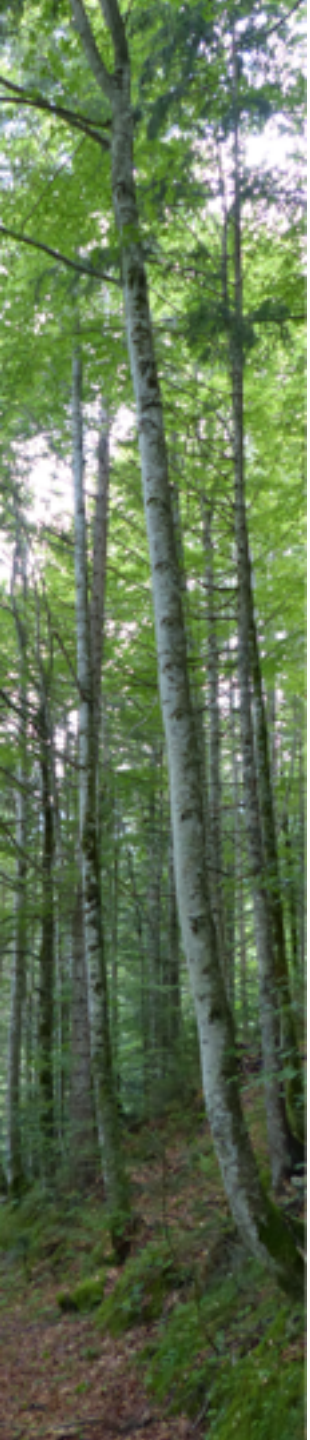


BIOLOGIA VEGETALE (00FA-2)

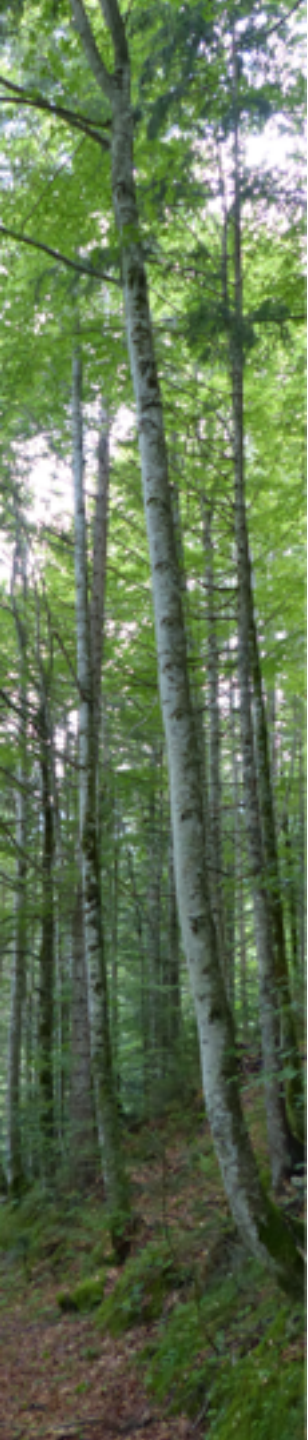




Differenze di composizione e proprietà delle due membrane plastidiali

Membrana esterna:

- relativamente permeabile;
- organizzazione relativamente semplice;
- composizione apparentemente simile a quella di altre membrane presenti nella cellula (es. sono presenti gli steroidi), ma in realtà con alcuni markers procariotici.

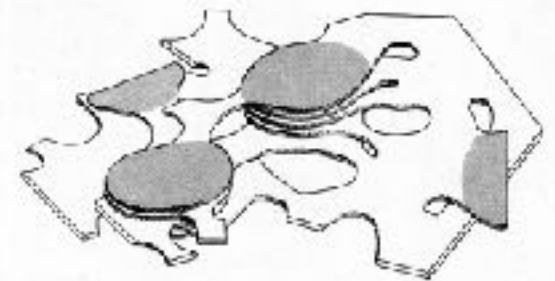
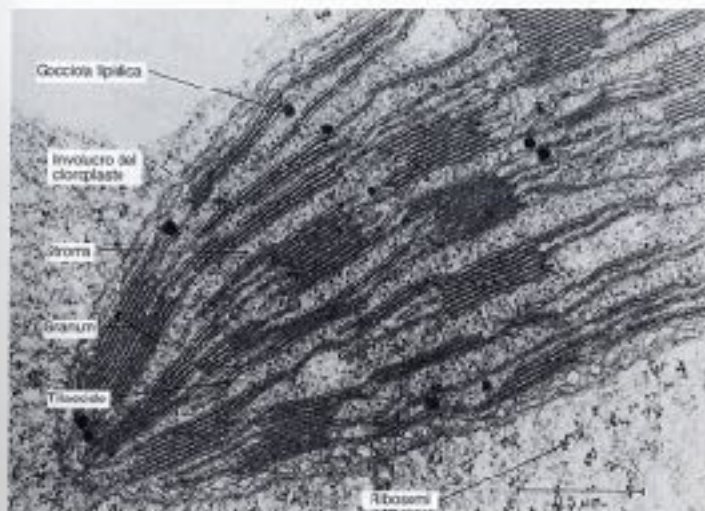
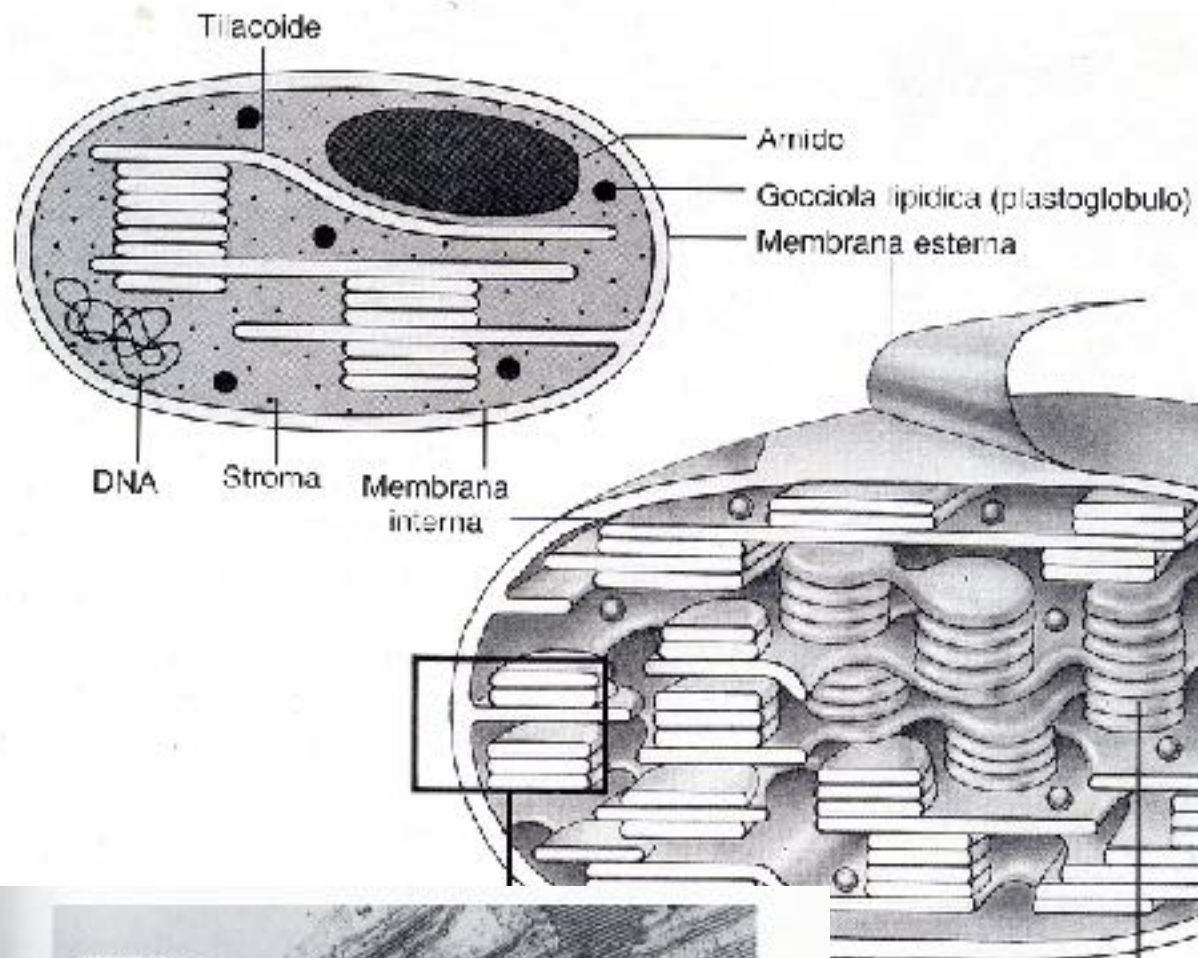
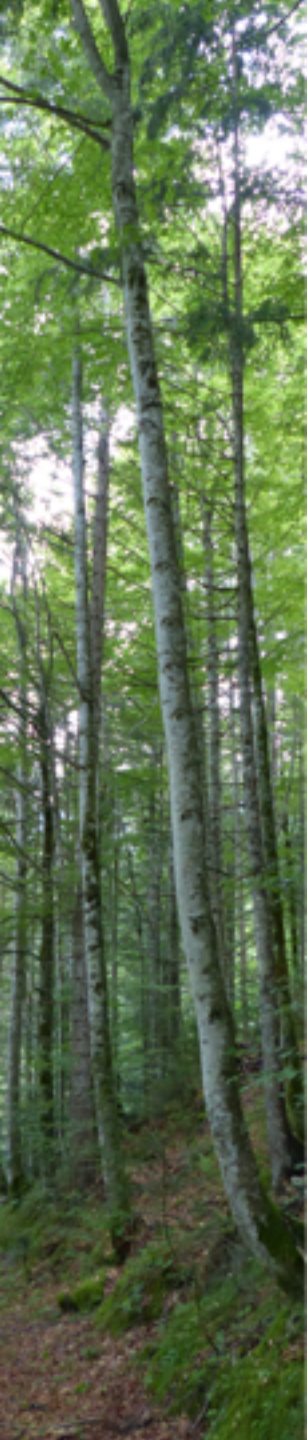


Differenze di composizione e proprietà delle due membrane plastidiali

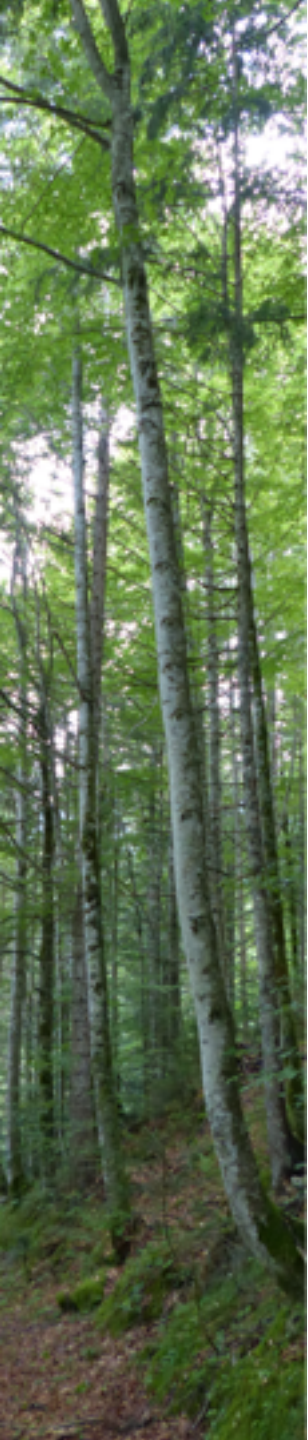
Membrana interna:

- barriera selettiva (ricco corredo di trasportatori selettivi);
- ricca in proteine (50%), sede di enzimi (es. sintesi fosfolipidica);
- composizione diversa da quella di altre membrane cellulari, simile alla membrana plasmatica degli EUBATTERI (e.g. presenza di cardiolipina diphosphate-glycerol phospholipid).

In alcuni taxa algali il cloroplasto risulta delimitato da membrane soprannumerarie, da 1 a 3 (numero finale di membrane = da 3 a 5!) ← endosimbiosi secondaria.



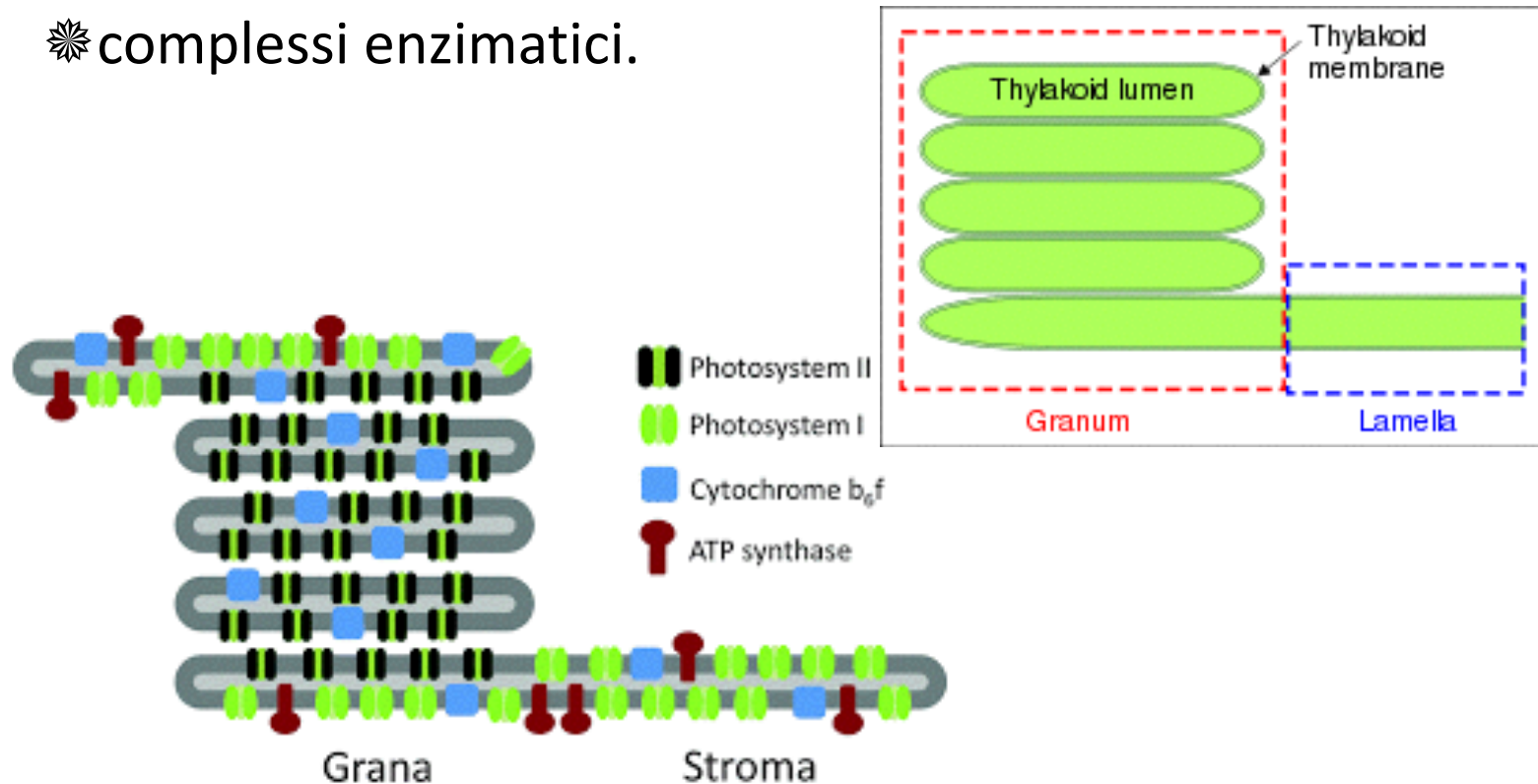
I tilacoide del grana e dello stroma non sono compartimenti separati, ma presentano invece un continuum spaziale con numerosi collegamenti di membrana (originate W. Wehrmeyer).

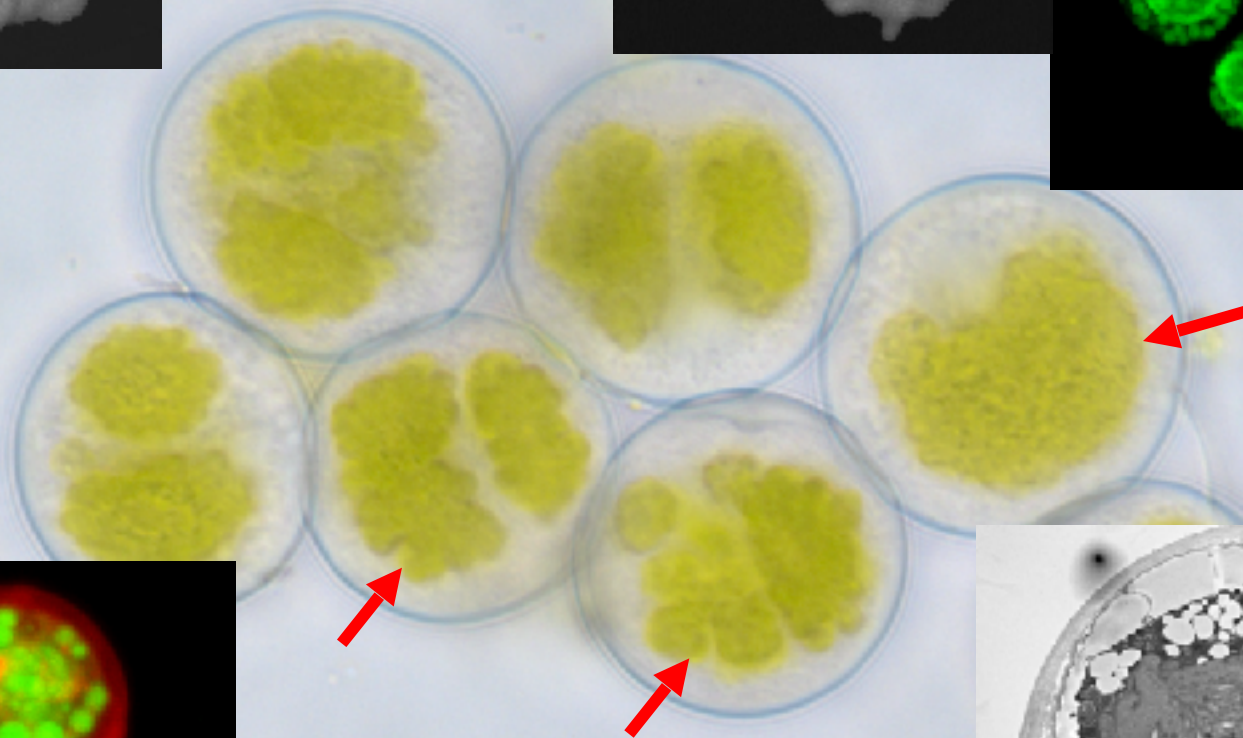
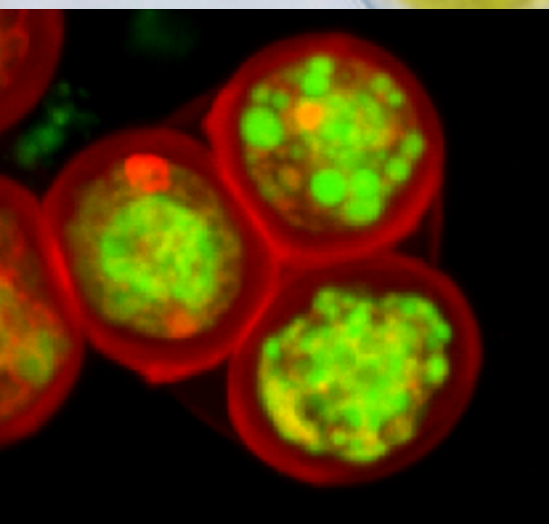
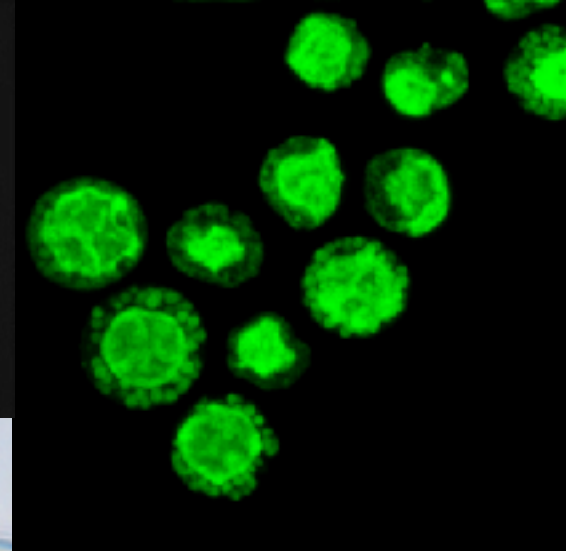
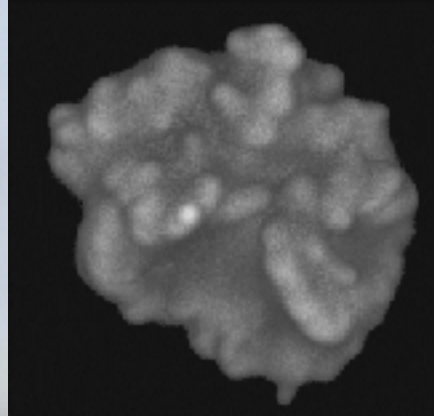
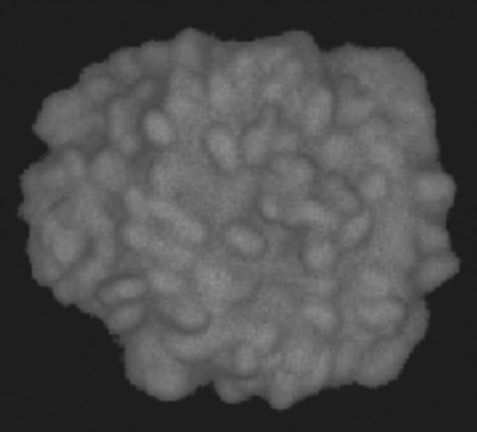


TILACOIDI: evaginazioni interne della membrana interna; delimitano il **lume tilacoidale**; particolarmente sviluppate in cloro- e cromoplasti, particolarmente ricche in:

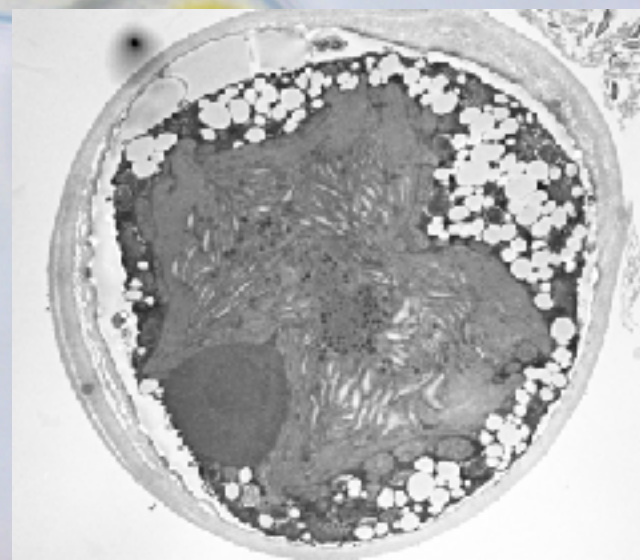
✱ pigmenti apolari (liposolubili);

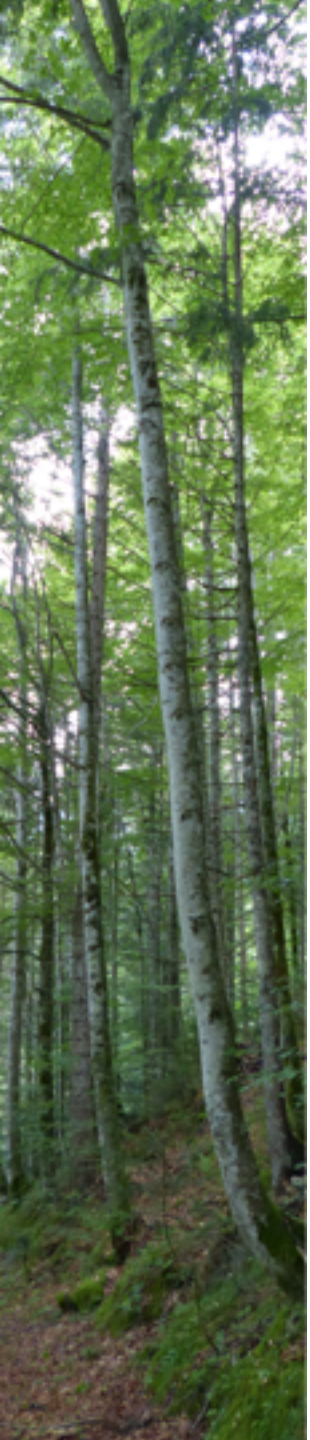
✱ complessi enzimatici.





