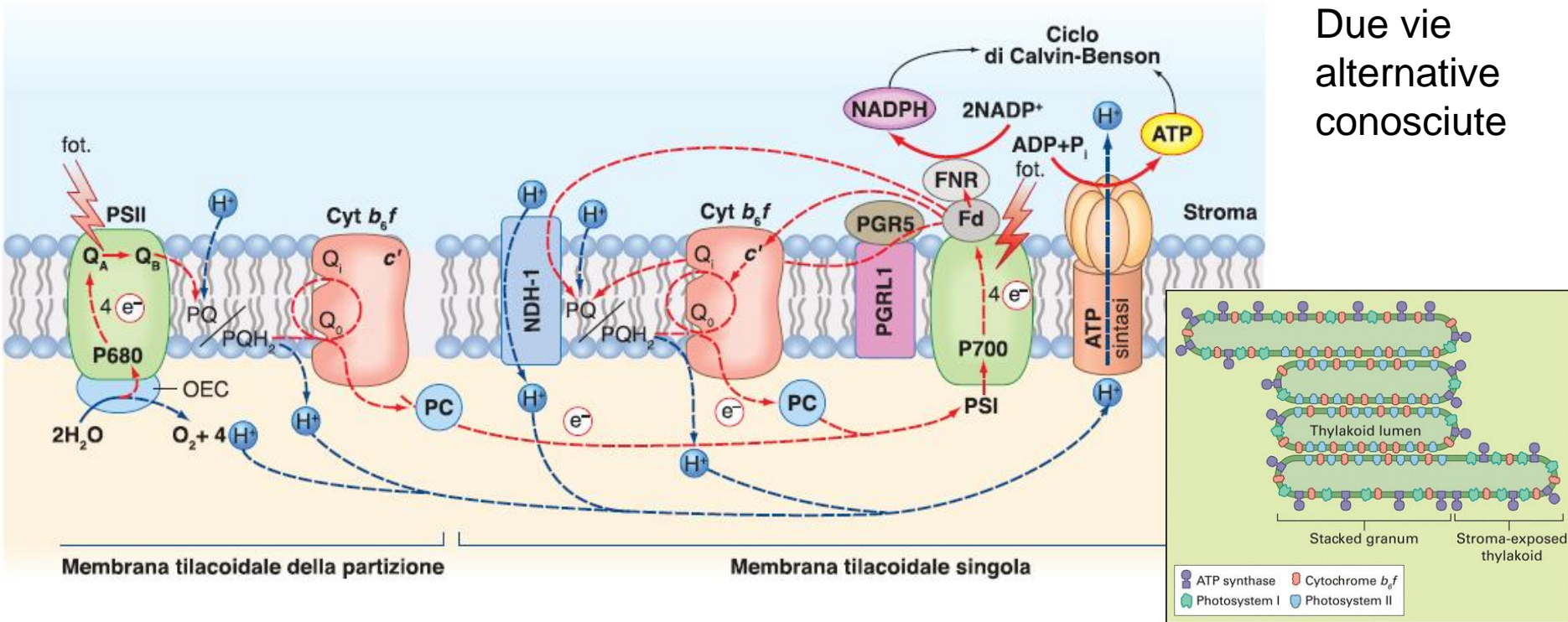
# Flusso ciclico di elettroni dal PSI al Cyt $b_6f$ e di nuovo al PSI

Accoppiato alla traslocazione di protoni nel lumen

Sintesi di ATP senza ossidazione dell'acqua e riduzione di NADP<sup>+</sup>

**FOTOFOSFORILAZIONE  
CICLICA**

Due vie  
alternative  
conosciute



**FIGURA 4.22** Vie di immissione di elettroni nel flusso ciclico attorno al PSI. (Le linee tratteggiate rosse indicano i flussi di elettroni, quelle tratteggiate blu i flussi di protoni). (Cyt  $b_6f$  = complesso citocromico  $b_6f$ , Fd = ferredossina, FNR = ferredossina-NADP<sup>+</sup> riduttasi, fot = fotoni, NDH-1 = complesso enzimatico operante come Fd-PQ ossidoriduttasi, PC = plastocianina, PGR5 = *Proton Gradient Regulation 5*, PGRL1 = *PGR5-Like 1*, PQ = plastochinone, PQH<sub>2</sub> = plastochinolo). (PGR5-PGRL1 e NDH-1, che per chiarezza grafica sono distanziati dal PSI, *in vivo* sono associati al fotosistema). (Per una spiegazione più dettagliata si veda il testo).