CLOROPLASTI

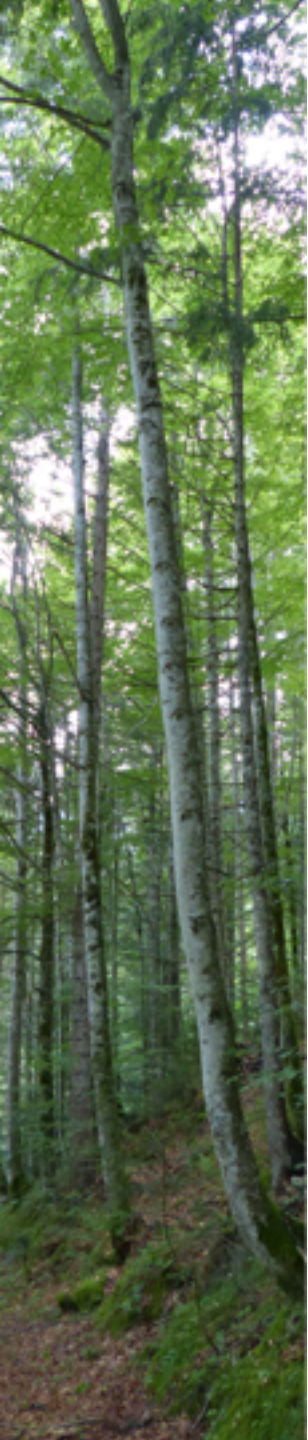
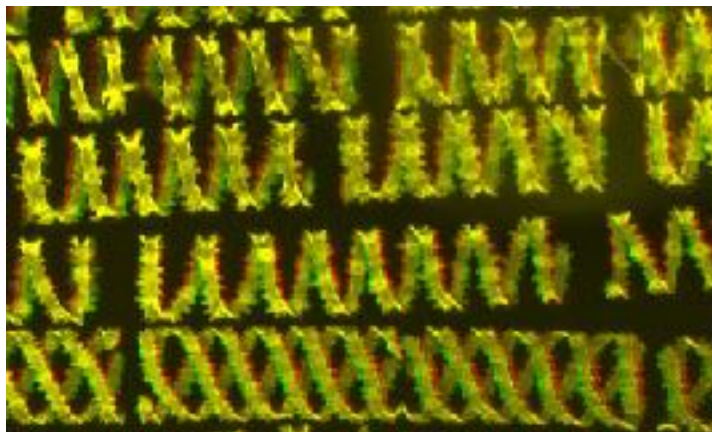
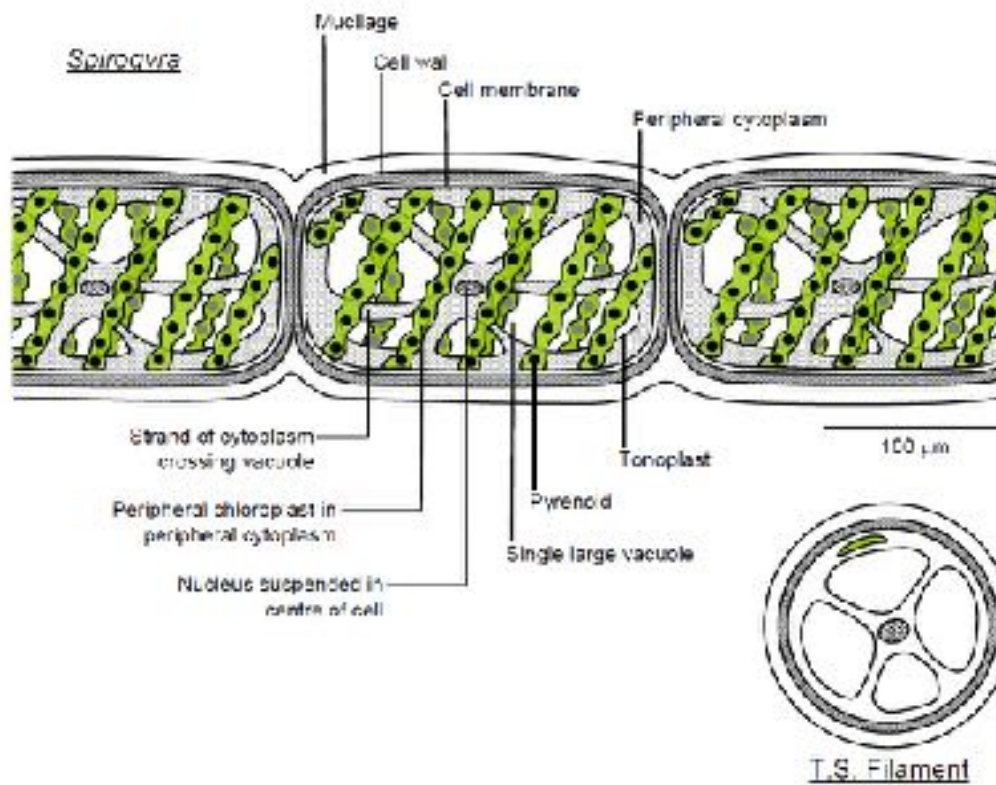


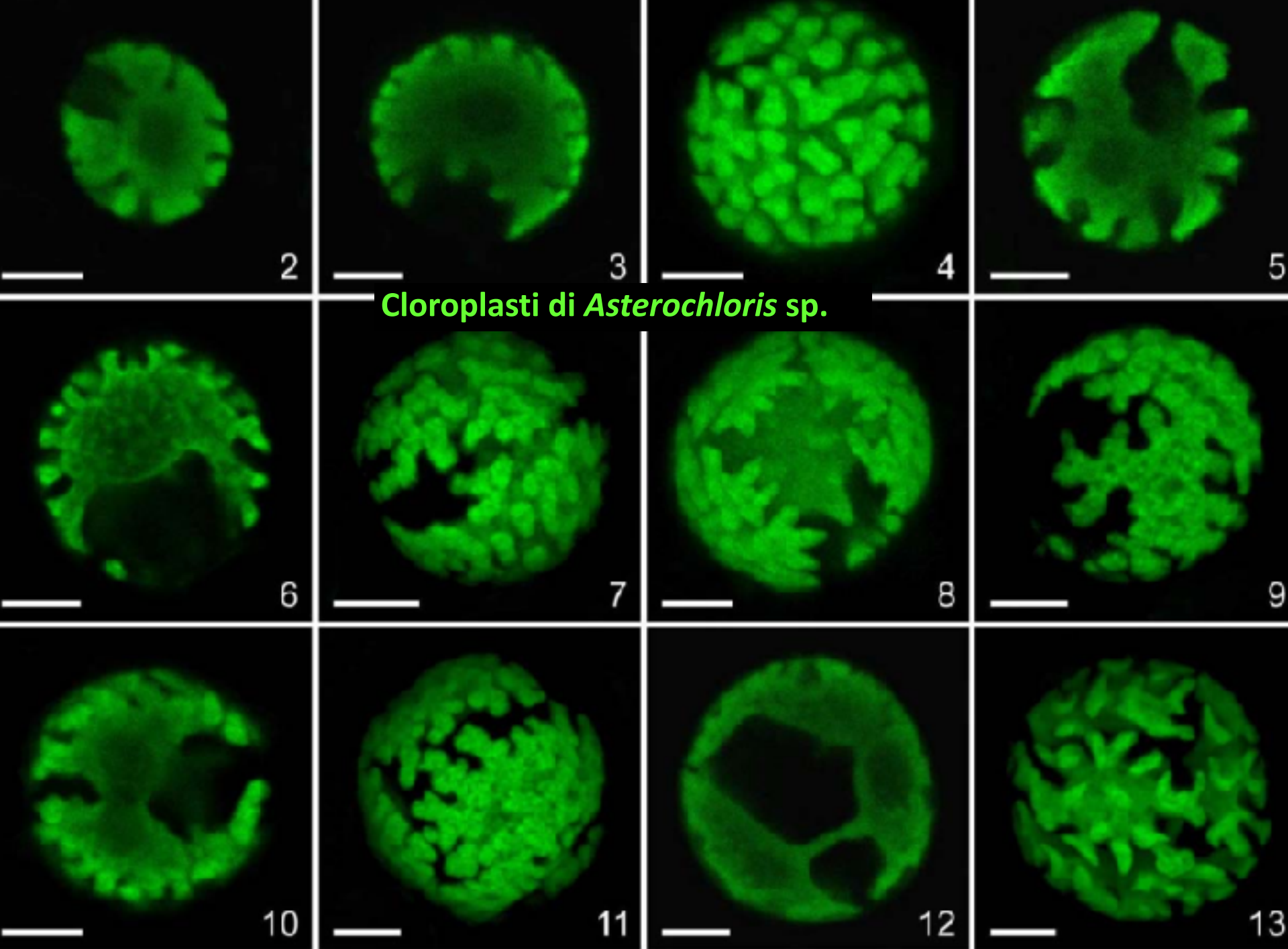


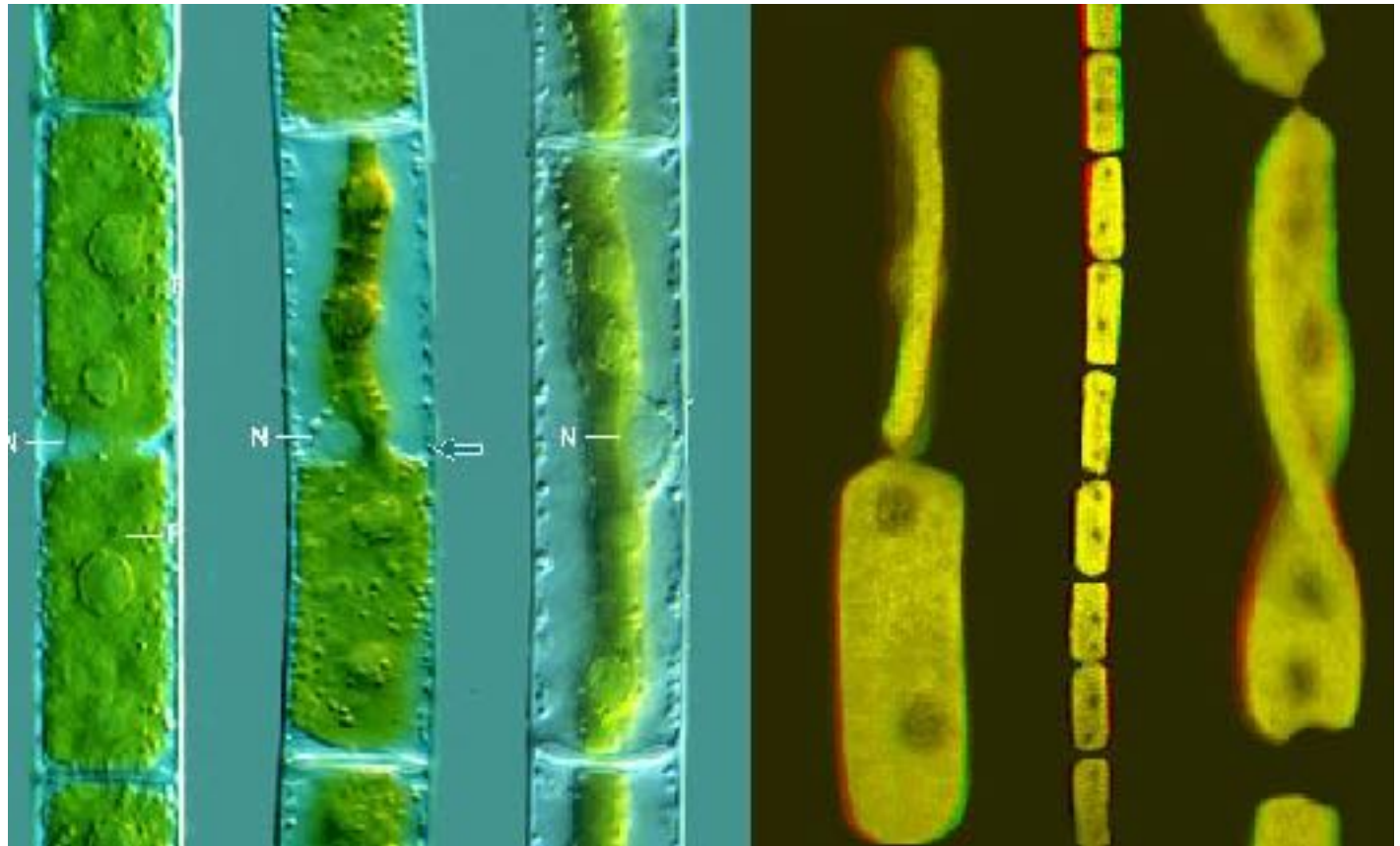
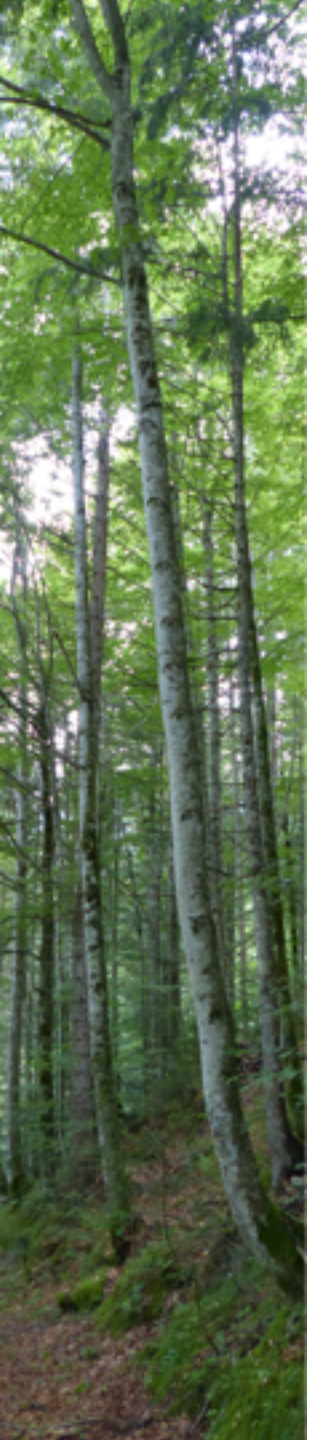
In **alghe** i cloroplasti si differenziano molto per morfologia ed ultrastruttura. In **alghe unicellulari**: frequente un unico cloroplasto di forma molto variabile spesso spettacolare.



Spirogyra sp.



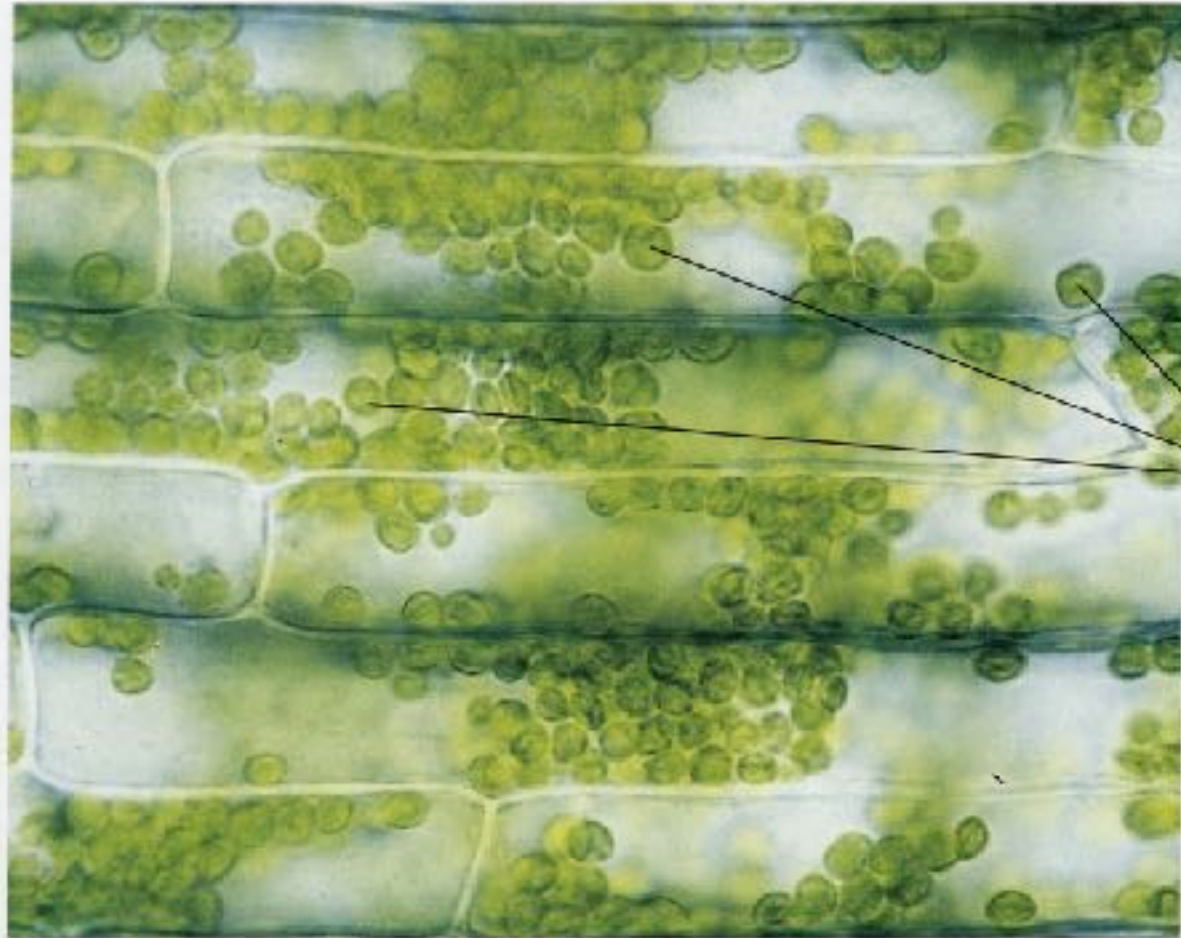




Mougeotia sp.

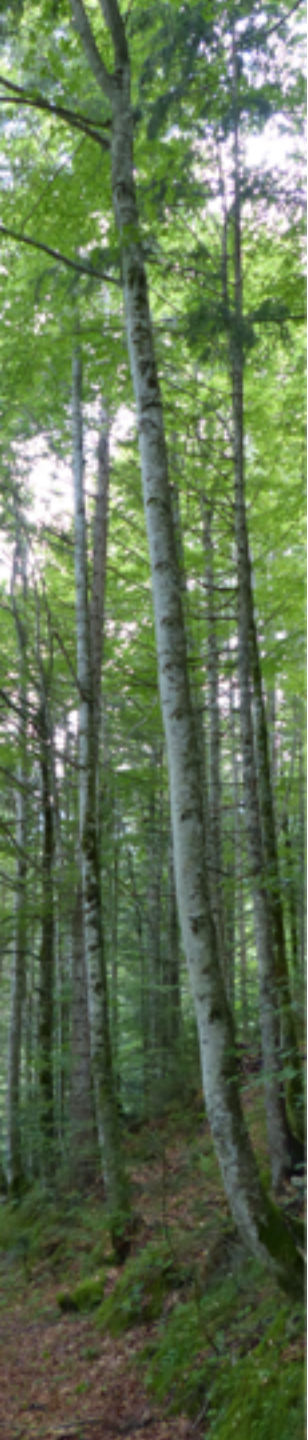
....non sempre verde! Possono avere altri colori per la prevalenza di altri “pigmenti fotosintetici accessori” coinvolti nel processo fotosintetico. Da qui la suddivisione delle alghe in gruppi tassonomici empirici: alghe rosse, brune, dorate, ecc.

Nelle Characeae (alghe verdi) e nei taxa derivati, comprese tutte le piante superiori, i cloroplasti sono più “banali”



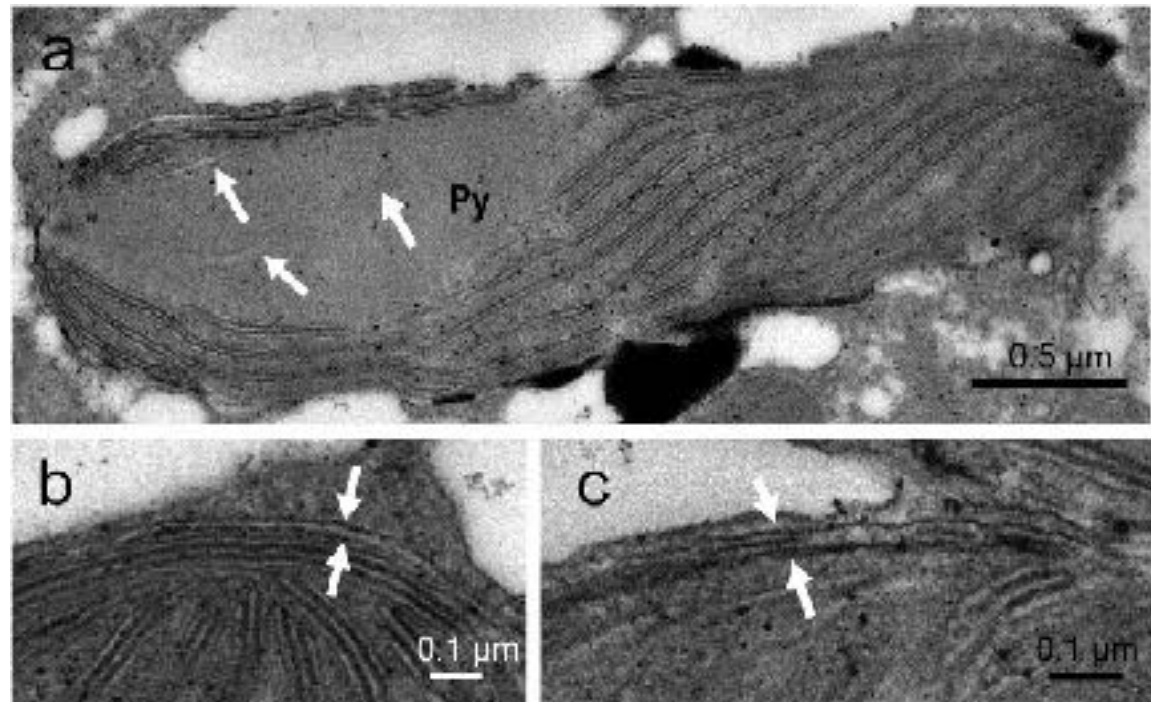
cloroplasti

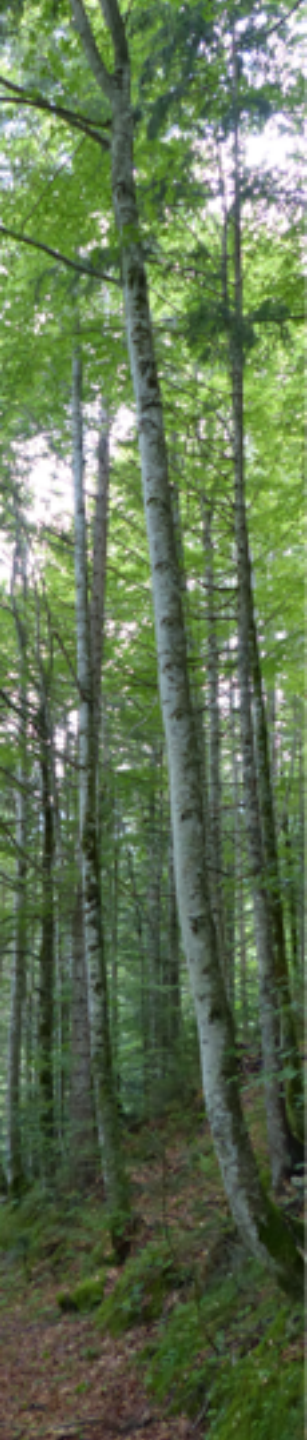
Cloroplasti nella foglia di peste d'acqua (*Elodea canadensis* Michx., fam. Hydrocharitaceae).
x 1000 (950)



Nei cloroplasti algali:

- tilacoidi isolati o paralleli (in alghe rosse) a decorrenza in gruppi da 2 a 4,
- tilacoidi granali di solito assenti
- possibile presenza di tilacoide circolare, parallelo alla membrana interna del cloroplasto, che racchiude tutti gli altri.
- **Pirenoide** (pyrenoid): area stromatica densa in cui si accumula l' enzima RUBISCO.

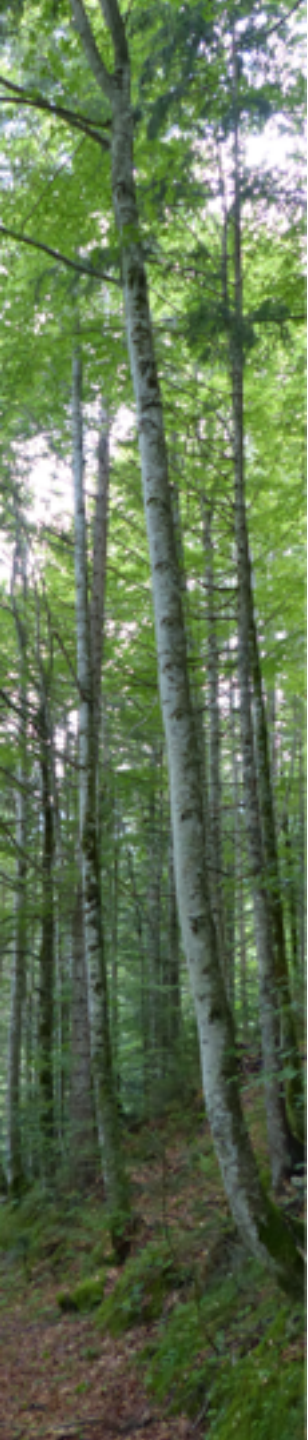




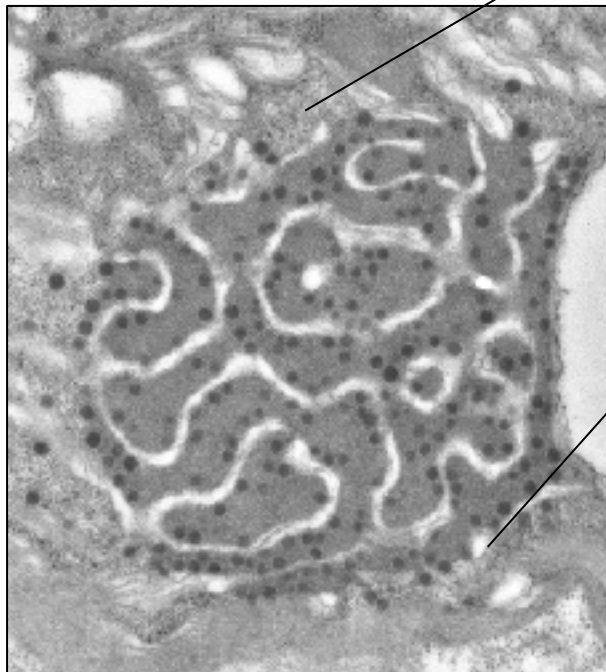
Trebouxia sp.

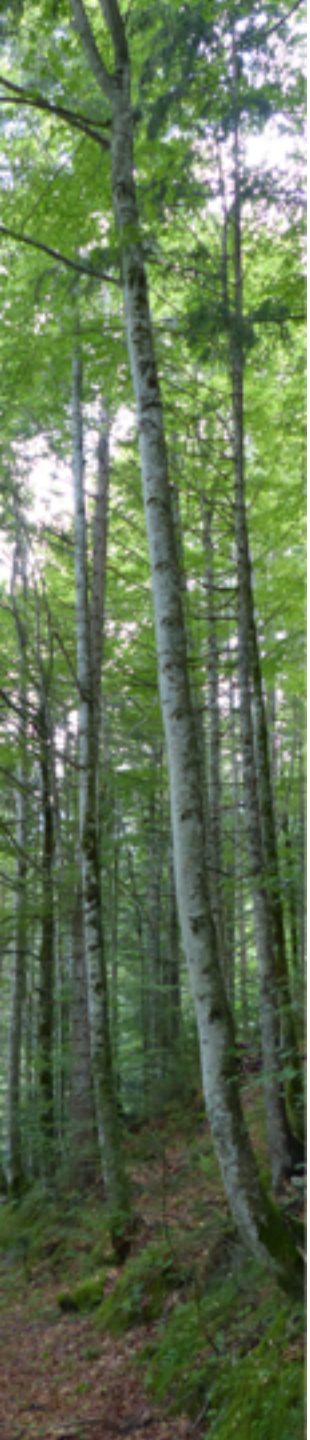


PIRENOIDE



PIRENOIDE: presenti anche in epatiche; associati al meccanismo di concentrazione della CO_2 presso l'aggregato enzimatico della rubisco.





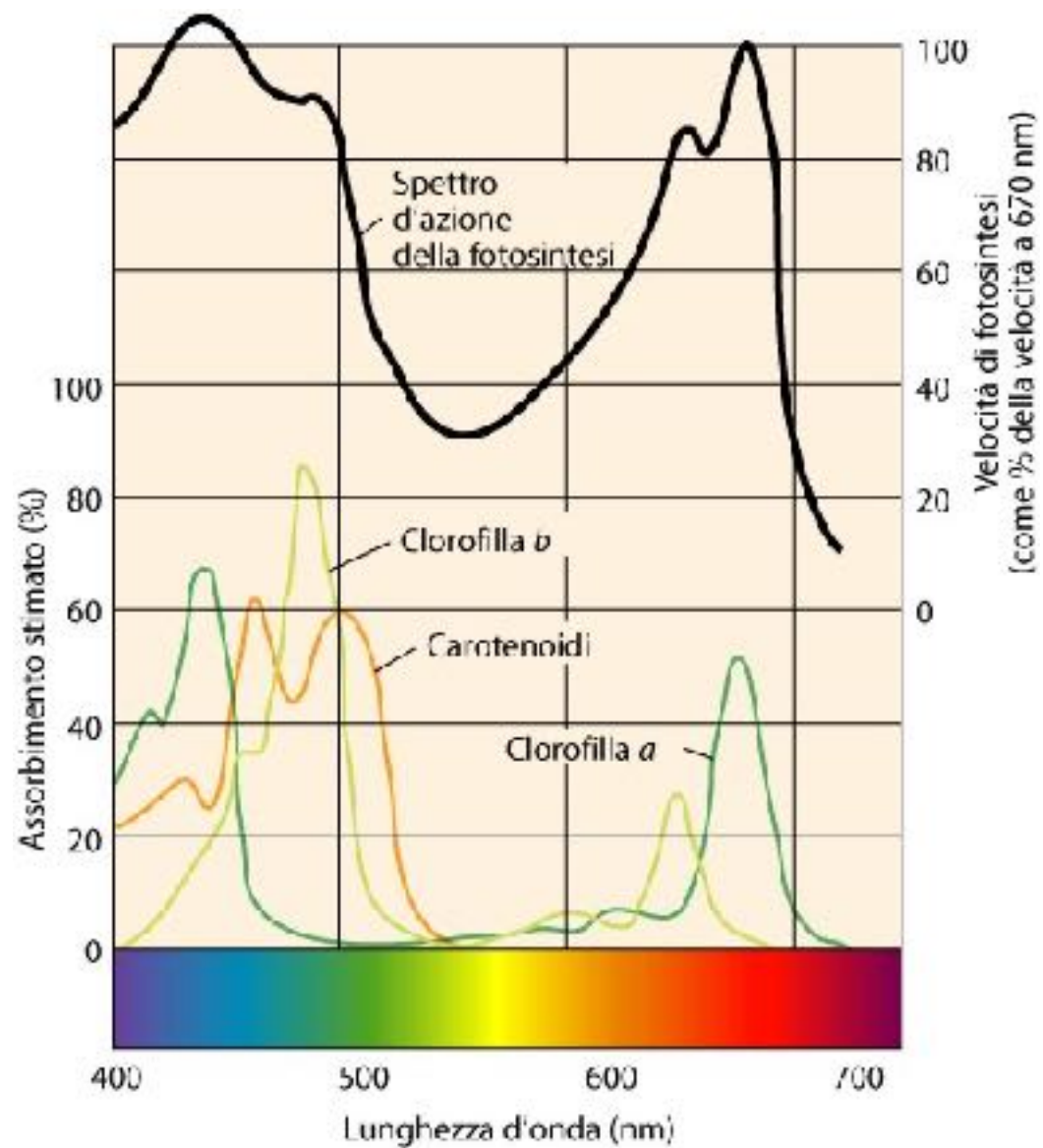
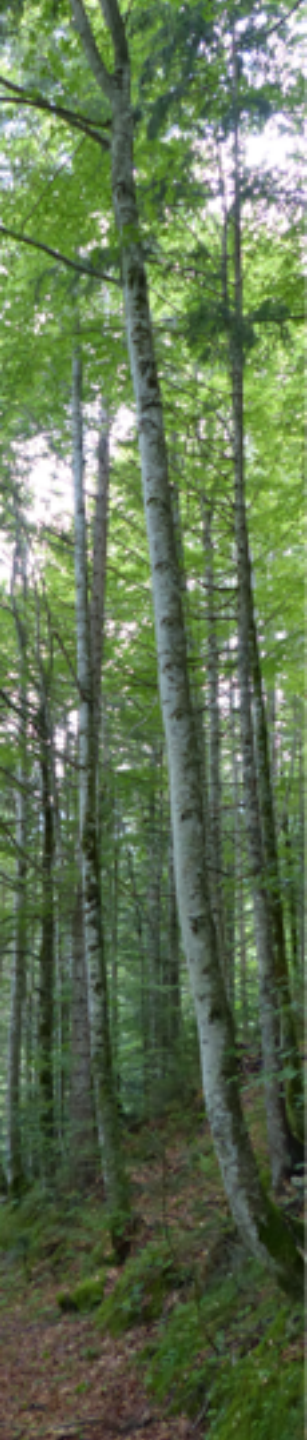
Pigmenti dei cloroplasti:

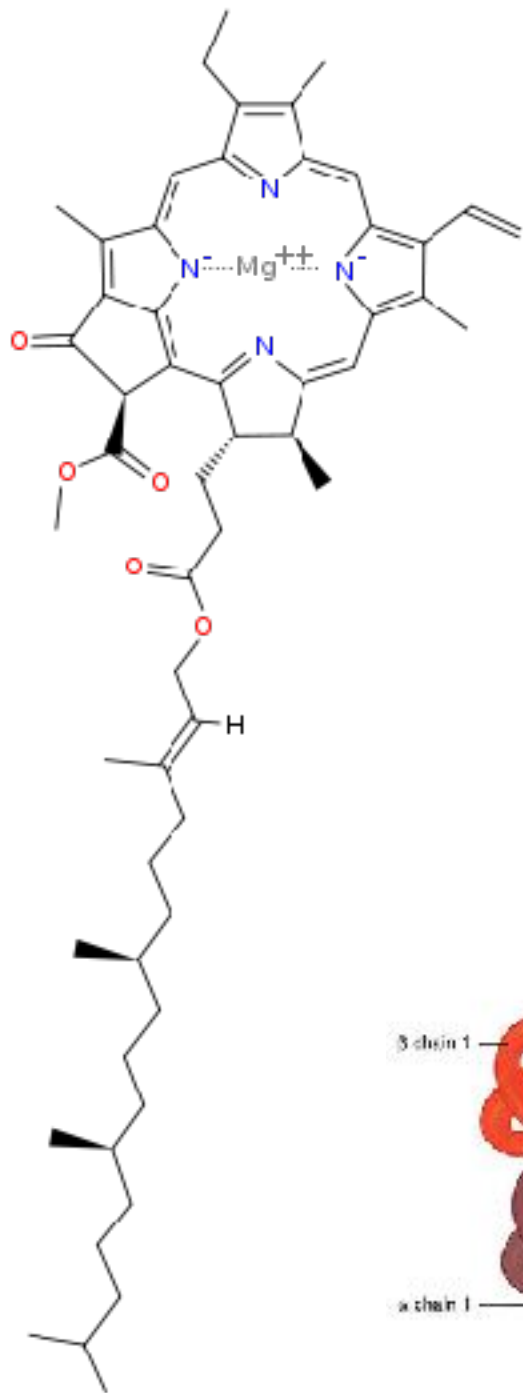
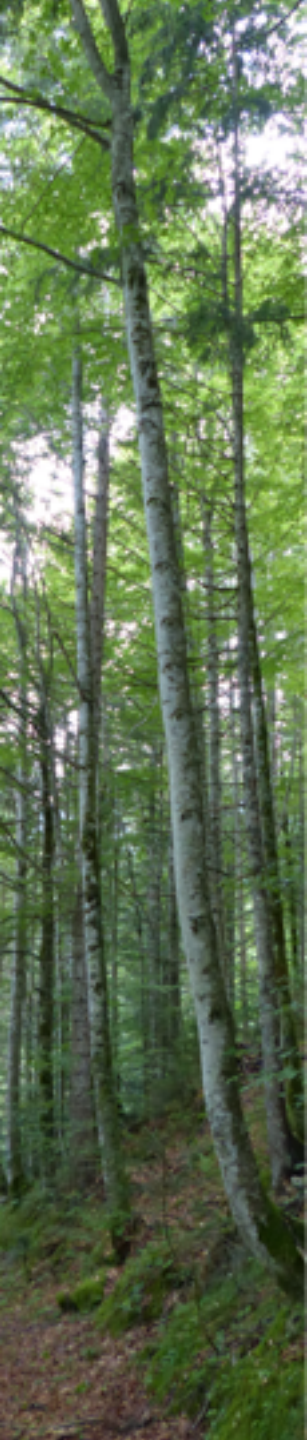
clorofilla a: sempre presente! così abbondante da mascherare la presenza di altri pigmenti eventualmente presenti.

clorofilla b: compare nelle alghe verdi per poi essere presente in tutte le piante “superiori”. Associata alla clorofilla a, simile nella struttura molecolare, ma con diverse proprietà.

carotenoidi, beta carotene (sempre presente)

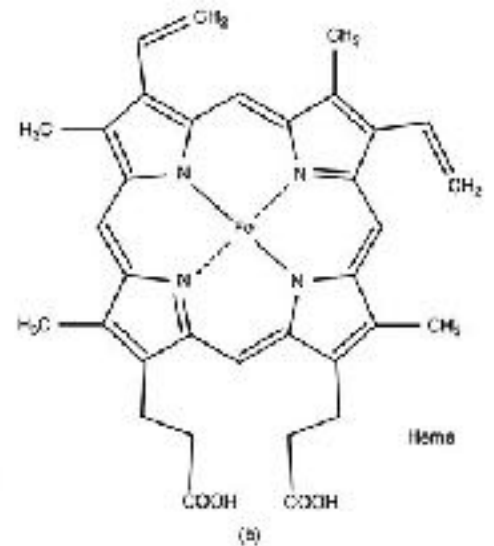
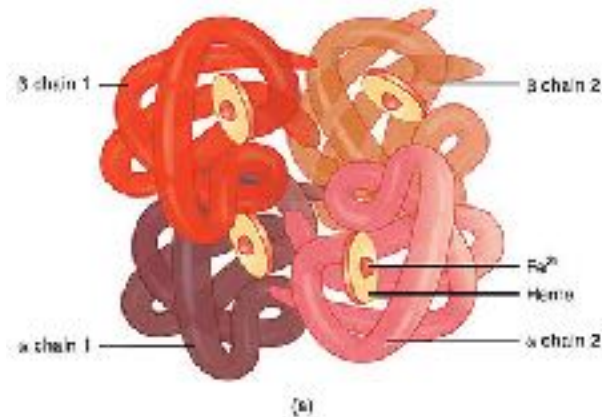
Xantofille: hanno la funzione di pigmenti antenna e di “fotoprotezione”.





clorofilla a: anello porfirinico,
catena idrofoba per
ancoraggio ai tilacoidi

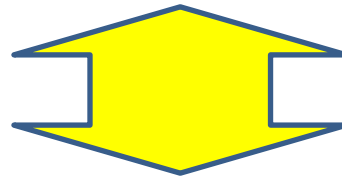
.... analogia con emoglobina negli
animali!



I cloroplasti sono la centrale chimica della cellula vegetale.

I test di biochimica danno quasi per scontato che le piante siano biochimicamente simili agli altri organismi, se si fa eccezione per l'organizzazione fotosintetica del carbonio.

Nel metabolismo vegetale molte attività, che sono citosoliche in altri organismi, negli organismi vegetali superiori si svolgono nei PLASTIDI: gran parte delle capacità biosintetiche di una cellula vegetale è localizzata nei plastidi, e nei cloroplasti in particolare.