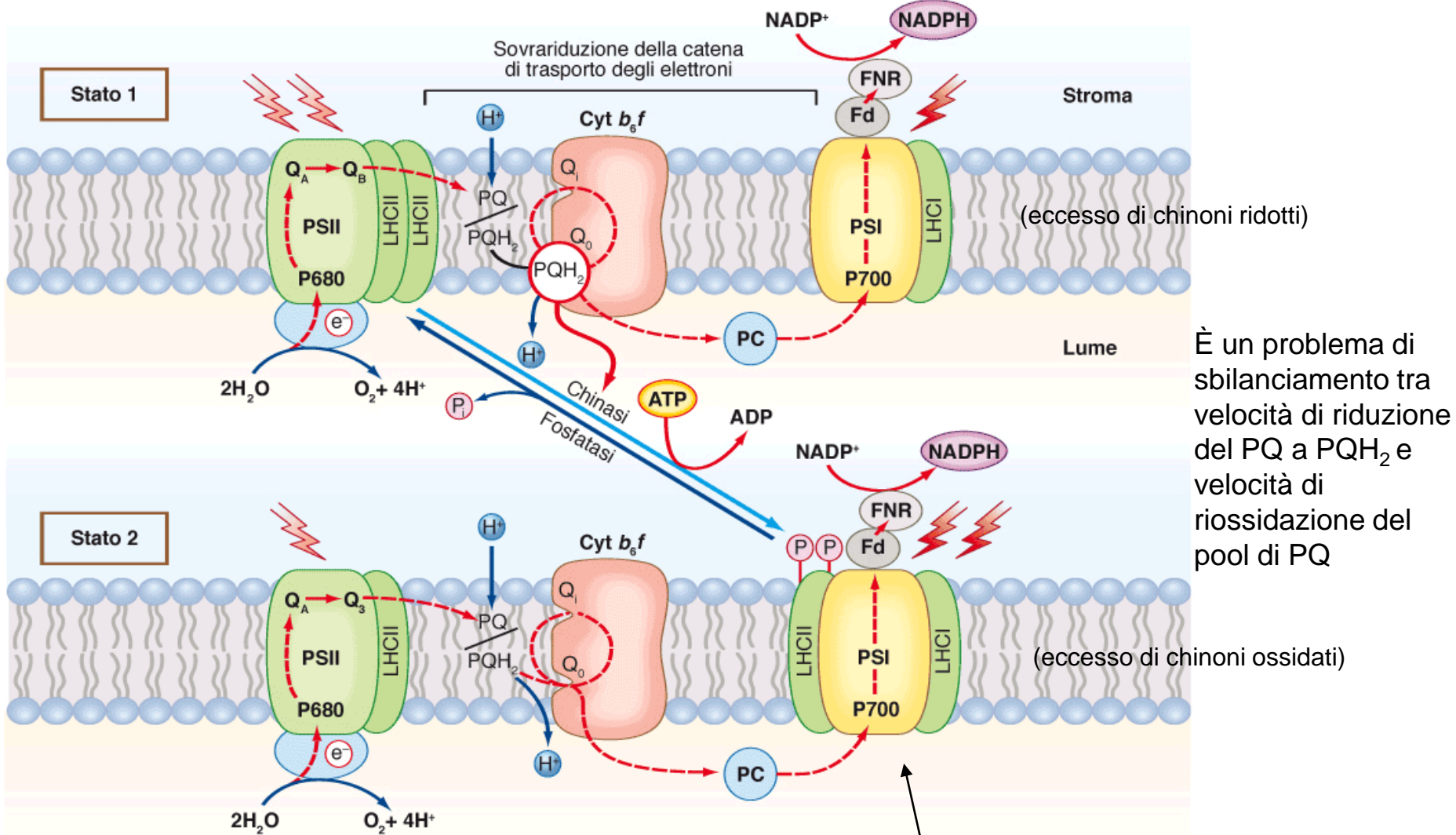
## Cambiamenti dello spettro dell'energia radiante («qualità» della luce):

Portano a disequilibrio tra i due fotosistemi nell'energia assorbita

Esporrebbero il PSII al fotodanno (a causa della formazione di  $^1O_2$ )