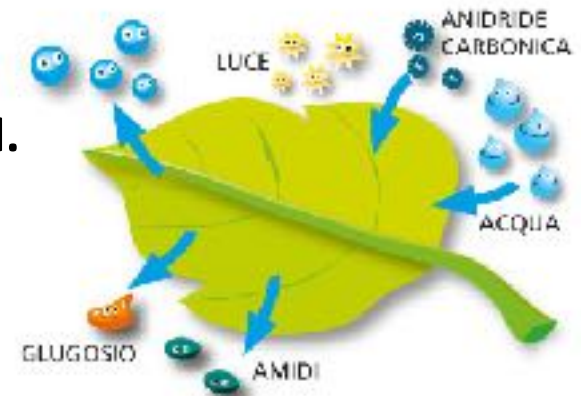


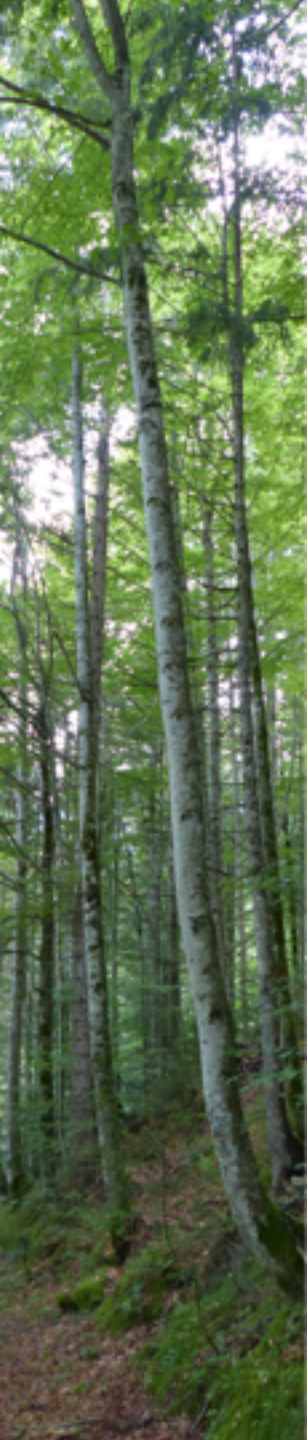
elevate concentrazioni di ATP e potere riducente a livello stromatico.

Attività metaboliche nei plastidi

- 1) sintesi degli acidi grassi;
- 2) riduzione e assimilazione primaria del nitrito nella neosintesi del glutamato;
- 3) riduzione e assimilazione del solfato nella neosintesi della cisteina;
- 4) biosintesi degli altri aminoacidi;
- 5) biogenesi dei pigmenti fotosintetici;
- 6) sintesi dell'amido primario;
- 7) parte delle reazioni della **FOTOSINTESI**.

Potere riducente





Nel cloroplasto:

- **Nello stroma:** DNA, ribosomi, prodotti, substrati... enzimi coinvolti in processi metabolici,

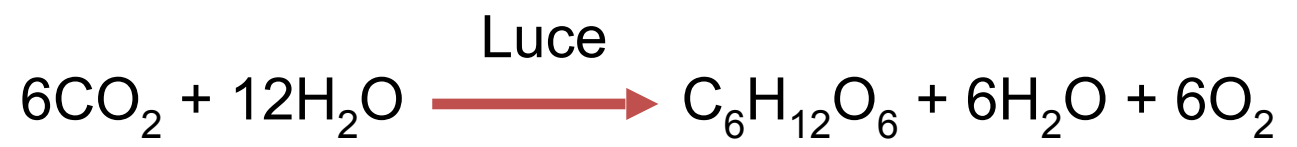
RUBISCO: Ribuloso 1,5 bifosfato carbossilasi-ossigenasi, enzima chiave della fissazione di CO_2 su substrato organico.

- **Sulle membrane:** pigmenti per assorbimento della luce, organizzati in **fotosistemi** (in unità funzionali), **catene ossidoriduttive** formate da molte molecole diverse per natura e struttura.

- **Nel lume tilacoidale:** altri enzimi, compreso il complesso responsabile della “rottura” della molecola dell’acqua (“fotolisi”).



FOTOSINTESI

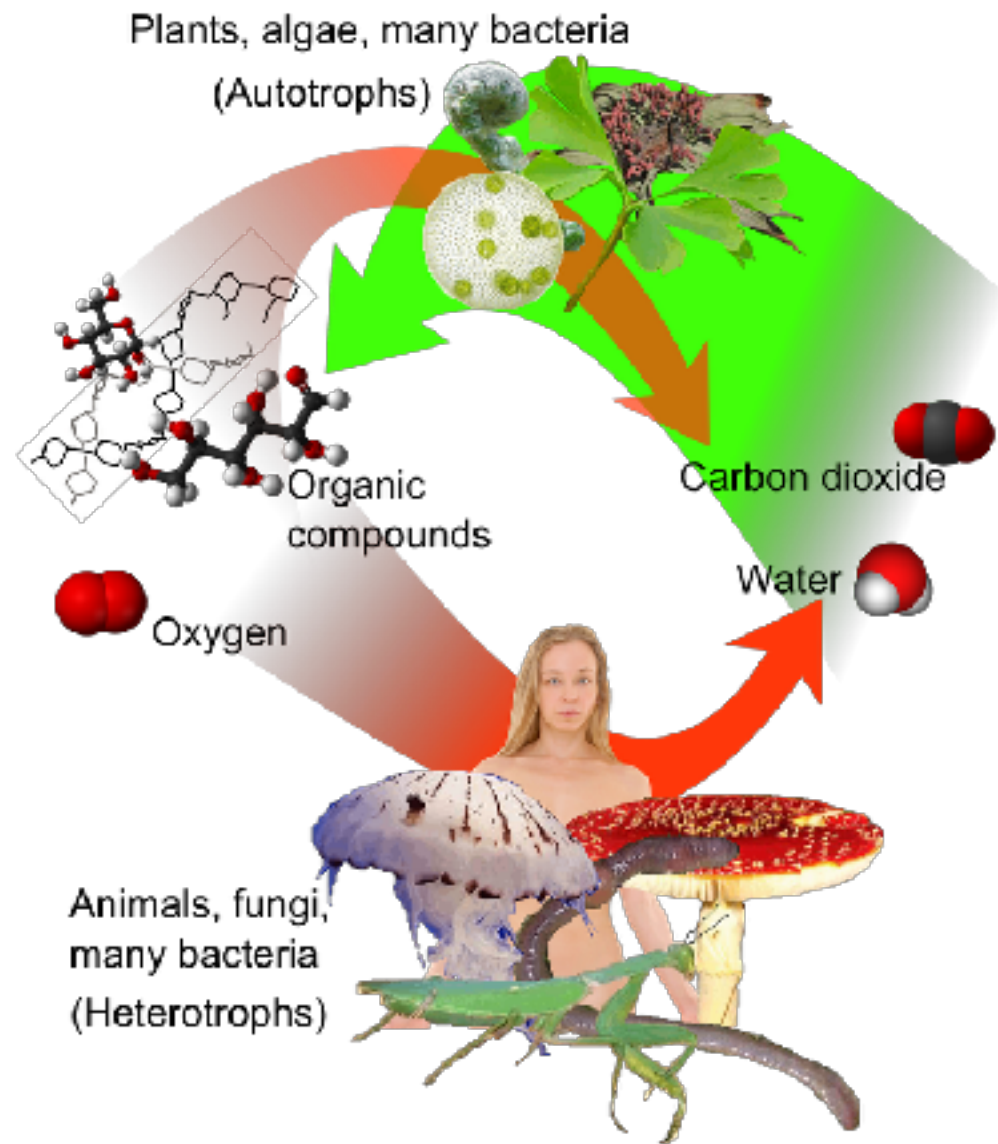




Gran parte della vita sulla Terra come la conosciamo oggi dipende dai prodotti delle reazioni della fotosintesi che fissano la CO_2 in composti organici. In molti casi, questo processo libera ossigeno molecolare come “rifiuto”.

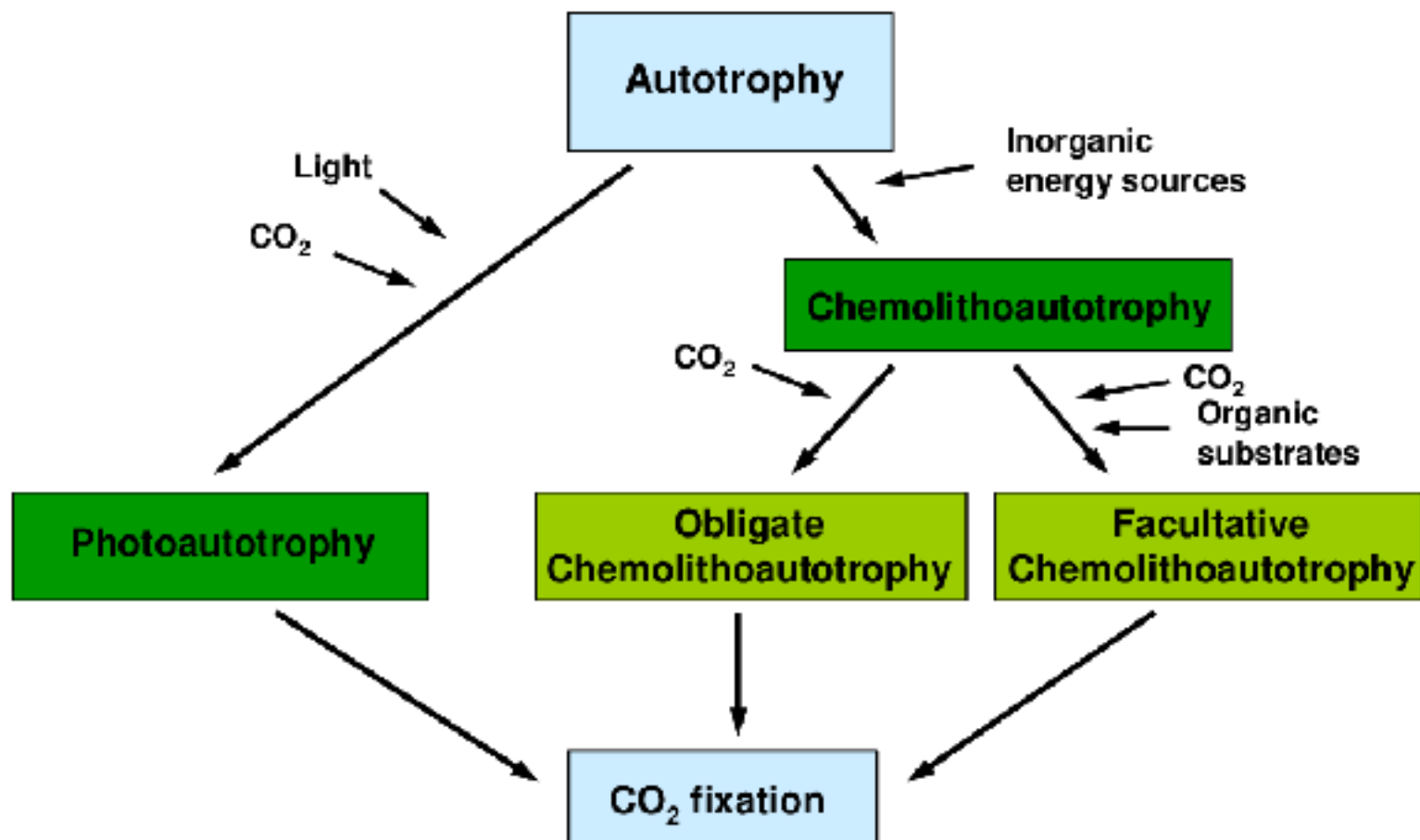
Si tratta di processo complesso, presente solo in alcuni gruppi di batteri, nelle alghe e nelle piante superiori.

L'evoluzione della fotosintesi è stata la causa della trasformazione dell'atmosfera primordiale della terra da ambiente riducente a ossidante.





Differenze tra autotrofi e eterotrofi		
	Autotrofi	Eterotrofi
Fonte di energia	Luce solare Composti inorganici ridotti	Carboidrati, proteine e grassi
Fonte del materiale da costruzione	Composti inorganici	Composti organici
Organismi	Piante Alghe Cianobatteri Batteri fotosintetizzanti	Animali Funghi Piante parassite La maggior parte dei batteri





CHEMOLITHOTROPHY

- **Chemolithotrophs** - These microbes obtain electrons for the electron transport chain from the oxidation of inorganic molecules rather than NADH generated by the oxidation of organic nutrients.
- The acceptor is usually O_2 , but sulfate and nitrate are also used.
- The most common electron donors are hydrogen, reduced nitrogen compounds, reduced sulfur compounds, and ferrous iron (Fe^{2+}).

Bacteria	Electron Donor	Electron Acceptor
<i>Alcaligenes</i> , <i>Hydrogenophaga</i> , and <i>Pseudomonas</i> spp.	H_2	O_2
<i>Nitrobacter</i>	NO_2^-	O_2
<i>Nitrosomonas</i>	NH_4^+	O_2
<i>Thiobacillus denitrificans</i>	S^0 , H_2S	NO_3^-
<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	Fe^{2+} , S^0 , H_2S	O_2

Si noti che le piante sono autotrofe solo dopo che sono emerse dal suolo. Nella fase precoce di sviluppo i germogli si nutrono del contenuto dei cotiledoni.





La fotosintesi è il principale processo biochimico che ci sia sulla terra.

Ogni anno gli organismi fotosintetizzanti trasformano in sostanze organiche più di **700 miliardi di tonnellate** di **anidride carbonica**.

Questo colossale processo chimico implica un trasferimento di energia dal Sole al sistema vivente. Una parte dell'energia del Sole rimane conservata sotto forma di energia di legame chimico nelle molecole organiche, in particolare grazie alla parziale **riduzione degli atomi di carbonio**.

Si può correttamente affermare che “*la fotosintesi trasforma energia luminosa in energia di legame chimico*”.



Chi fa la fotosintesi?

Organismi procarioti (batteri e cianobatteri)

Organismi eucarioti (alghe verdi, piante)



Amoebobacter purpureus,
batterio purpureo
fotosintetico, che usa come
donatore di elettroni
composti sulfurei, e non
acqua.

Nostoc cf. pruniforme, colonie
sferiche, che possono arrivare
a 15 centimetri e oltre 2 chili
di peso. Cianobatterio, capace
di fotosintesi ossigenica, e di
fissare l'azoto atmosferico
(molecolare).



Alghe verdi

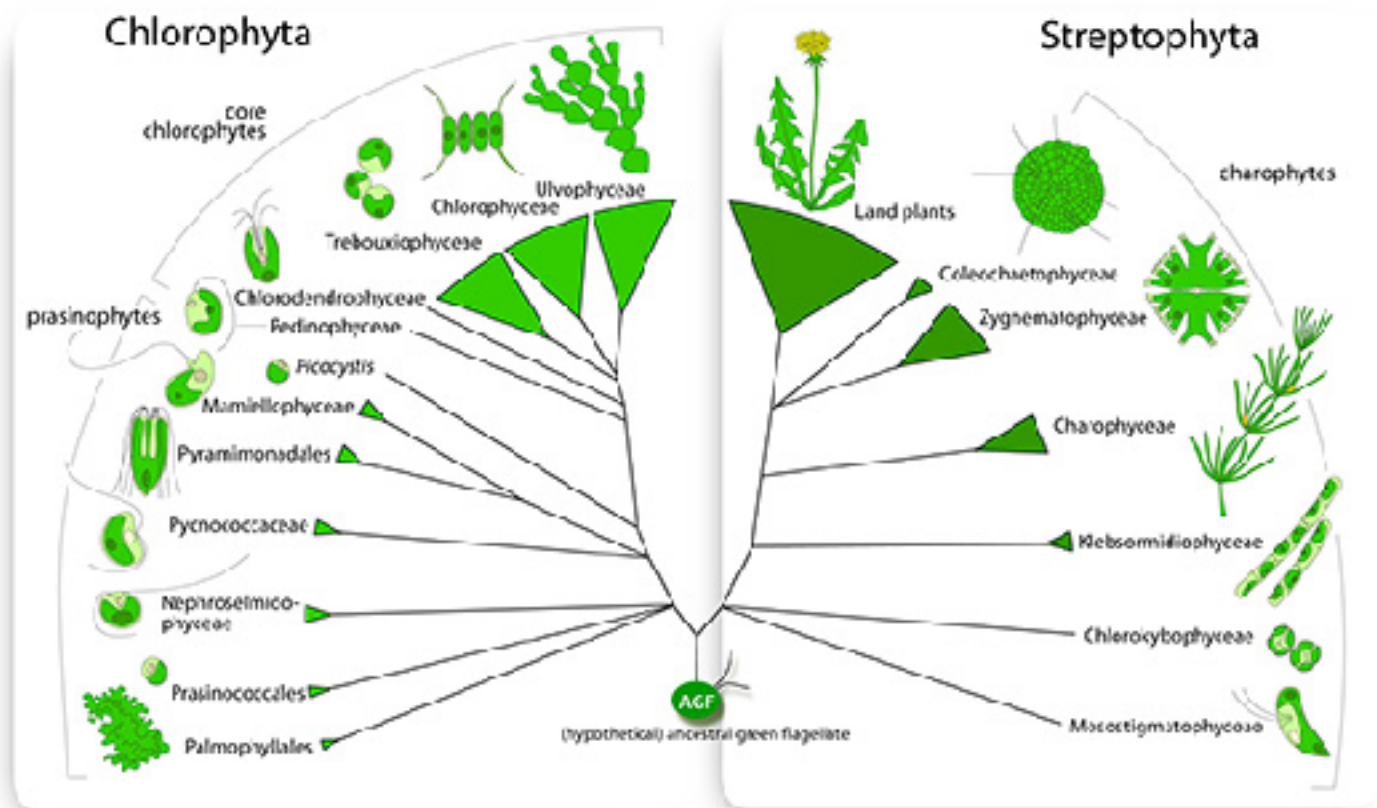


Ulva lactuca, insalata di mare
Classe Ulvophyceae
Ordine Ulvales
Famiglia Ulvaceae



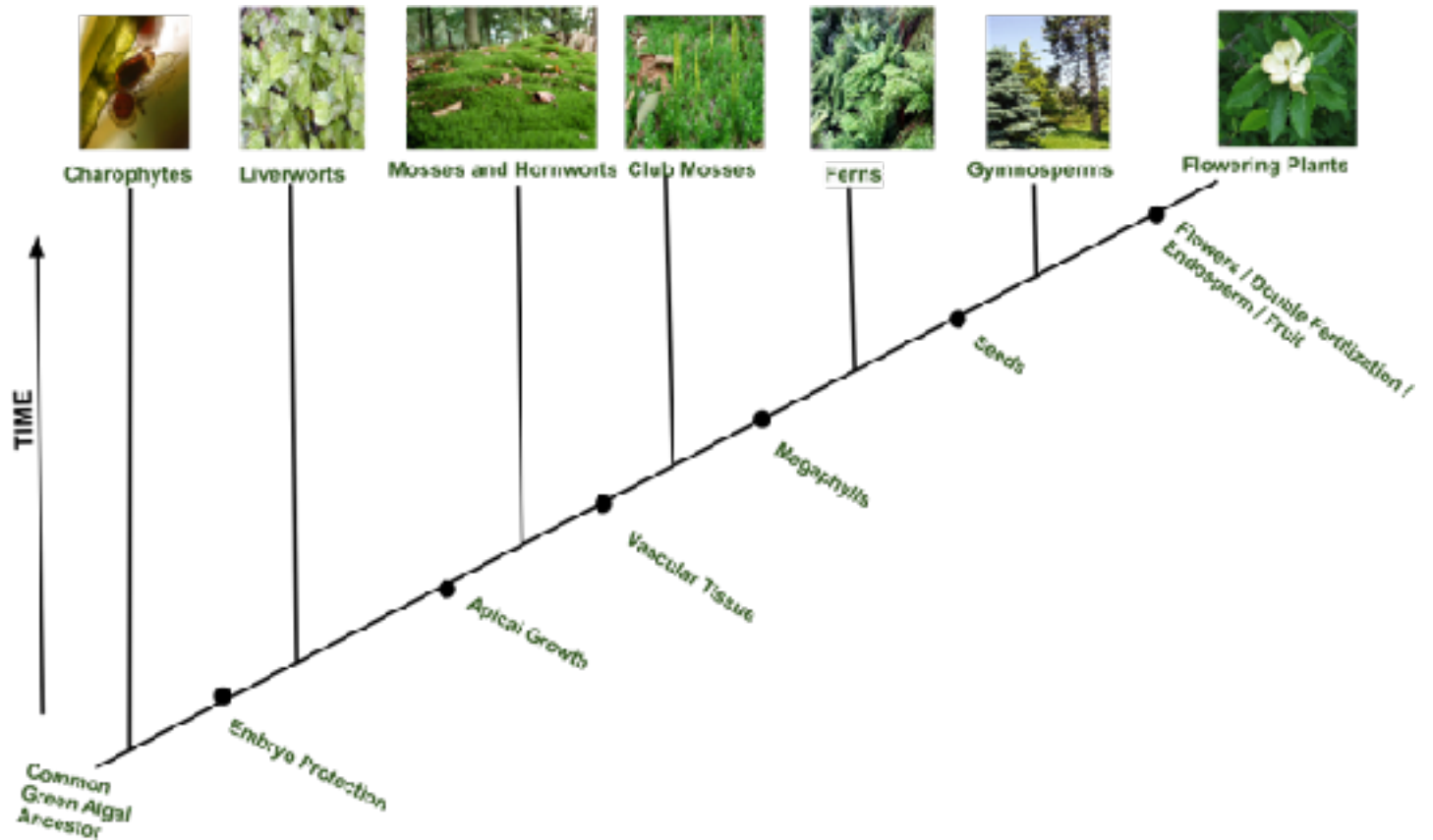
Chara vulgaris
Classe Charophyceae
Ordine Charales
Famiglia Characeae





Modified from Leliaert et al., Crit. Rev. Plant Sci. 31:1-46 (2012)
updated 25 Oct 2013

Quelle che noi chiamiamo “alghes verdi” sono un gruppo parafiletico, alla cui base sta un ipotetico antenato verde flagellato.



Albero filogenetico delle piante, con i principali eventi evolutivi

Piante

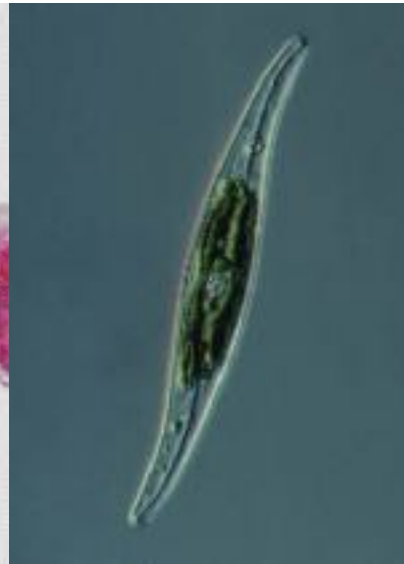
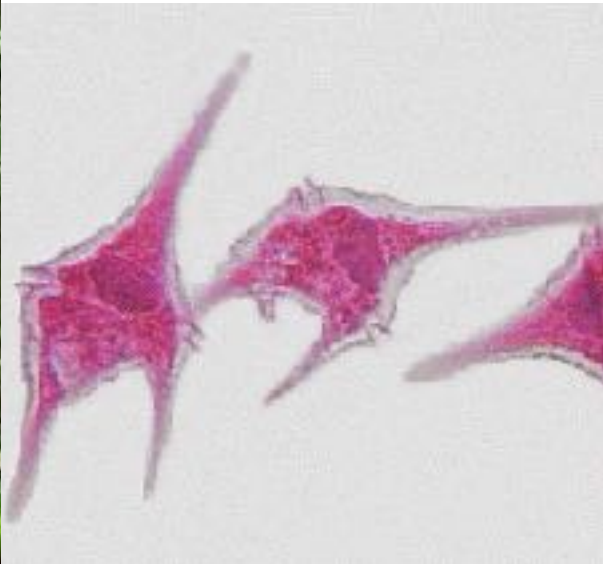


Centaurea kartschiana
Famiglia Asteraceae



Quercus ilex
Famiglia Fagaceae

Si stima che circa il 40% dell'attività fotosintetica totale sia dovuto ai microscopici organismi del plancton (cianobatteri, diatomee, dinoficee, ecc.) che galleggiano sulla superficie dei mari (che occupano il 71% della superficie totale del pianeta).



... ovviamente il restante 60% è dovuto alle piante, in particolare quelle vascolari, che colonizzano le terre emerse (cioè il 29% della superficie totale del pianeta).





Aristotele, e gli altri studiosi greci, osservando che i processi vitali degli animali dipendevano dalle disponibilità di cibo, pensavano che le piante traessero il loro nutrimento dal terreno.



Aristotele riteneva che le piante fossero un po' il rovescio degli animali. Esse, invece che tenere la testa in alto, affondano la loro bocca (le radici) nel suolo, da cui ricavano il nutrimento.





Questa visione venne posta in dubbio dall'evidenza che le piante avevano anche bisogno di acqua.

All'inizio si pensò che l'acqua fosse solo un mezzo di trasporto per veicolare i nutrienti dal terreno alle piante, ovvero che l'acqua avesse solo un ruolo passivo.

Con un semplice ma efficace esperimento, circa 400 anni fa, in uno dei primi esperimenti biologici accuratamente documentati, il medico belga **Jean Baptiste van HELMONT** (ca. 1577-1644), offrì la prima prova sperimentale che il terreno da solo non bastava a nutrire una pianta.

Egli è noto anche per essere colui che inventò la ricetta per generare i topi....

Recipe for Mice by Dr. Jan Baptista von Helmont



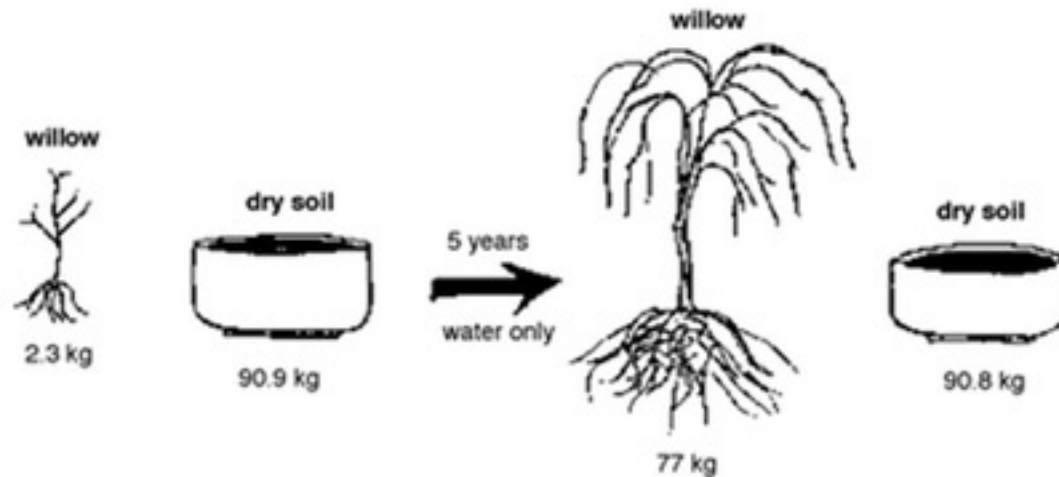


....ma nel caso delle piante il suo esperimento fu semplice e geniale allo stesso tempo.

Egli prese una piantina di salice (5 libbre) e la piantò in un vaso contenente terra (200 libbre).

Dopo 5 anni, la piantina era diventata un alberello di 169 libbre, mentre il peso del terreno era rimasto pressoché invariato.

Van Helmont's Experiment





J.B. van HELMONT

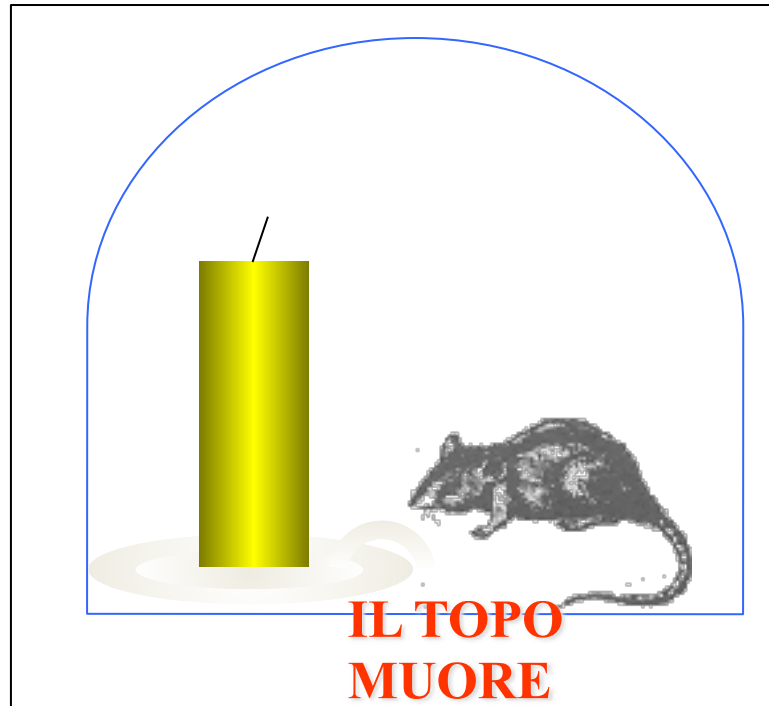
Sulla base di questi risultati **Van Helmont** giungeva alla conclusione che il corpo della pianta non era stato costruito a spese del terreno (vero!), falsificando per la prima volta l'ipotesi di Aristotele su base sperimentale.

Purtroppo ipotizzò anche (**falso!**) che la materia derivasse dall'acqua piovana somministrata alla pianta nei cinque anni.

Non lo sfiorò l'idea che ad essere coinvolto fosse un costituente dell'aria, cosa del resto logica perché a quei tempi le conoscenze su cosa fosse l'aria erano molto primitive.



Verso la fine del diciottesimo secolo era opinione comune che un oggetto che brucia libera nell'ambiente una sostanza, il "**flogisto**". L'aria è necessaria per la combustione perché diluisce questo flogisto. In un ambiente chiuso, se l'aria si satura di flogisto, la combustione non può continuare. L'aria che non permette la combustione, cioè "ricca di flogisto", non permette neanche la vita animale.



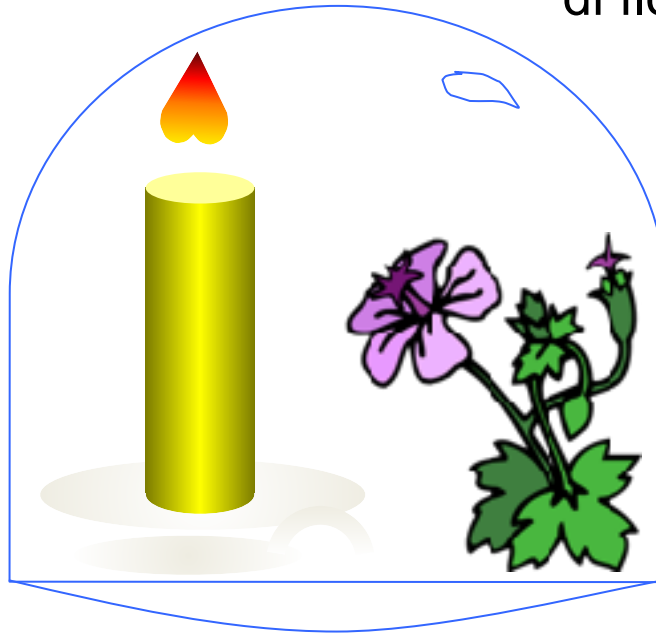
A quel tempo i fenomeni di combustione venivano interpretati con la teoria del flogisto (da un termine greco che significa “arso”). Essa era stata formulata intorno al 1700 dal chimico tedesco Georg Ernest Stahl (1660-1734) e prevedeva che tutti i corpi soggetti a mutare mediante ignizione fossero ricchi di flogisto, una sostanza misteriosa che conferiva loro vita ed energia ma che si allontanava quando bruciavano mentre ciò che rimaneva era privo di flogisto e quindi non bruciava più: il flogisto ad esempio era presente nel legno ma non nella cenere.





J. PRIESTLEY

Nel 1774 un sacerdote inglese, **Joseph Priestley** (1733-1804), riporta di aver scoperto per caso un metodo per rigenerare l'aria trasformata precedentemente dalla fiamma di una candela. Il 17 agosto 1771 Priestley "mise un rametto di menta (*sic!*) in un ambiente in cui aveva precedentemente bruciato una candela, avendo così riempito l'aria di flogisto".

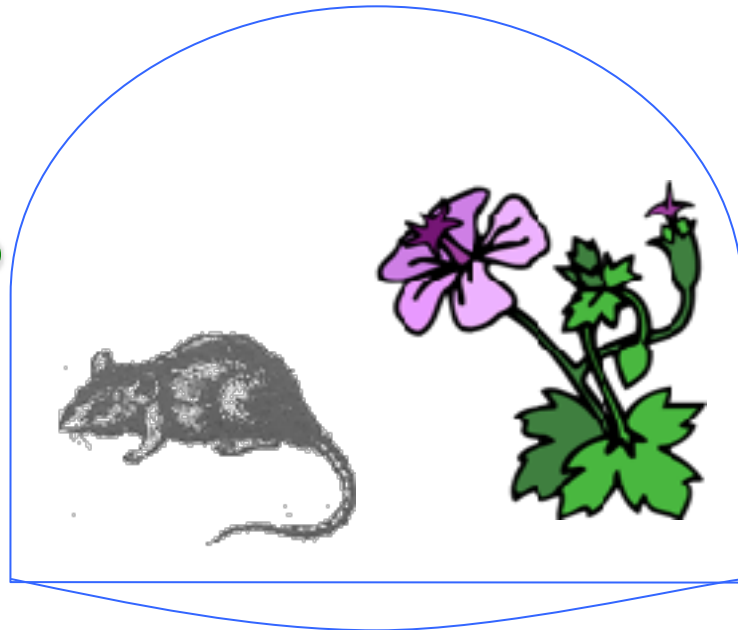


Il 27 dello stesso mese Priestley constatava che in quella stessa aria poteva bruciare un'altra candela.

Su questa base **PRIESTLEY** concludeva che: "**la natura utilizza le piante per la rigenerazione dell'aria**".

Priestley, in seguito descrittore della CO_2 , dell' O_2 , dell'ammoniaca e dell'ossido di azoto, ampliò le sue osservazioni constatando che l'aria, rigenerata dalle piante, permetteva la vita di un topo.

**IL TOPO
VIVE**





Gli esperimenti di Priestley gli portarono molti onori, culminati nella consegna di una medaglia d'oro della Royal Society di Londra, che portava inciso: "*per le scoperte che ci hanno permesso di capire che nessuna pianta cresce invano [!!!] ma ripulisce e purifica l'atmosfera*".

Oggi possiamo spiegare gli esperimenti di Priestley dicendo semplicemente che le piante assorbono la CO_2 prodotta dalla combustione e dalla respirazione e liberano ossigeno, che viene consumato dalla combustione e dai processi respiratori (di tutti gli organismi! piante comprese).



Fu il chimico francese Antoine Laurent Lavoisier (1743-1794) a demolire, nel 1775, la teoria flogistica dimostrando che la combustione di una sostanza non consiste nella perdita di qualche cosa ma al contrario nella combinazione di parte della sostanza che brucia con un gas presente nell'aria, ossia con l'ossigeno.

Lavoisier, intorno al 1775, era giunto alla conclusione che l'aria è costituita fondamentalmente di due gas: un quinto del suo volume era ossigeno (dal greco "generatore di acido", perché si pensava che quell'elemento fosse presente in tutti gli acidi, ma ciò non è vero in quanto esistono anche acidi senza ossigeno, e tuttavia il nome rimase)



Antoine Laurent
Lavoisier



I restanti quattro quinti erano invece costituiti di azoto (cioè sempre dal greco “privo di vita” perché un qualsiasi organismo, animale o vegetale, posto in un recipiente saturo di azoto, moriva). Aveva pertanto scoperto che l’ossigeno era necessario alle combustioni, ma anche ai processi vitali di animali e piante.

Lavoisier pensava che negli organismi viventi dovesse verificarsi una sorta di combustione, che forniva l’energia per vivere. Oggi la lenta combustione prevista da Lavoisier, si chiama respirazione: essa brucia gli alimenti con l’apporto di ossigeno, mentre l’azoto, se presente da solo, la impedisce. La respirazione può essere sintetizzata dalla seguente equazione:



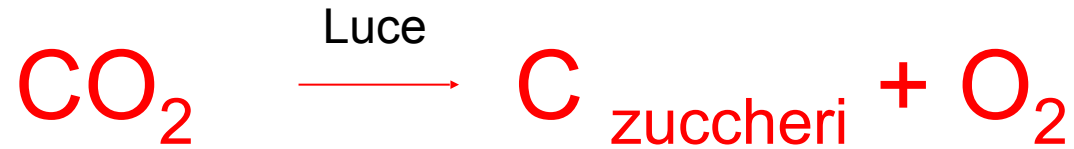


Jan INGENHOUSZ (1730-1799), confermando gli esperimenti di Priestley, dimostrò che la rigenerazione dell'aria avveniva solo in presenza di luce solare e solo ad opera della parte verde delle piante.

Nel 1796, Ingenhousz, facendo proprie le idee di **Lavoisier**, identifica in CO_2 e O_2 i gas coinvolti. Nella sua ipotesi, la CO_2 sarebbe scissa dal processo fotosintetico per dare carbonio, utilizzato per costruire la materia organica della pianta, e O_2 che si libera come gas. Egli quindi introdusse una ipotesi errata, che sarà falsificata solo molto tempo dopo.



Secondo Ingenhousz, quindi, il processo fotosintetico si basava sulla reazione:



Agli inizi del 1800 lo studioso ginevrino **Nicolas Theodore de Saussure** (1767-1845) affrontò il problema della nutrizione delle piante da un punto di vista quantitativo misurando la quantità di anidride carbonica assunta dalla pianta e l'aumento di peso dei suoi tessuti. Egli dimostrò che le foglie verdi alla luce del sole decompongono l'anidride carbonica dell'aria ed emettono ossigeno.

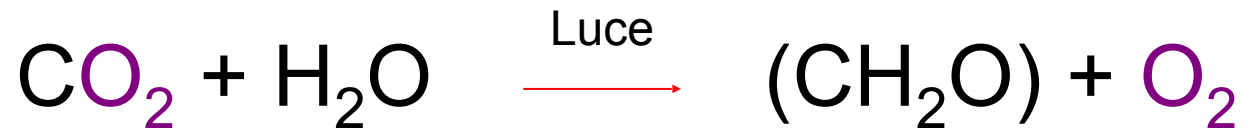


La respirazione dei vegetali come quella degli animali consiste nella immissione di ossigeno e nella emissione di anidride carbonica, ma di giorno l'anidride carbonica emessa dalle piante non si aggiunge a quella presente nell'aria perché viene immediatamente utilizzata nell'assimilazione.

Saussure scoprì che la somma dei pesi delle sostanze organiche e dell'ossigeno prodotti era maggiore del peso della CO_2 consumata. Dato che le sue piante da esperimento ricevevano solo acqua la differenza di peso doveva essere necessariamente legata all'acqua. Concluse in seguito che negli zuccheri e nell'amido il rapporto era di un atomo di carbonio per molecola d'acqua $(\text{CH}_2\text{O})_n$ da cui il termine da lui introdotto di **"carboidrati"**.



DE SAUSSURE propose che nell'equazione globale della fotosintesi [parzialmente fuorviante!!!] si dovesse assumere che i carboidrati derivino da una combinazione del carbonio e dell'acqua, anche se l'ossigeno liberato continuava ad essere fatto derivare dalla molecola di anidride carbonica.



Questa ipotesi, abbastanza ragionevole, fu largamente accettata ma, messa in questi termini, è sbagliata.

Si dimostrerà solo negli anni successivi alla II guerra mondiale che l'ossigeno deriva dalla molecola di acqua.



Cornelis Bernardus van
Niel

A mettere in crisi questa ipotesi più di un secolo dopo la sua formulazione fu uno studente universitario, **Cornelis Bernardus van Niel** (Stanford University), che conduceva esperimenti su diversi tipi di batteri fotosintetici.

Tra i vari tipi di batteri studiati, alcuni, noti come solfobatteri purpurei, riducono l'anidride carbonica a carboidrati senza liberare ossigeno.

Questi solfobatteri utilizzano l'acido solfidrico per la fotosintesi, e ciò comporta un accumulo di granuli di zolfo all'interno delle loro cellule.

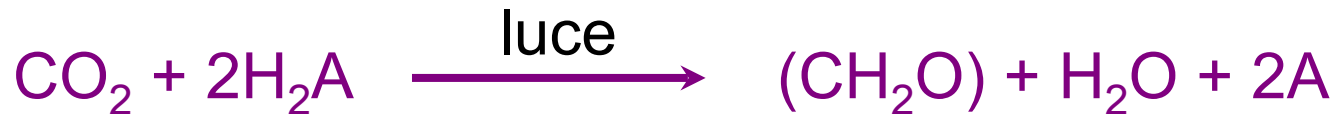


van Niel propose per questi la seguente reazione per la fotosintesi:



Questa scoperta non destò particolare interesse finché **van Niel** non fece una coraggiosa estrapolazione, generalizzando la sua equazione.

Egli propose per la fotosintesi la seguente equazione generale:



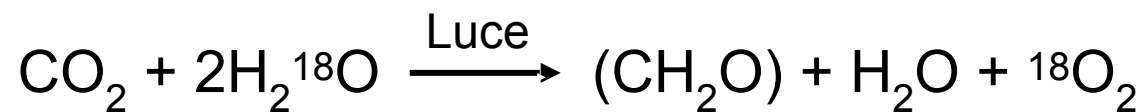


In questa equazione $\mathbf{H_2A}$ sta sia per « $\mathbf{H_2O}$ », sia per qualsiasi altra sostanza ossidabile, come, ad esempio, l'acido solfidrico ($\mathbf{H_2S}$) o l'idrogeno molecolare ($\mathbf{H_2}$).

Nelle alghe e nelle piante verdi $\mathbf{H_2A}$ sta per $\mathbf{H_2O}$ e $\mathbf{2A}$ sta per $\mathbf{O_2}$ («fotosintesi ossigenica»).

In poche parole, van Niel ipotizzava che ad essere scissa fosse l' $\mathbf{H_2O}$, non la $\mathbf{CO_2}$.

Questa brillante ipotesi, proposta nel **1930**, fu provata solo un ventennio più tardi, quando, usando un isotopo dell'ossigeno ($\mathbf{^{18}O_2}$), si poté dimostrare che l'ossigeno gassoso che si sviluppa nella fotosintesi deriva effettivamente dall'acqua e non dall'anidride carbonica:





Un'altro esperimento molto importante per comprendere la natura della fotosintesi e dei suoi processi biochimici fu condotto nel 1937 da **Robin Hill**.

Questi sottopose dei cloroplasti alla luce in assenza di anidride carbonica, ed osservò che questo producevano comunque ossigeno molecolare.

Ovviamente, questo sarebbe stato impossibile se l'ossigeno, come era credenza comune, fosse derivato dalla scissione della molecola di anidride carbonica.

Questo fenomeno è detto reazione di Hill, e prevede che i cloroplasti siano illuminati e forniti di un'accettore artificiale di elettroni.



Sulla base di questi risultati nelle alghe e nelle piante verdi, dove l'acqua funziona da donatore di elettroni, l'equazione globale e bilanciata della fotosintesi viene comunemente riportata come:



Tuttavia, come vedremo nelle prossime lezioni, nelle cellule che fanno la fotosintesi non viene praticamente sintetizzato glucosio. In realtà, il primo prodotto stabile del Ciclo di Calvin è un trioso (zucchero a tre atomi di carbonio), da cui il nome di ciclo C3:





Oggi sappiamo che il processo fotosintetico consta di due fasi nettamente distinte, chiamate “**fase luminosa**” e “**fase oscura**”, poste in serie.