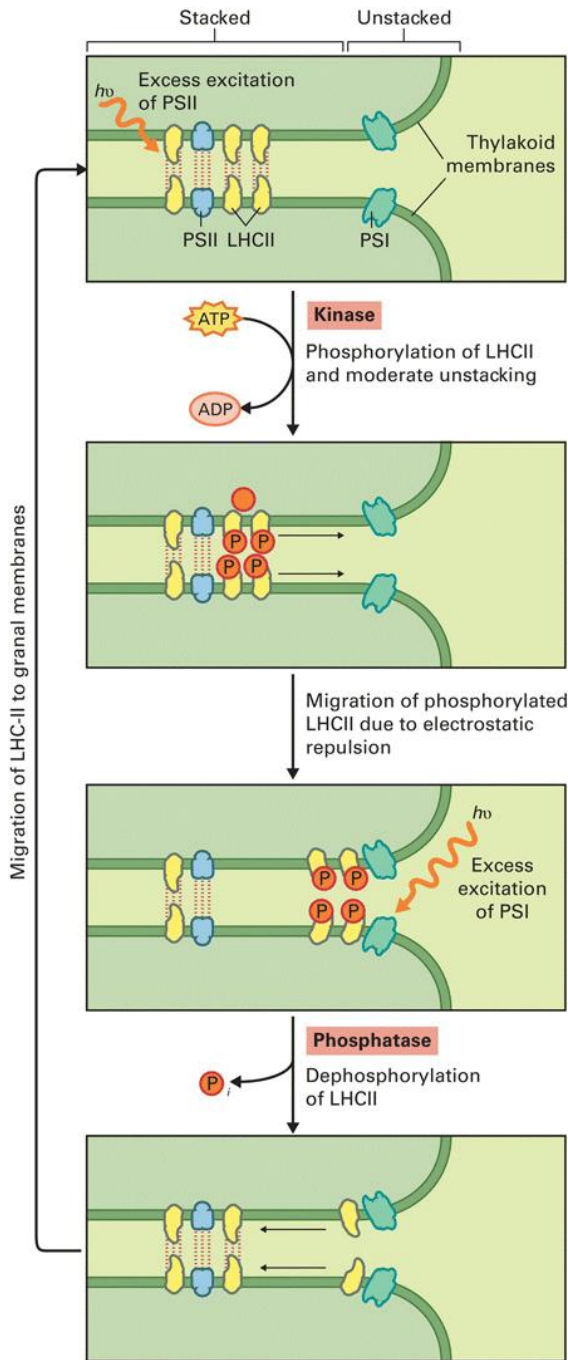
Il mantenimento (ottimizzazione) dell'equilibrio nella distribuzione dell'energia tra i due fotosistemi avviene tramite **le transizioni di stato**



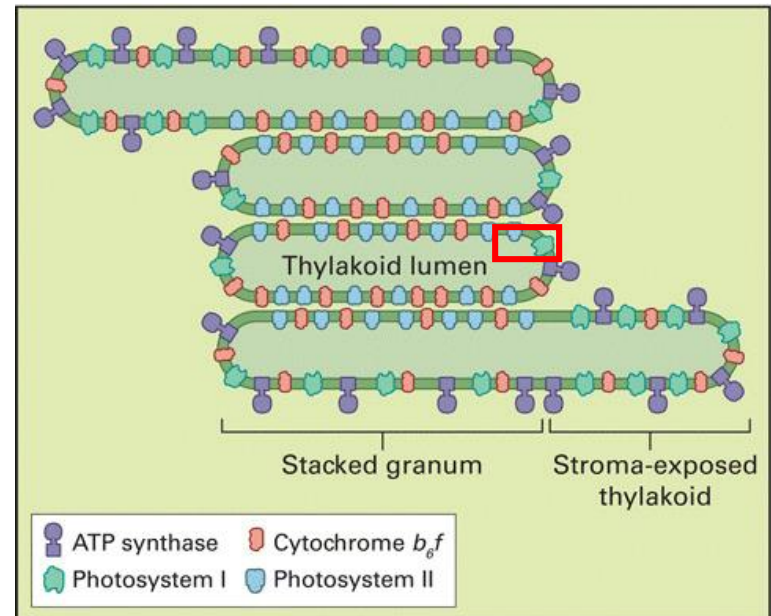
È un problema di sbilanciamento tra velocità di riduzione del PQ a  $PQH_2$  e velocità di riossidazione del pool di PQ

In *Arabidopsis*:  
 La proteina chinasi è **STN7**  
 La proteina fosfatasi è **TAP38**