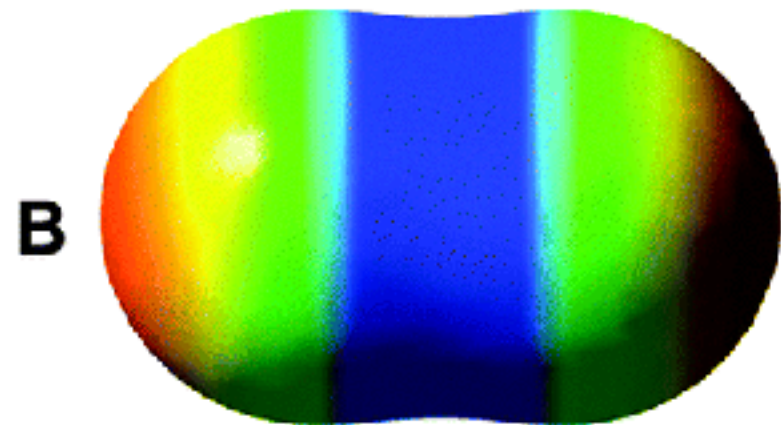
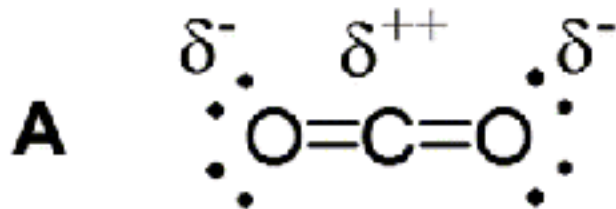
Nella **fase luminosa** predominano le reazioni fotochimiche, c'è l'assorbimento dell'energia luminosa, il trasporto di elettroni, che derivano dalla molecola dell' H_2O , il cui ossigeno viene ossidato, con cambiamento dello stato redox di molte molecole, che fanno parte di catene di trasporto. Si formano alla fine $\text{NADPH} + \text{H}^+$ (= potere riducente), e ATP, che saranno utilizzati nella fase oscura.

Nella **fase oscura** predominano le reazioni enzimatiche che, sfruttando l'ATP e il NADPH, legano la molecola di CO_2 ad una molecola organica preesistente, e finalmente riducono l'atomo di carbonio.



Vista la forte elettronegatività dell'ossigeno, nell'anidride carbonica gli elettroni sono spostati verso di esso, e di fatto l'atomo di carbonio è in uno stato ossidato +4, ovvero ha “perso” 4 elettroni, due a favore di ciascun atomo di ossigeno.

La molecole di anidride carbonica è lineare, con i due atomi di ossigeno ai lati opposti.





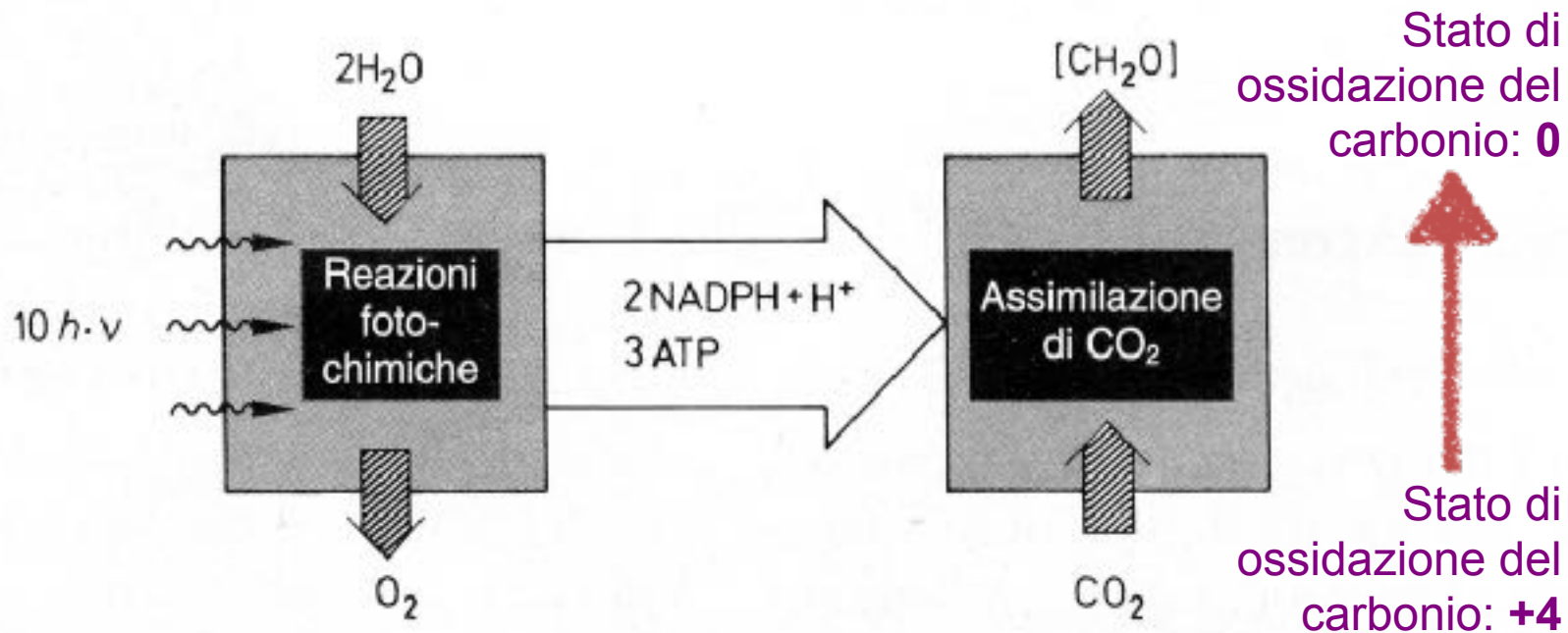
NADP⁺ riceve due e⁻ e un H⁺, diventando NADPH.

Quando viene utilizzato per ridurre un'altra molecola, ridiventa NADP⁺.

NADP⁺ è un agente ossidante (ossida la molecola con cui reagisce), e diventa NADPH, ovvero un agente riducente.

FASE LUMINOSA

FASE OSCURA



DIPENDENTE DALLA
LUCE

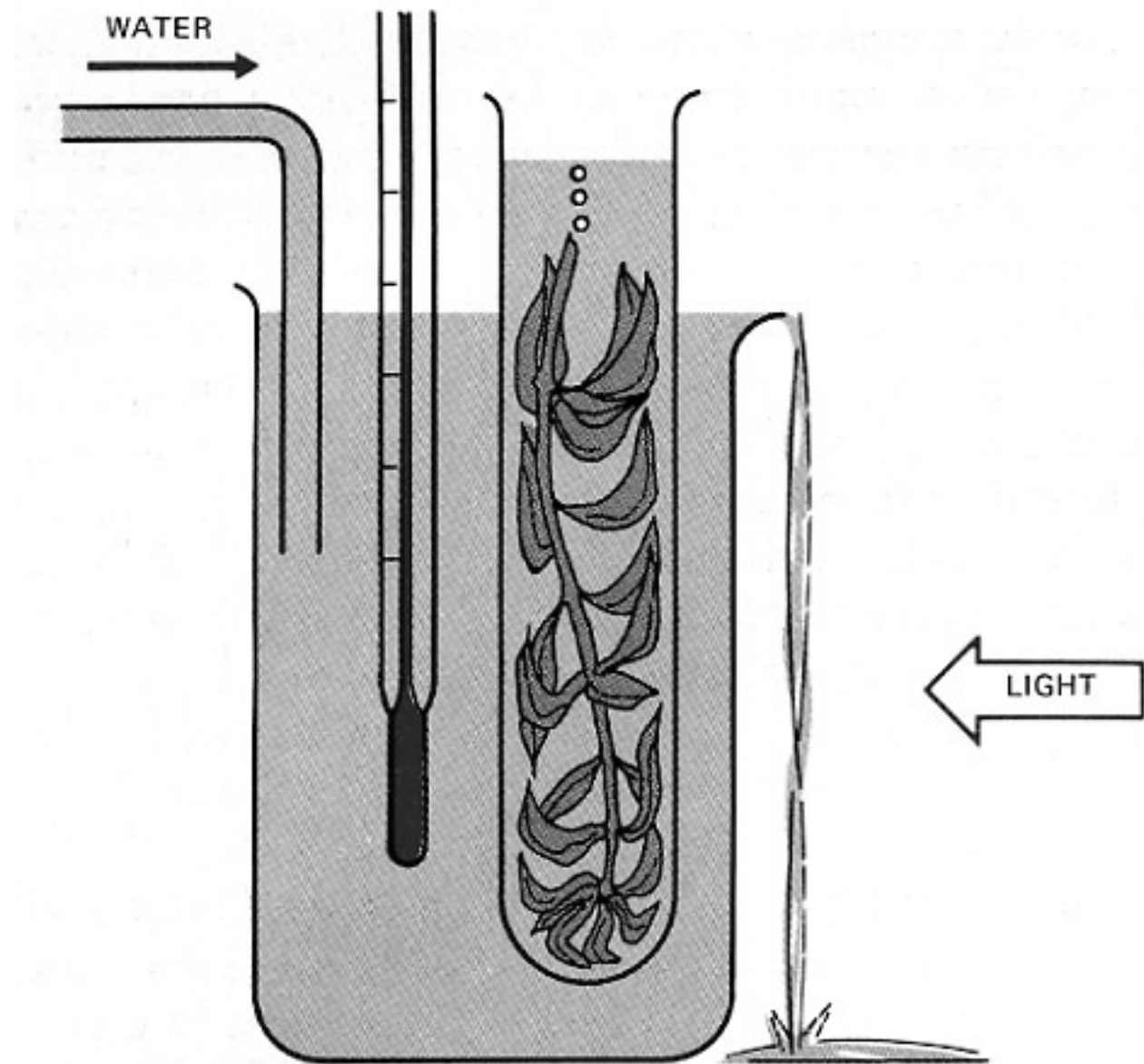
DIPENDENTE DAI
PRODOTTI DELLA
FASE LUMINOSA



Le prime prove per un processo a due fasi furono pubblicate nel 1905 dal fisiologo vegetale inglese **F.F. Blackman**.

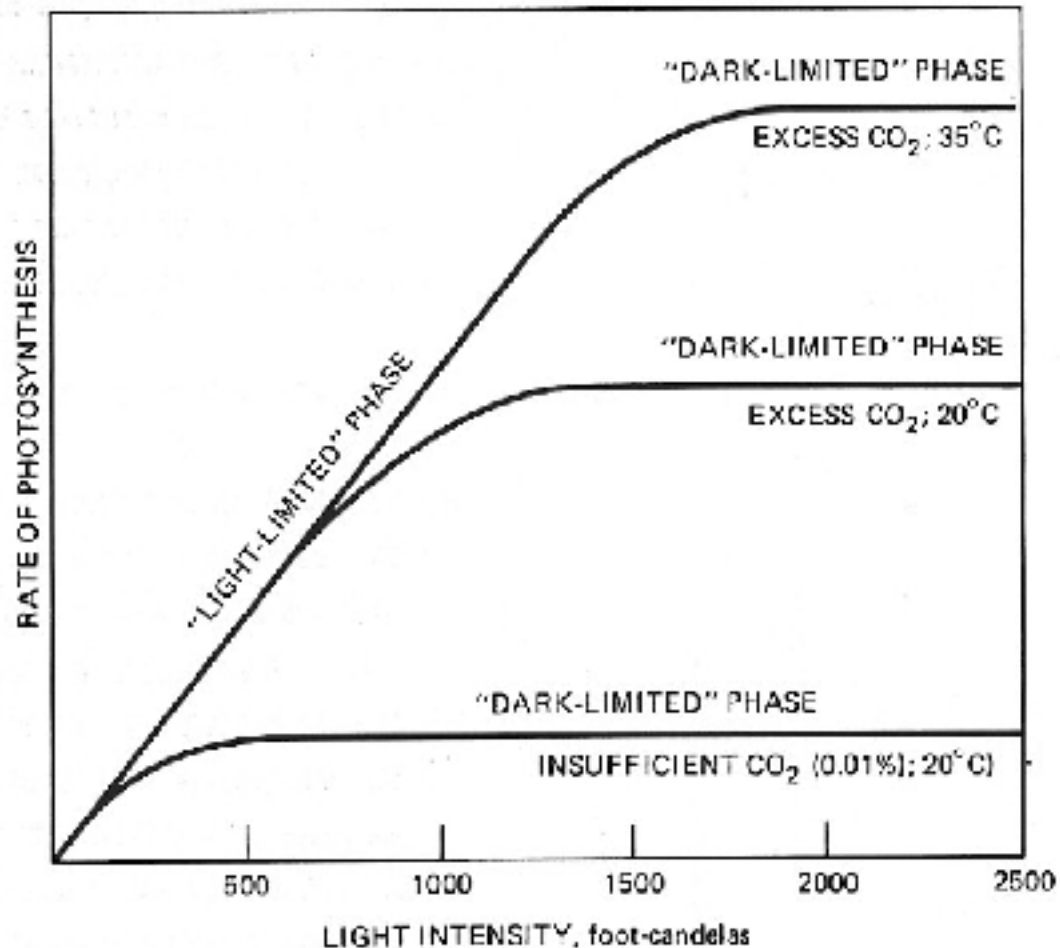
Blackman misurava singolarmente, e in combinazione, gli effetti dell'intensità di luce e della temperatura sulla velocità di fotosintesi.

L'esperimento di Blackman usava una pianta acquatica del genere *Elodea*. Un ramo di *Elodea* veniva immerso in una soluzione di NaHCO_3 . Nell'ambiente sperimentale, Blackman poteva variare o mantenere costanti sia la temperatura che l'intensità luminosa, che la concentrazione di NaHCO_3 (lo ione bicarbonato, HCO_3^- , è la forma in cui si trova l'anidride carbonica in soluzione acquosa).





Grazie alla luce che proviene da una lampada, la pianta fa fotosintesi, e produce quindi un certo numero di bollicine di ossigeno nell'unità di tempo. La conta delle bolle da una misura dell'intensità della fotosintesi.





La prima evidenza che Blackman ottenne fu che la quantità di fotosintesi non continua a crescere indefinitamente con l'intensità luminosa.

Questo fece ipotizzare a Blackman che nella fotosintesi siano coinvolti due processi, uno che utilizza la luce, e l'altro che non ha bisogno della luce per funzionare. Questo venne definito fase oscura, sebbene esso sia attivo anche in presenza di luce.

Blackman ipotizzò che a intensità luminose moderate i processi dipendenti dalla luce sono quelli che limitano il passo dell'intera fotosintesi. In altre parole, a modeste intensità luminose, le reazioni della fase oscura riescono a utilizzare completamente i prodotti della fase luminosa.



Aumentando l'intensità della luce, la fotosintesi accelera, fino ad arrivare a uno stato stazionario, quando sono le reazioni della fase oscura a non riuscire più a “tenere il passo”, ovvero a utilizzare tutti i prodotti della fase luminosa. A questo punto, qualsiasi aumento della quantità di luce non produce alcun effetto. Tuttavia, aumentando la temperatura vi è uno spostamento in alto dello stato stazionario.

Il fatto che un aumento della temperatura provochi un aumento della velocità della fotosintesi dimostra che nella fase oscura sono coinvolte reazioni enzimatiche, che è noto accelerino a temperature più elevate. Tuttavia, questo aumento non è illimitato, in quanto oltre una certa temperatura gli enzimi della cellula coinvolti nella fase oscura si degradano.



Il fatto che a temperature elevate (e quindi con gli enzimi della fase oscura che lavorano speditamente) la fotosintesi sia lenta a basse intensità luminose dimostra che la velocità delle reazioni della fase luminosa è invece direttamente dipendente dalla quantità di luce fornita.

Quindi, la velocità delle reazioni della fase luminosa dipende dall'intensità luminosa, mentre quella delle reazioni della fase oscura dipende dalla temperatura.

Tuttavia, l'aumento di velocità con la temperatura non avviene se la quantità di anidride carbonica è limitata.



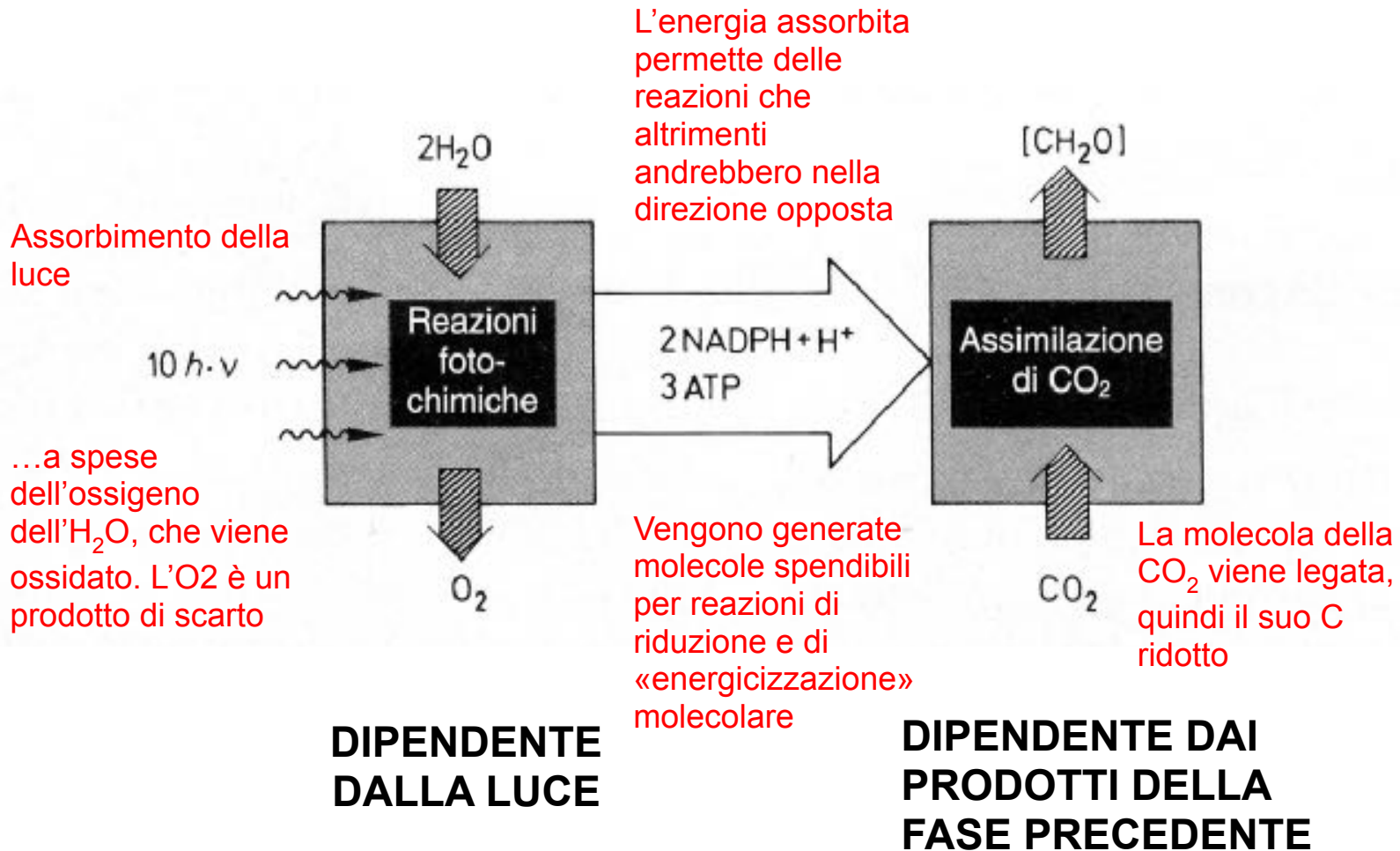
Come si può vedere dal grafico, la velocità di fotosintesi raggiunge uno stato stazionario più basso se la quantità di anidride carbonica è limitata. All'aumento dell'anidride carbonica, anche la velocità della fotosintesi aumenta.

Per cui la concentrazione di anidride carbonica è il terzo fattore che regola, assieme a intensità luminosa e temperatura, la velocità della fotosintesi.

In atmosfera, la quantità di anidride carbonica disponibile è di 35 parti per milione, ovvero il 0.035%. Tuttavia vedremo che non sempre le piante hanno a disposizione un quantitativo così "elevato", ma spesso sono costrette a lavorare con molto meno.

FASE LUMINOSA

FASE OSCURA





NB: La sintesi di carboidrati nella fase oscura a partire da anidride carbonica è una reazione **endoergonica**, e non potrebbe avvenire senza un input energetico, fornito dalla fase luminosa.

Questa usa l'energia luminosa, e produce ATP ("moneta" energetica degli organismi viventi) e NADPH (potere riducente).



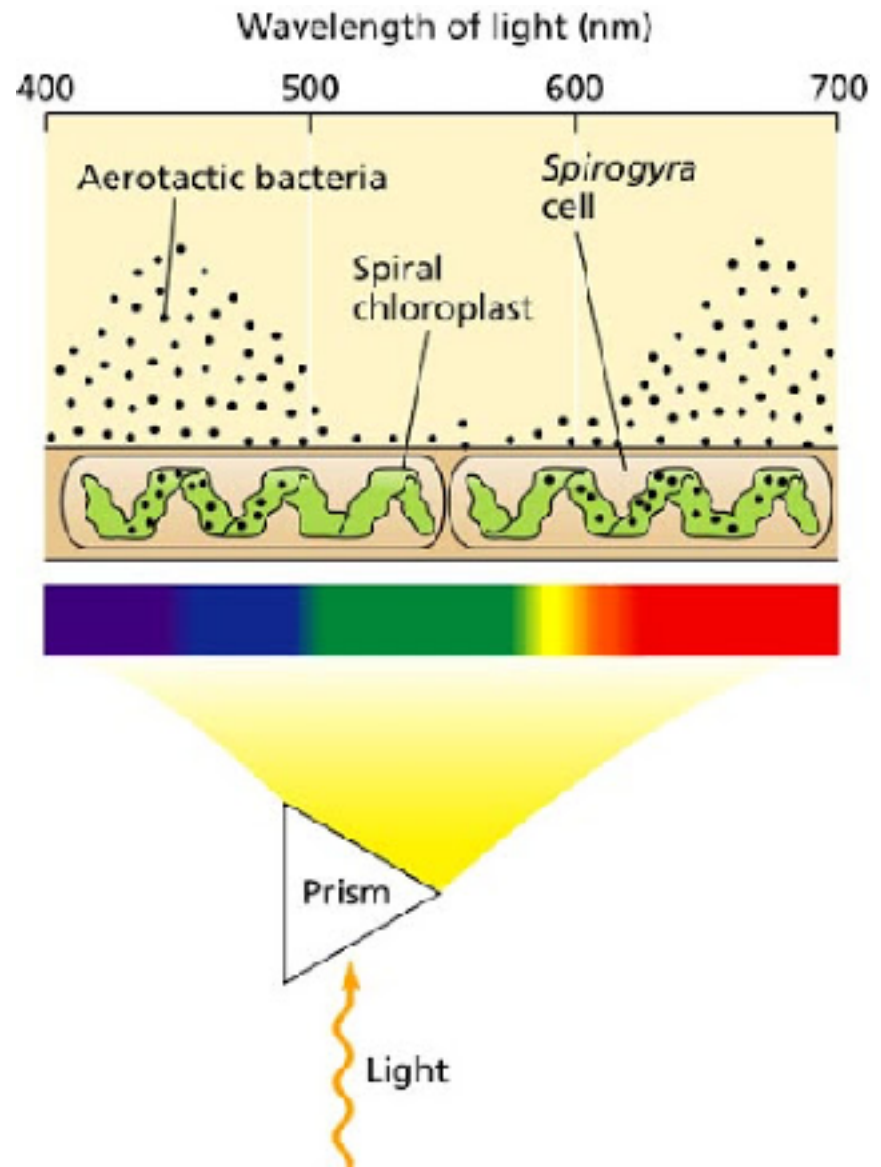
Il nome di “fase oscura” è alquanto infelice in quanto essa comunque avviene in presenza di luce in quanto
(a) richiede i prodotti della fase luminosa;
(b) alcuni enzimi sono addirittura attivati dalla luce.

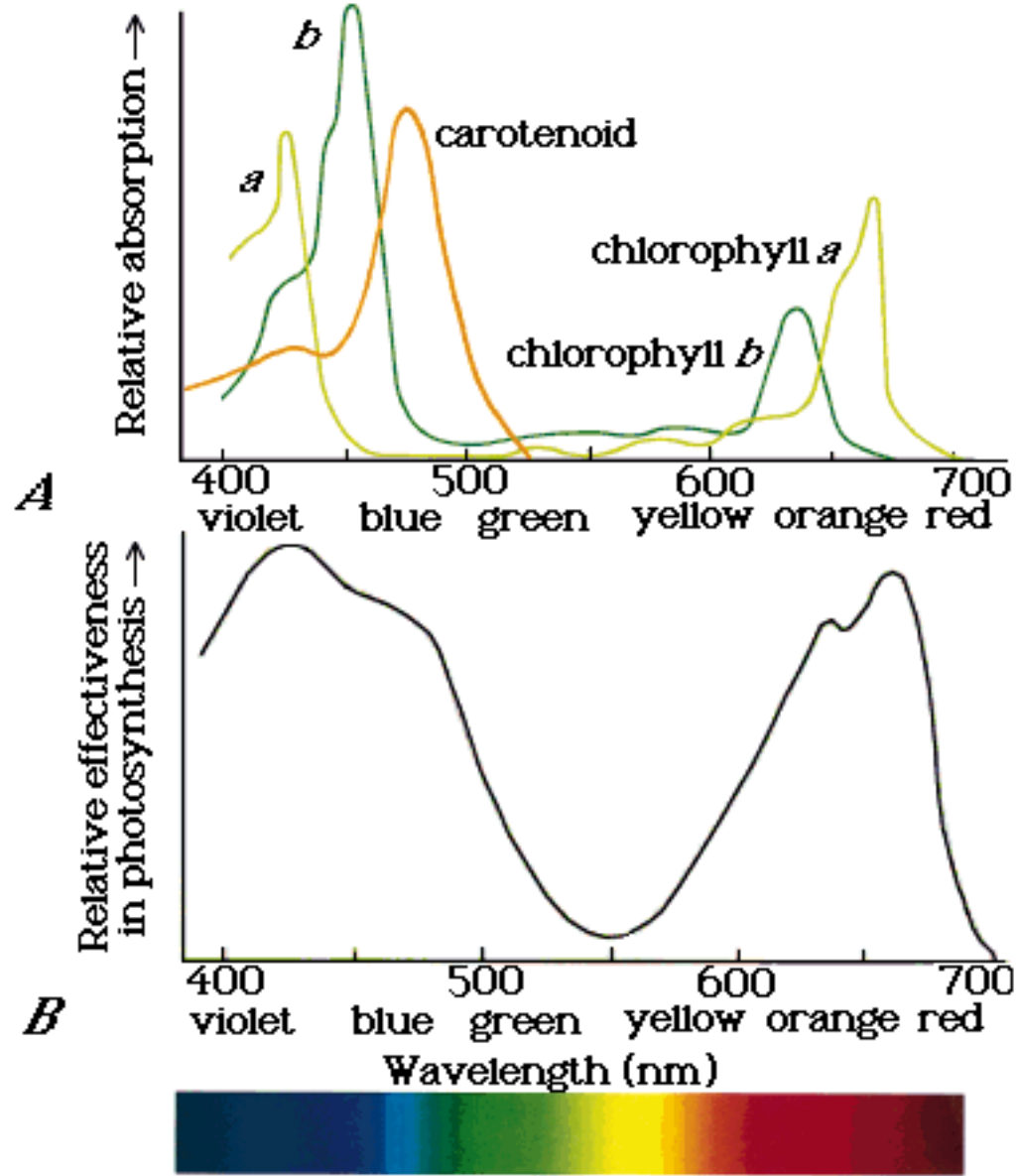
L' espressione "fase oscura" si usa ancora adesso per indicare che la luce non è coinvolta direttamente in queste reazioni.

La comprensione delle lunghezze d'onda capaci di attivare la fotosintesi venne da un elegante esperimento di **Theodore Wilhelm Engelmann** (1843-1909), nel 1882. Volendo comprendere lo spettro d'azione della fotosintesi, usò come organismo modello un'alga filamentosa del genere *Cladophora*.



Egli usò dei batteri mobili attratti dall'ossigeno come bio-indicatori. Illuminando porzioni diverse dell'alga con lunghezze d'onda diverse, osservò in quali zone si concentrassero i batteri, indicando quindi le porzioni dell'alga che maggiormente producevano ossigeno, e che quindi erano più attive dal punto di vista fotosintetico.





Osservò che i batteri si concentravano nelle aree illuminate dalla luce blu-violetta e da quella rossa.

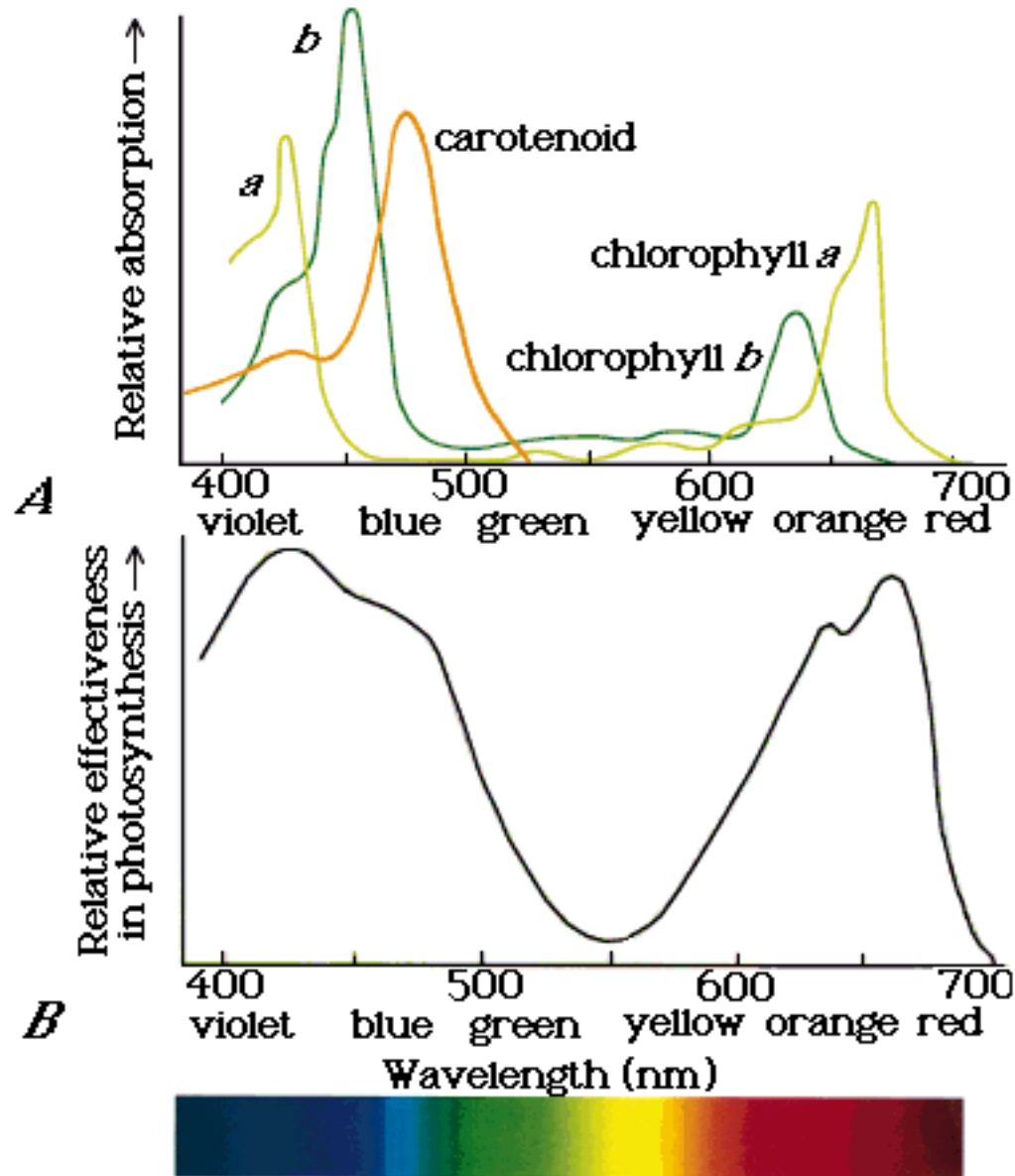
La(e) clorofilla(e), che assorbe(ono) in quei range dello spettro, è(sono) il(i) pigmento(i) coinvolto(i) nel processo fotosintetico.



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.

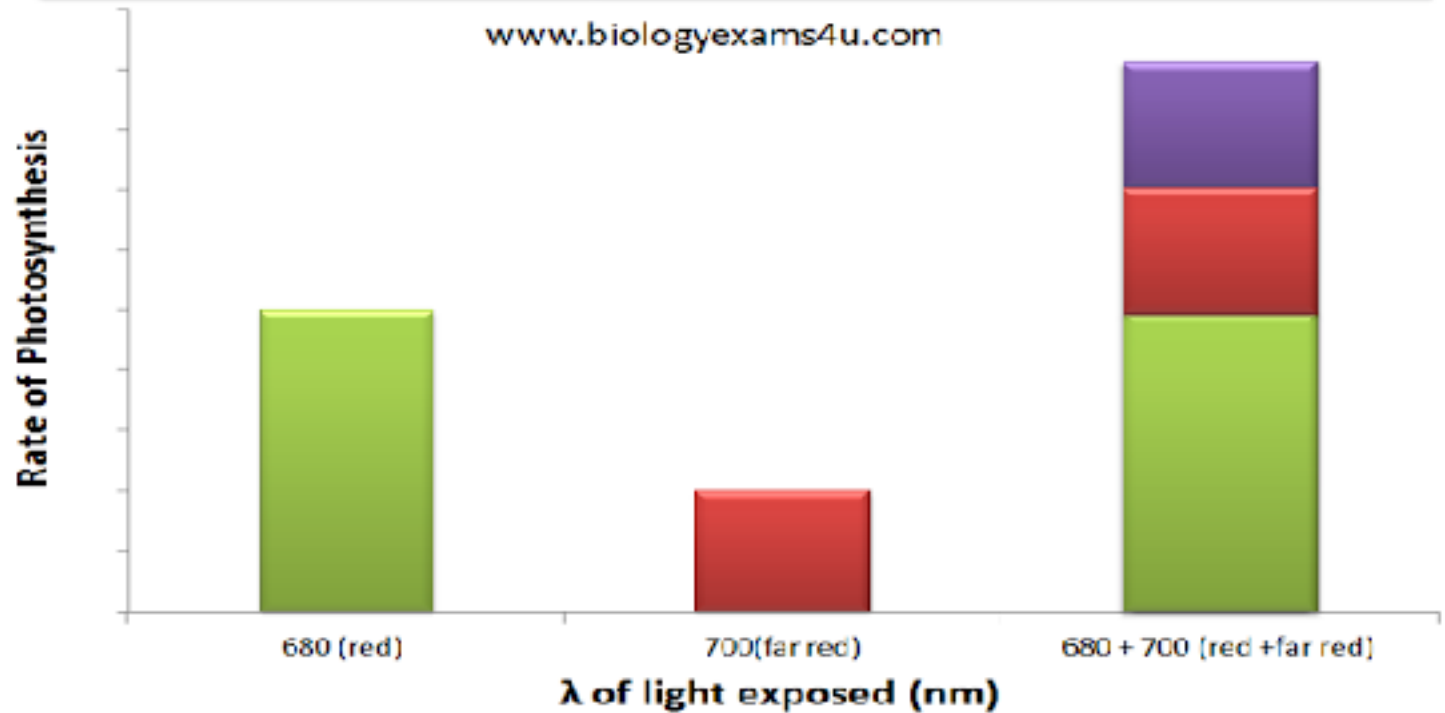
Emerson giunse a queste conclusioni studiando l'efficienza fotosintetica nella porzione rossa dello spettro. Questa scelta era dovuta a due fattori:

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

www.biologyexams4u.com



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.



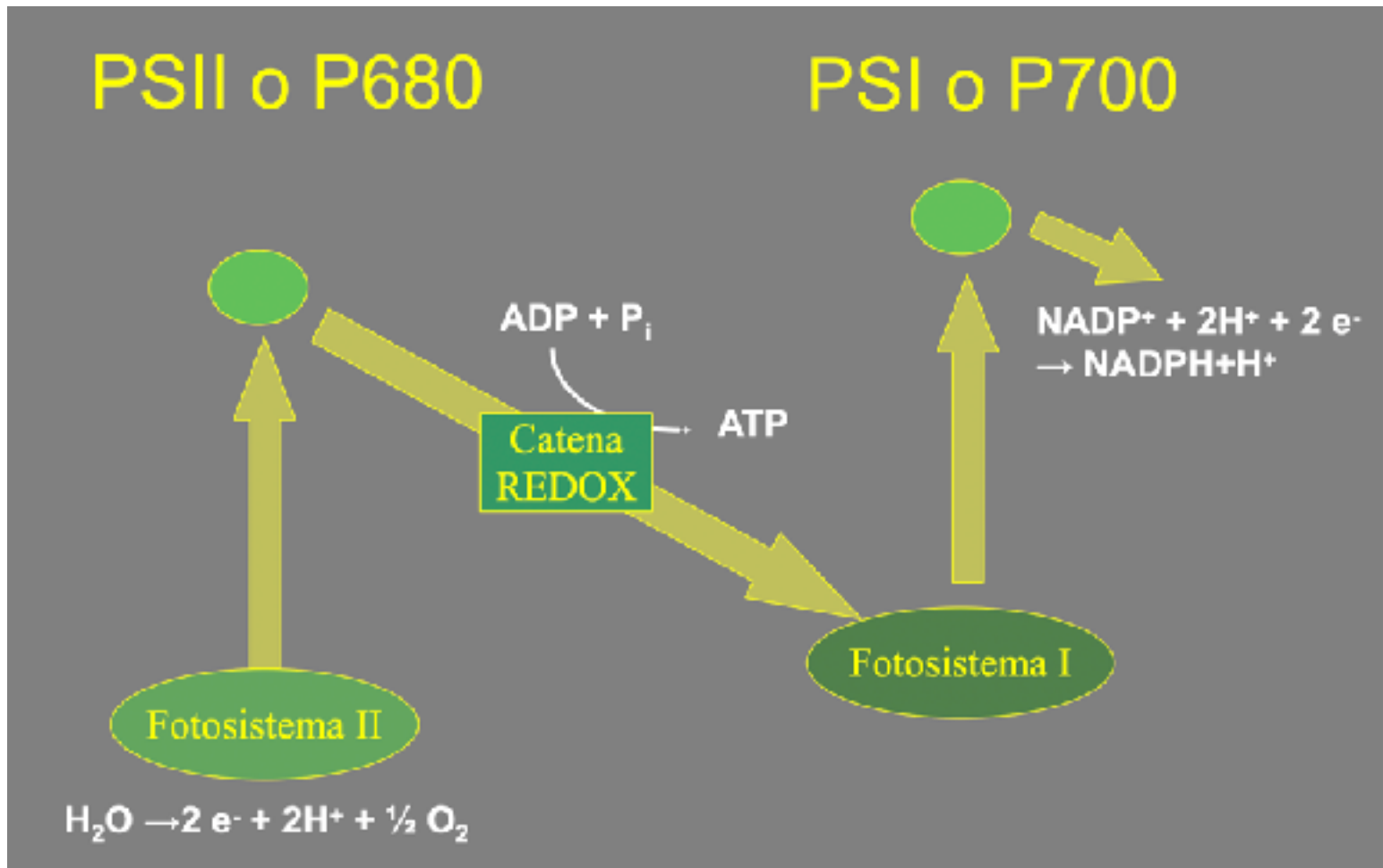


Nasceva così l'idea di
unità fotosintetiche o
FOTOSISTEMI,
che sono di due tipi (I e II).

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**.





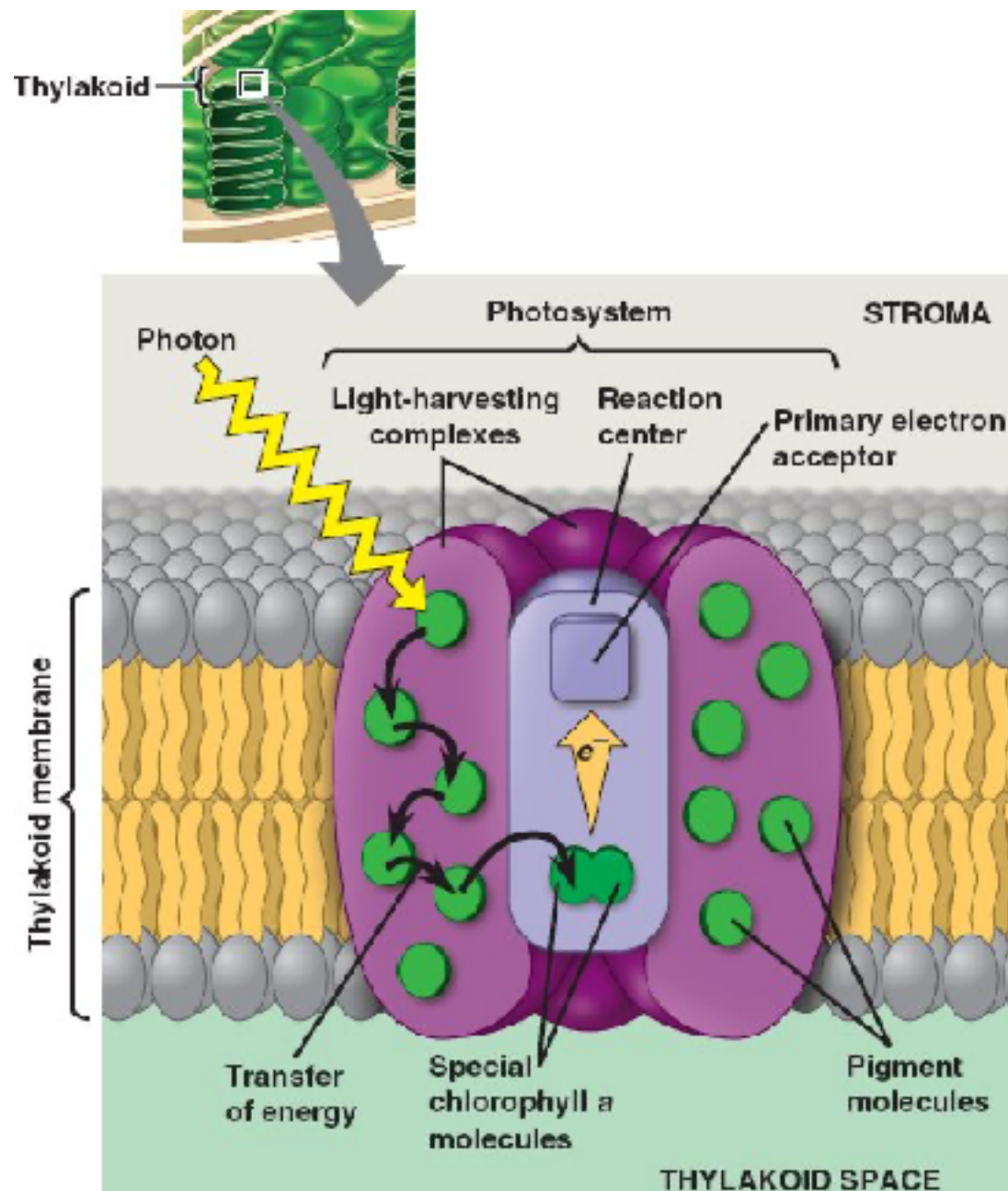
I fotosistemi sono complessi di molecole inseriti nelle membrane tilacoidali dei cloroplasti. Le sigle che li contraddistinguono, P680 e P700, sono le lunghezze d'onda di massimo assorbimento delle clorofille negli “*special pair*” dei centri di reazione.

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.