Supercomplessi PSI-LHCI-LHCII



## Transizioni di stato rappresentazione spaziale



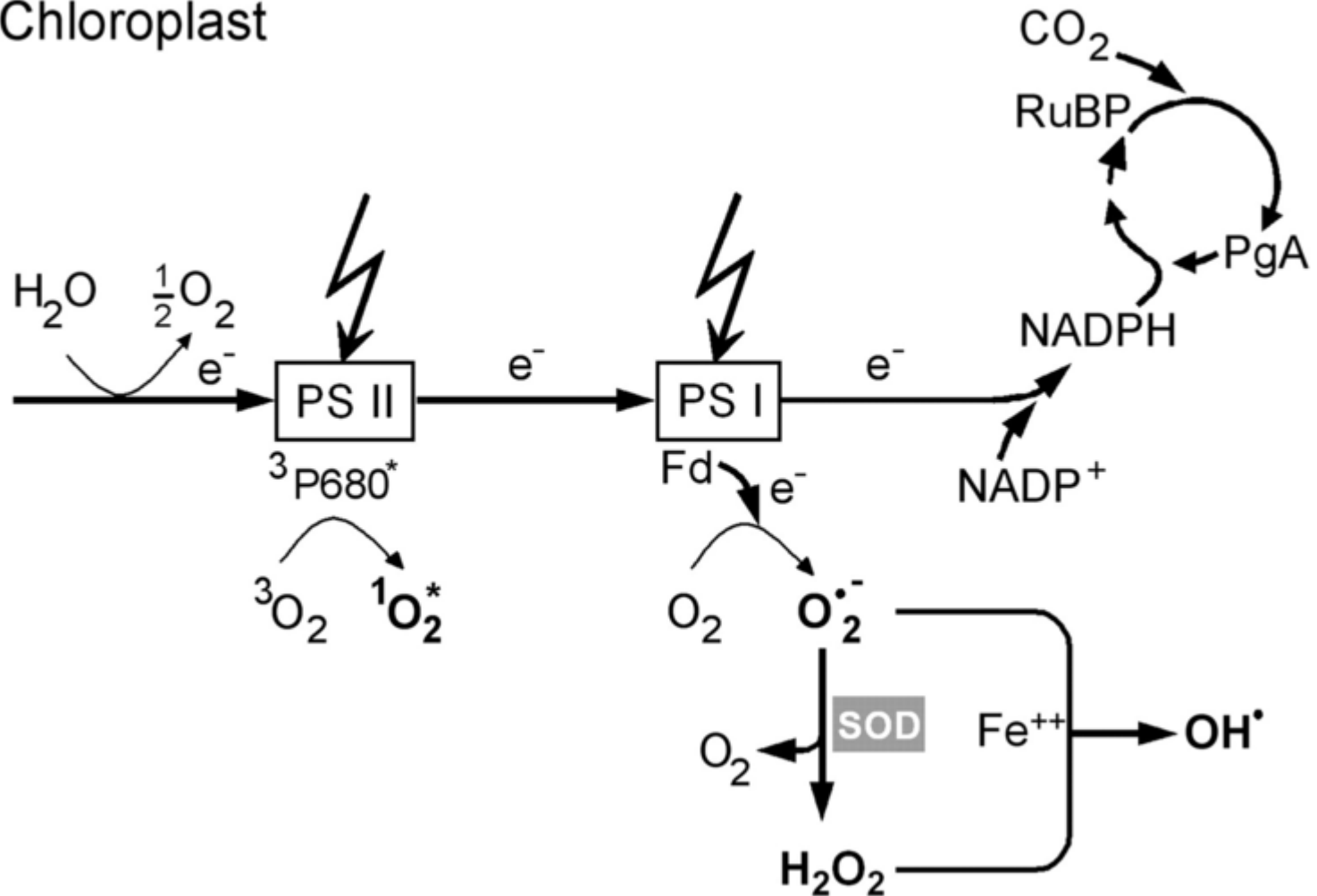
# **Meccanismi fotoprotettivi**

contro l'eccesso di energia radiante

- Riduzione dell'assorbimento di radiazione luminosa
- Contrasto formazione di  $^1\text{O}_2^*$  nel centro di reazione sovraeccitato
- Dissipazione dell'energia in eccesso

# FOTOINIBIZIONE

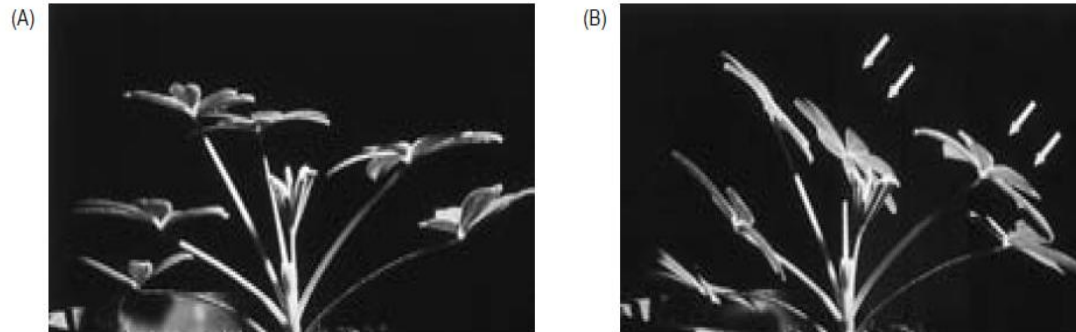
Chloroplast



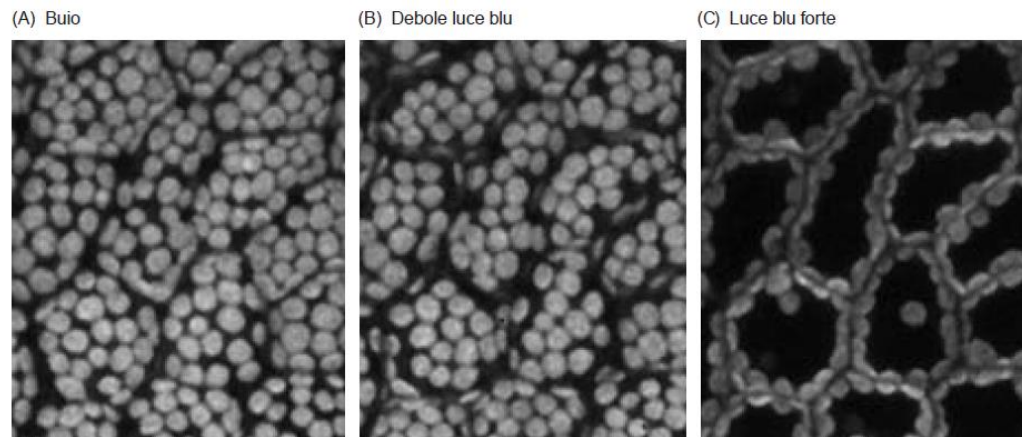


# MECCANISMI FOTOPROTETTIVI PER LA RIDUZIONE DELL'ASSORBIMENTO DELLA LUCE:

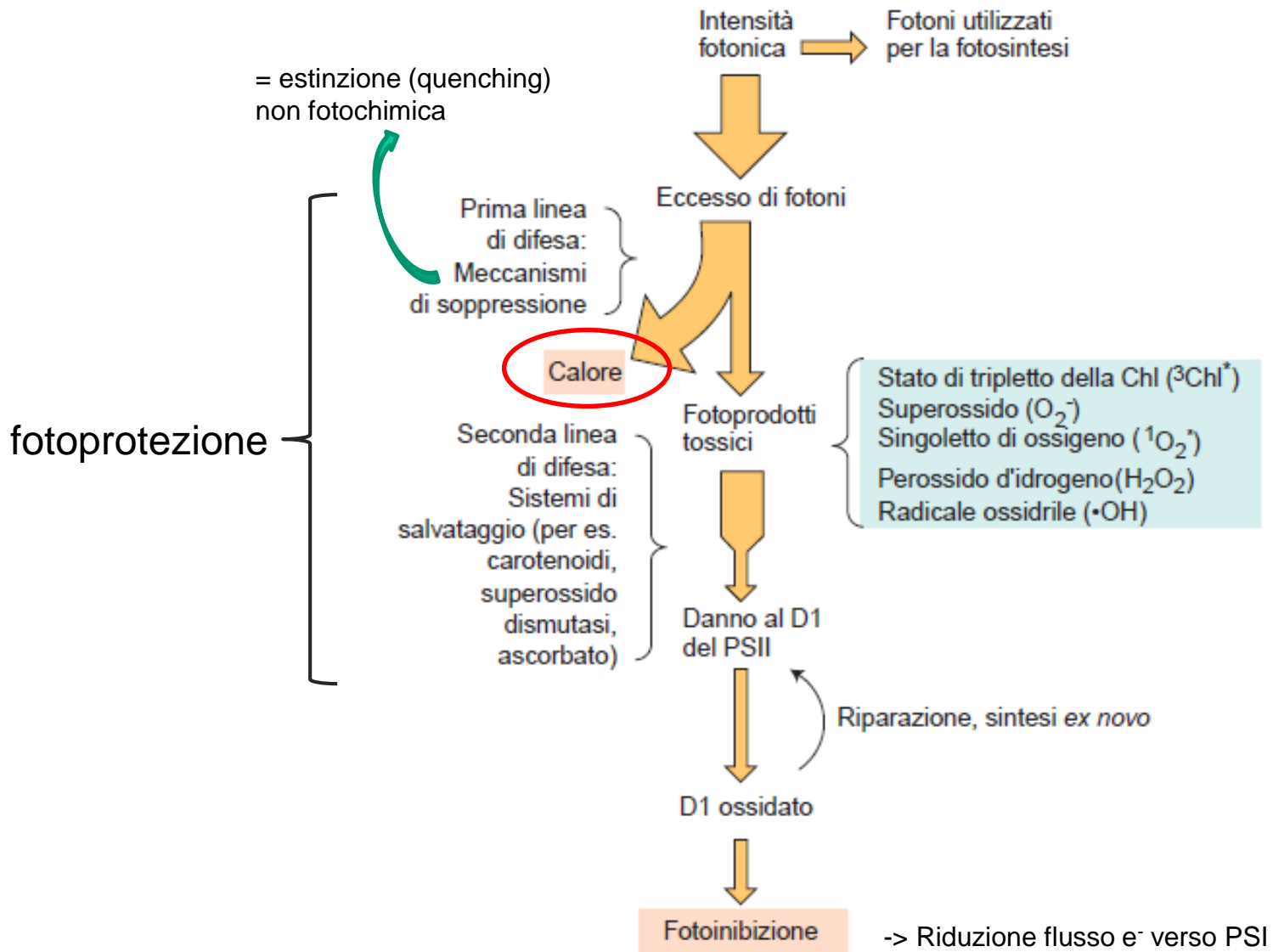
**MOVIMENTI FOGLIARI:** variazione dell'angolo di incidenza della luce



## MOVIMENTI DEI CLOROPLASTI



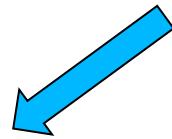
# Meccanismi di protezione dal e riparazione del danno da eccesso di fotoni



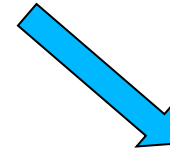
Regola il trasferimento di energia di eccitazione al centro di reazione

(NPQ = Non-Photochemical Quenching)

**Estinzione non fotochimica:** conversione di energia in eccesso in calore



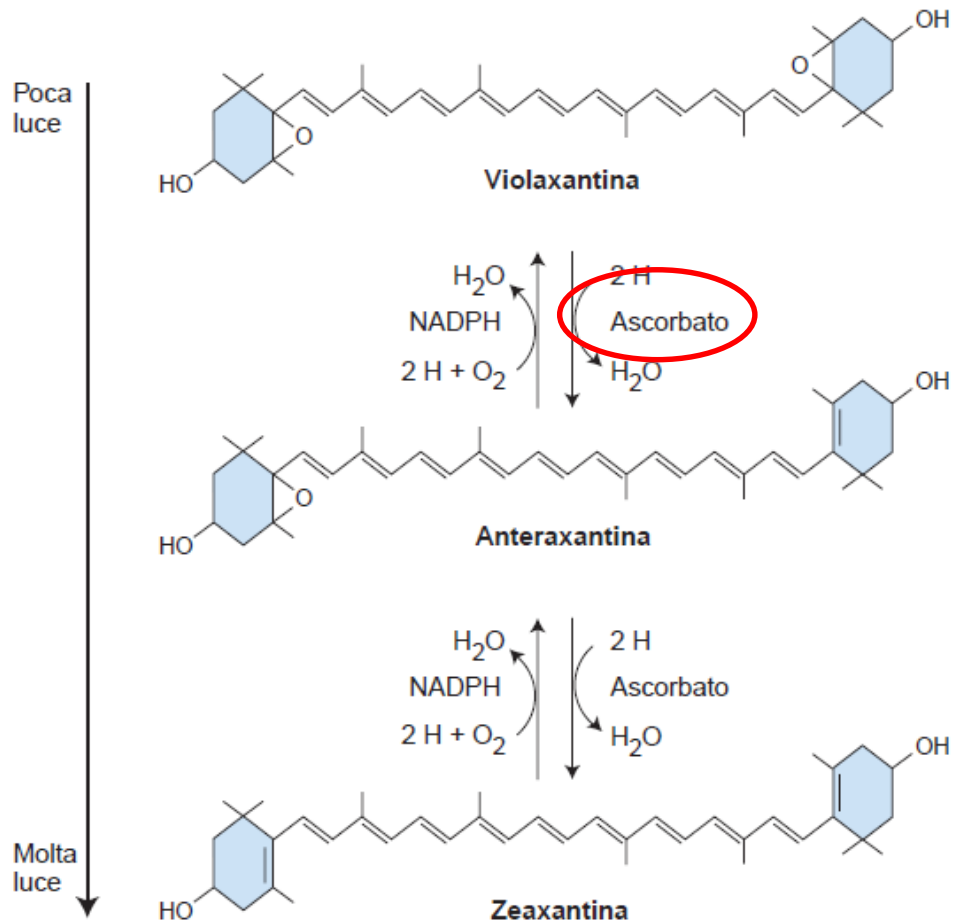
Quenching  
zeaxantina-dipendente (qZ):  
Ciclo delle xantofille



Quenching  
dell'energia radiante  
(qE)

Nota: anche il meccanismo delle transizioni di stato è spesso classificato come una tipologia di NPQ, ed è chiamato **qT**

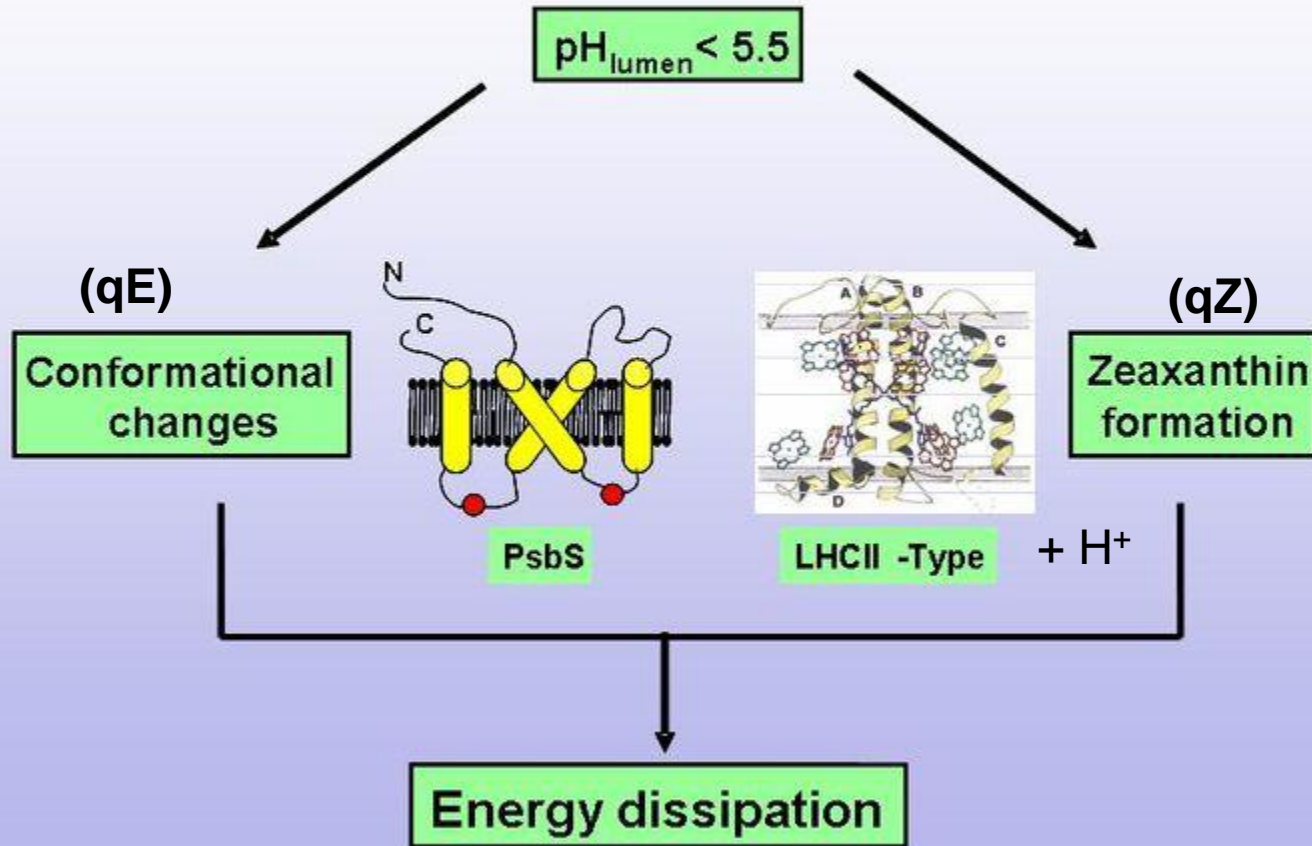
# Ciclo delle xantofille

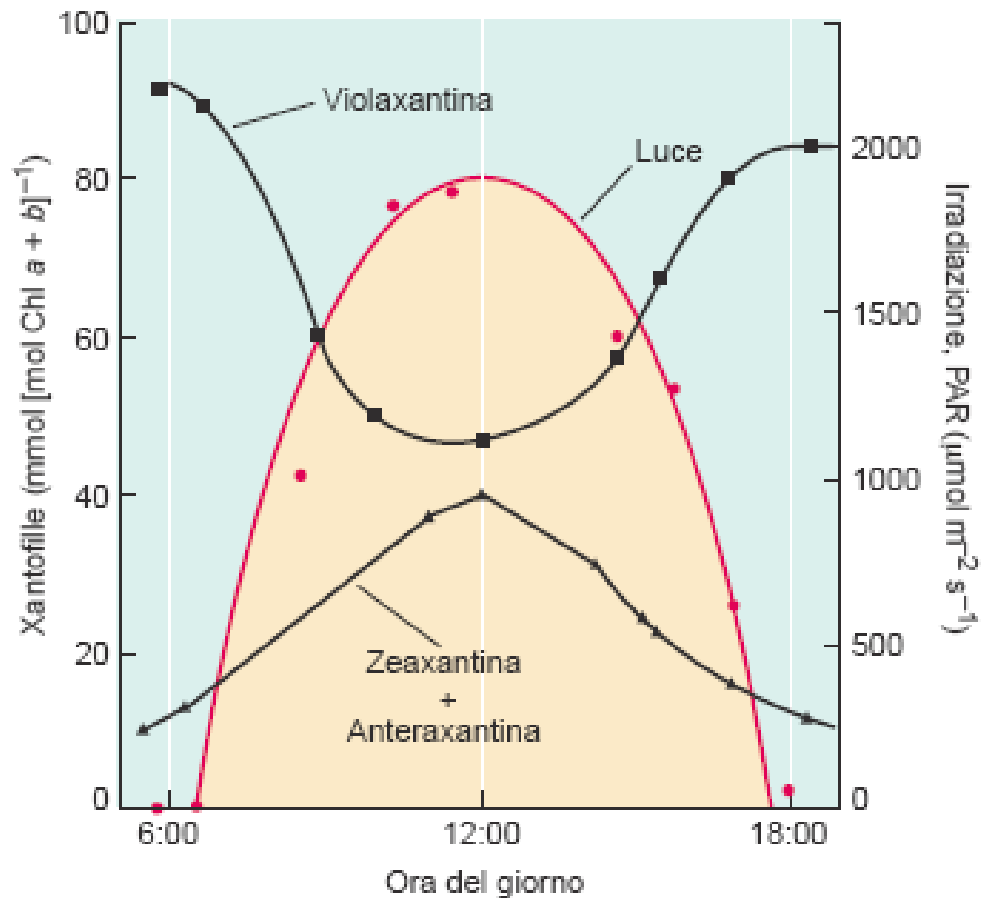


Reazioni di de-epossidazione

L'elevato stato di **estinzione del PSII** è associato alla zeaxantina

# The pH-regulated mechanism of energy dissipation





**Figura 9.13** Variazioni giornaliere nel girasole (*Helianthus annuus*) nella composizione delle xantofille come risposta a cambiamenti di luce. Come aumenta la quantità di luce che cade su una foglia, una proporzione crescente di violaxantina è convertita ad antheraxantina e zeaxantina, dissipando quindi l'eccesso di energia di eccitazione e proteggendo l'apparato fotosintetico. (Da Demmig-Adams e Adams 1996).