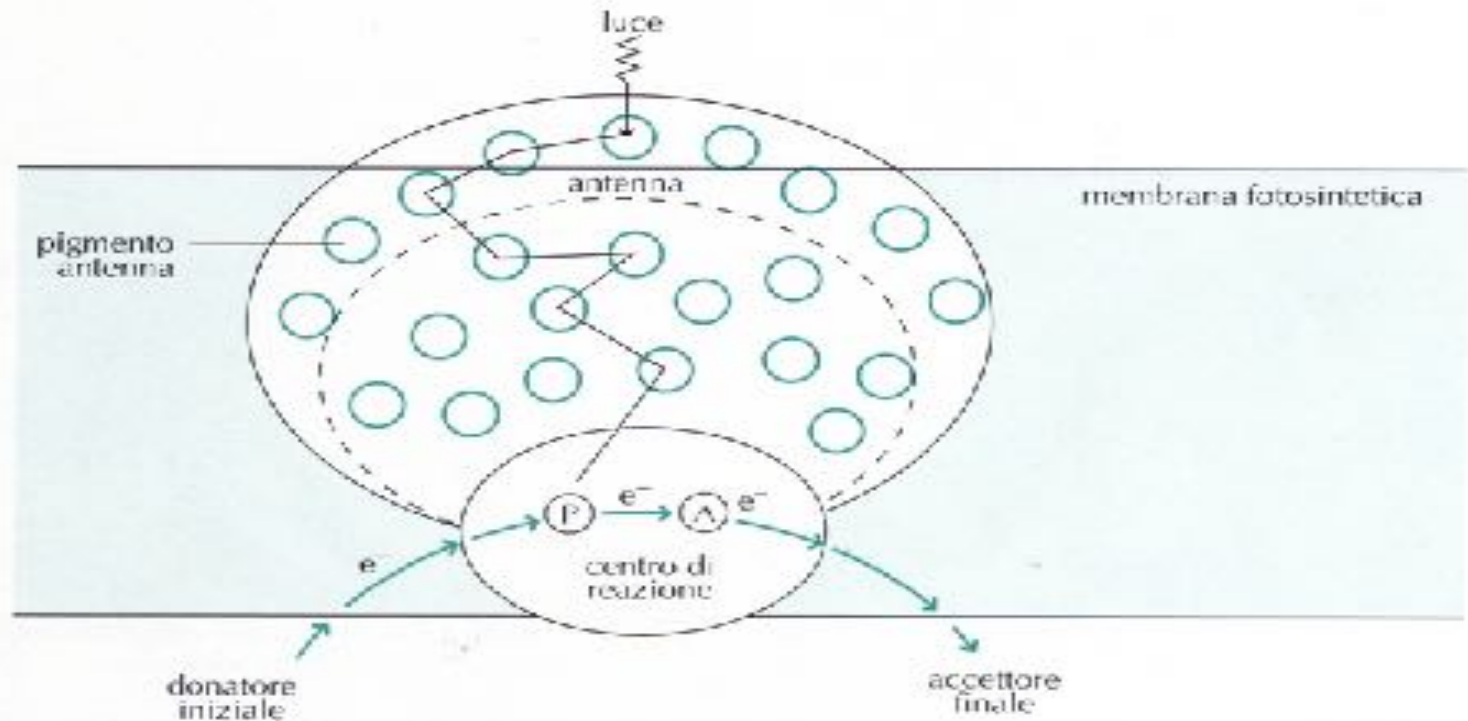


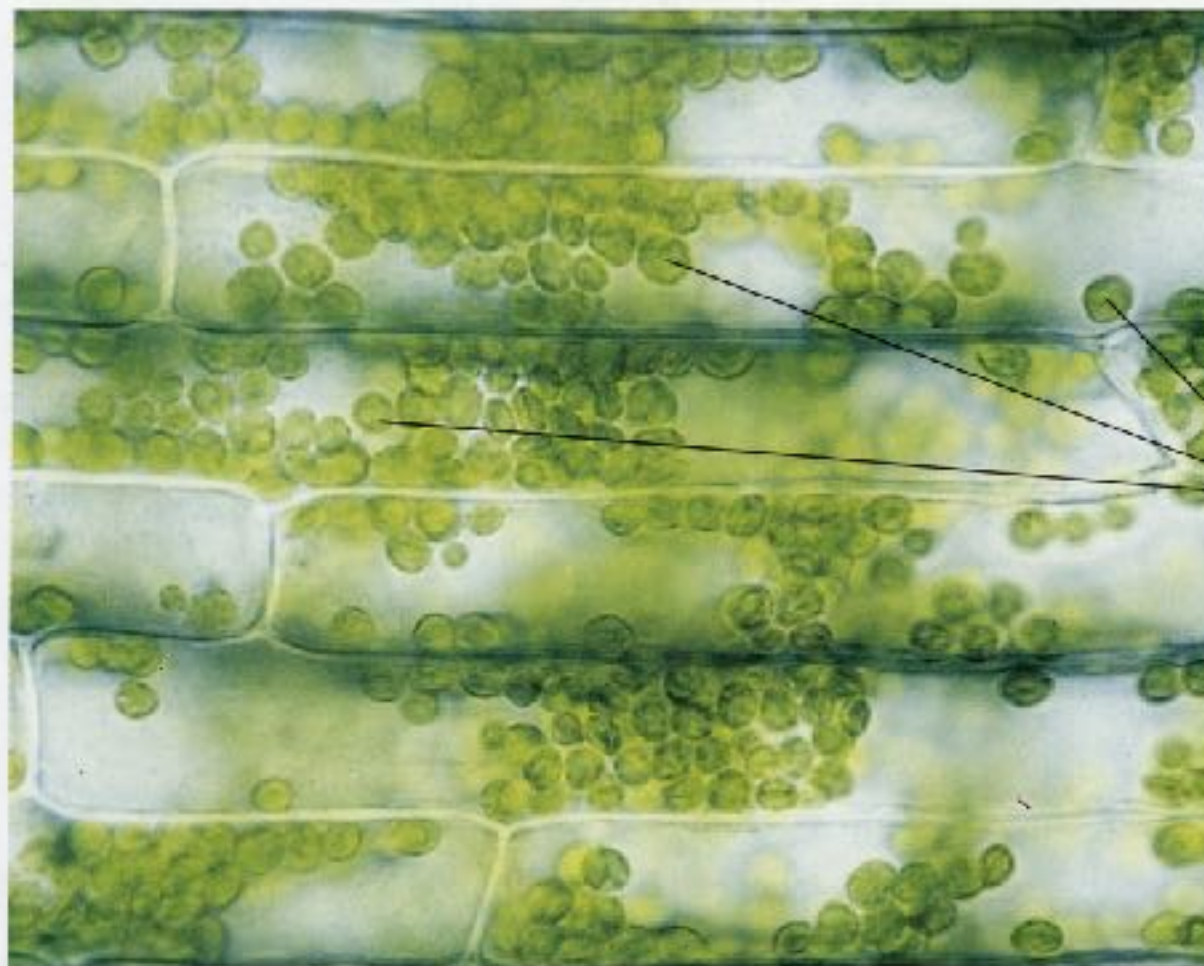


**COLOROFILLE
CAROTENOIDI**

**PROTEINE
STRUTTURALI**

FICOBILIPROTEINE (limitate a
Cyanophyta, Rhodophyta, Cryptophyta)

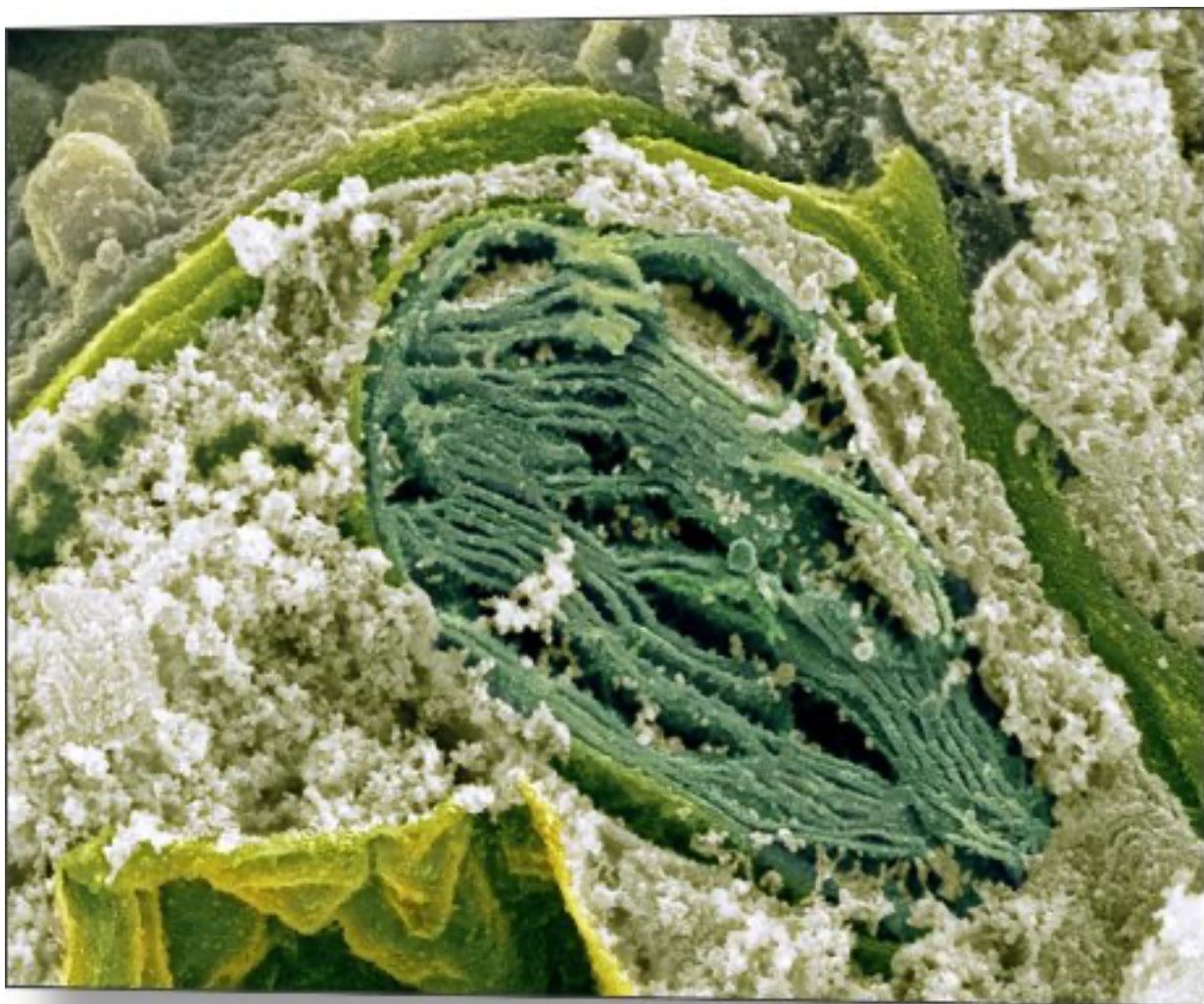


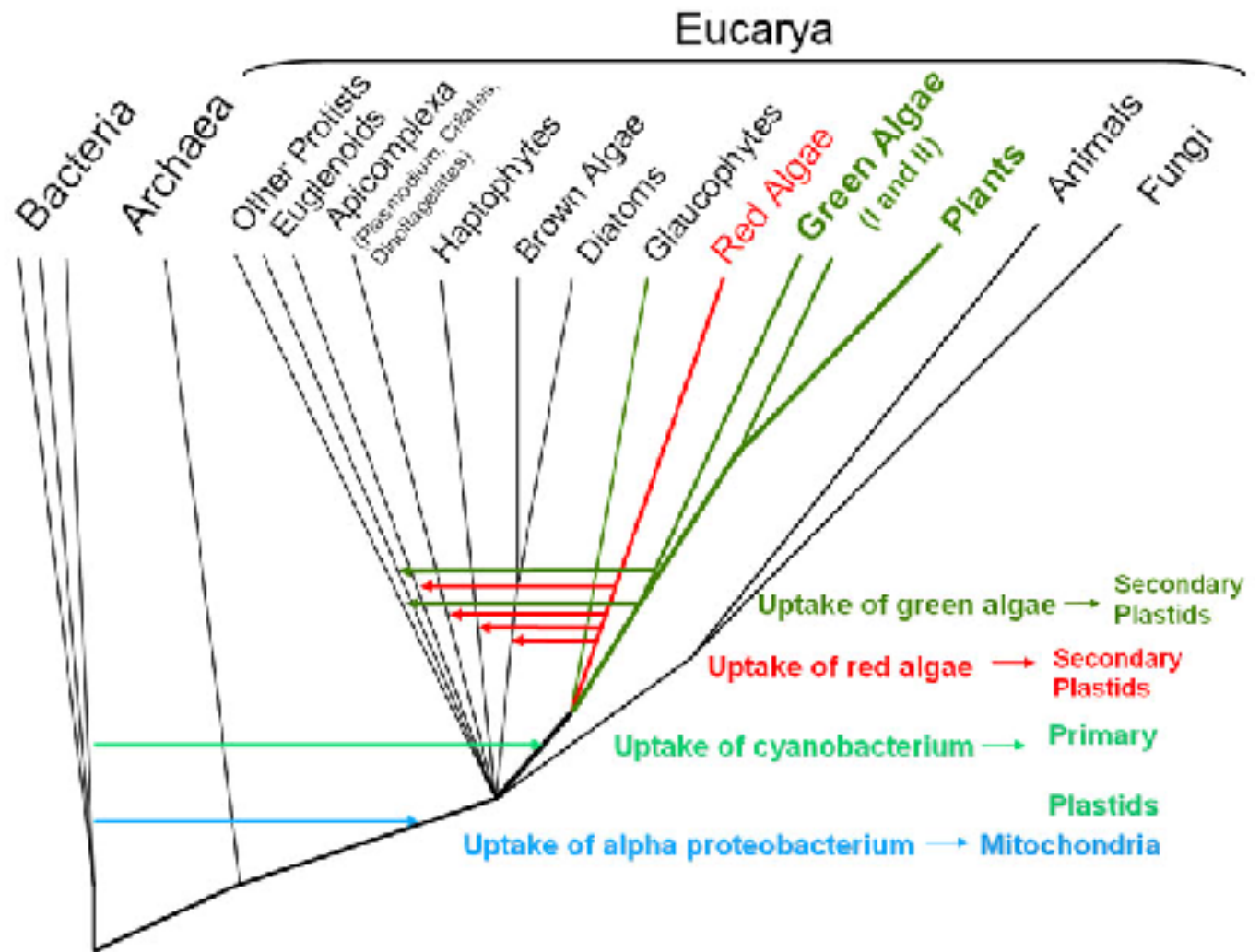


cloroplasti

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





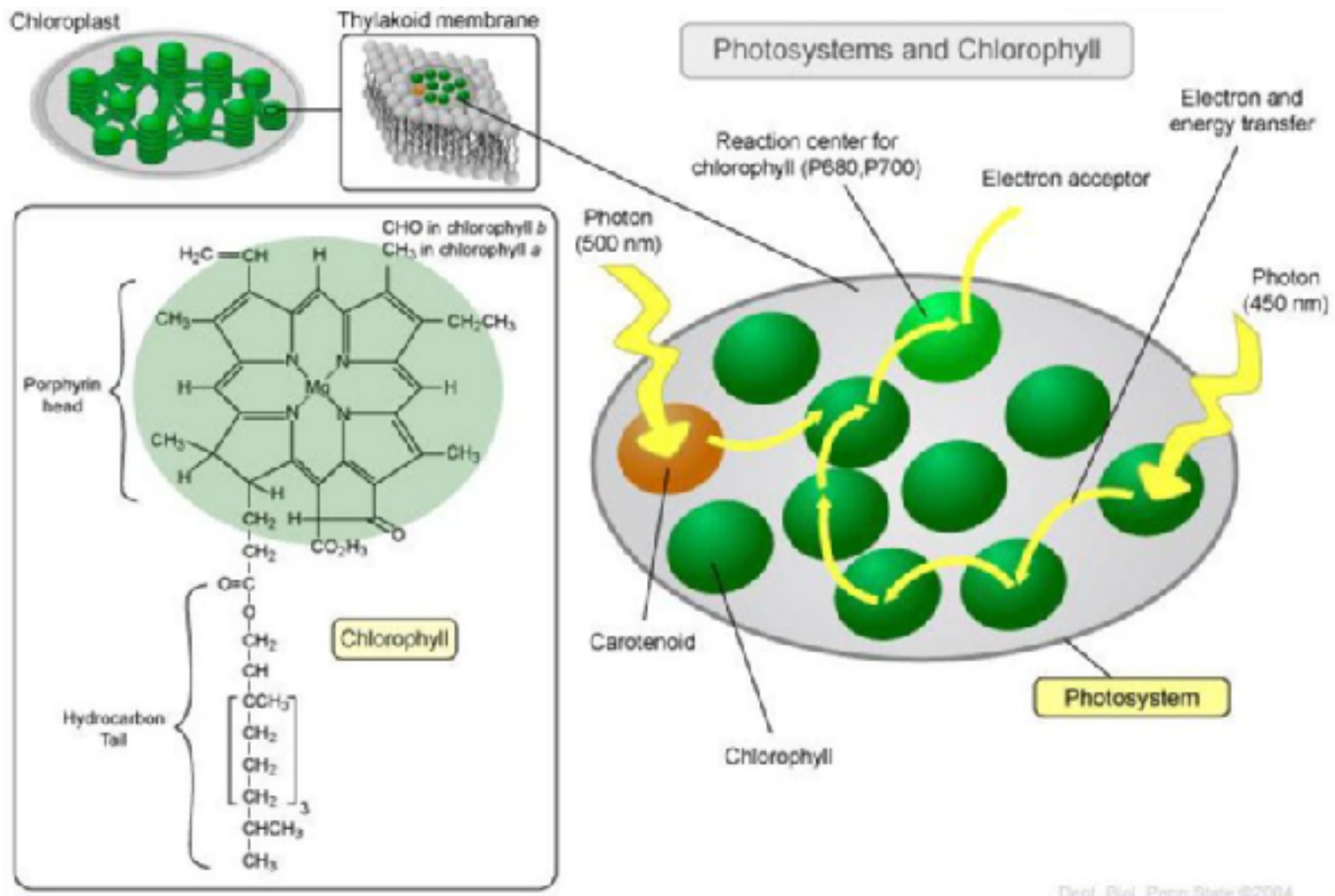




Almeno un nuovo evento, molto recente, di endosimbiosi primaria è stato riscontrato in alcune specie del genere *Paulinella*. Si tratta di organismi ameboidi, in cui l'endosimbiosi di un cianobatterio, probabilmente di un "sister group" dei gruppi di cianobatteri *Synechococcus* è avvenuta in tempi relativamente 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.

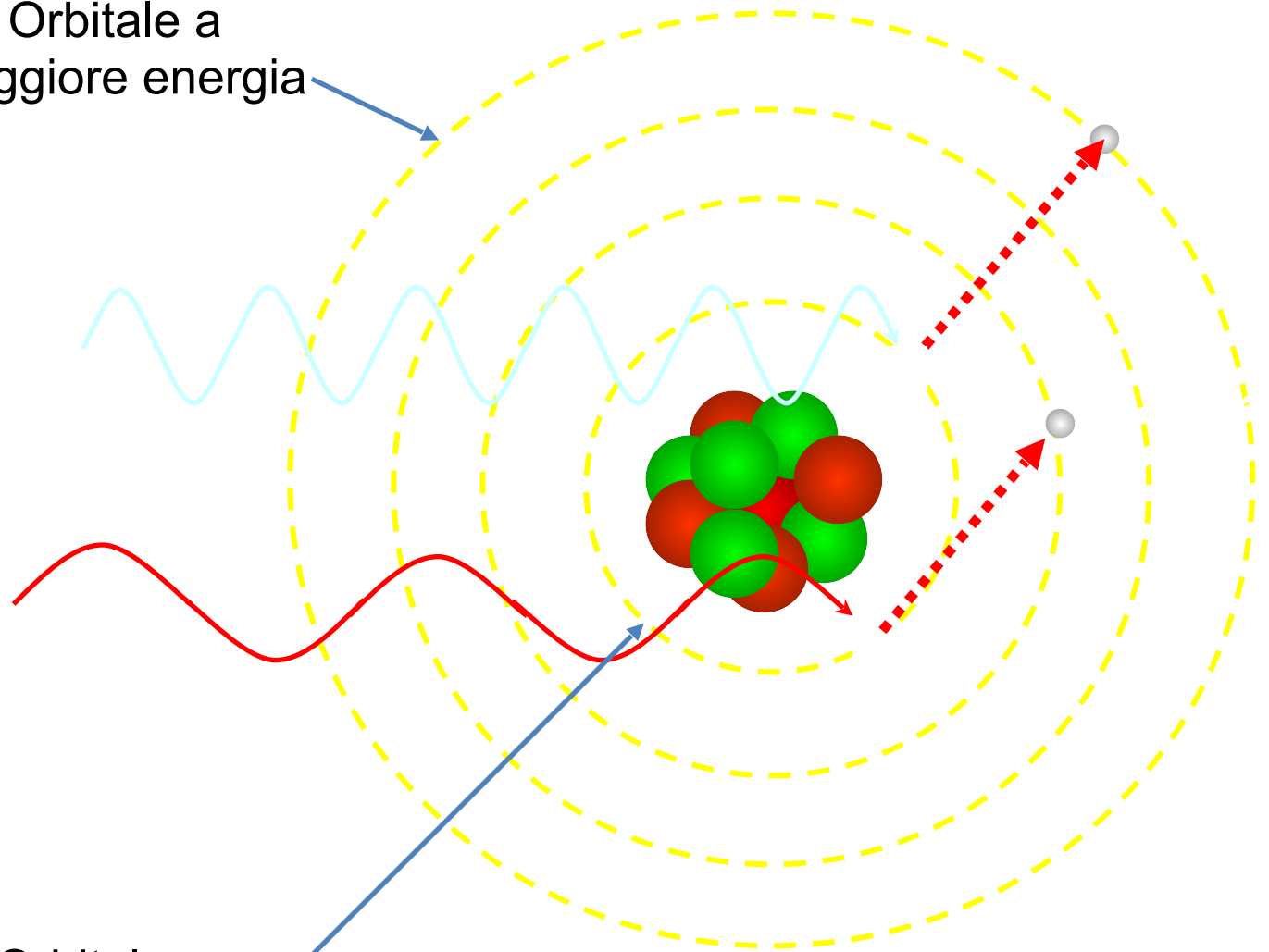






Orbitale a
maggiore energia

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”.

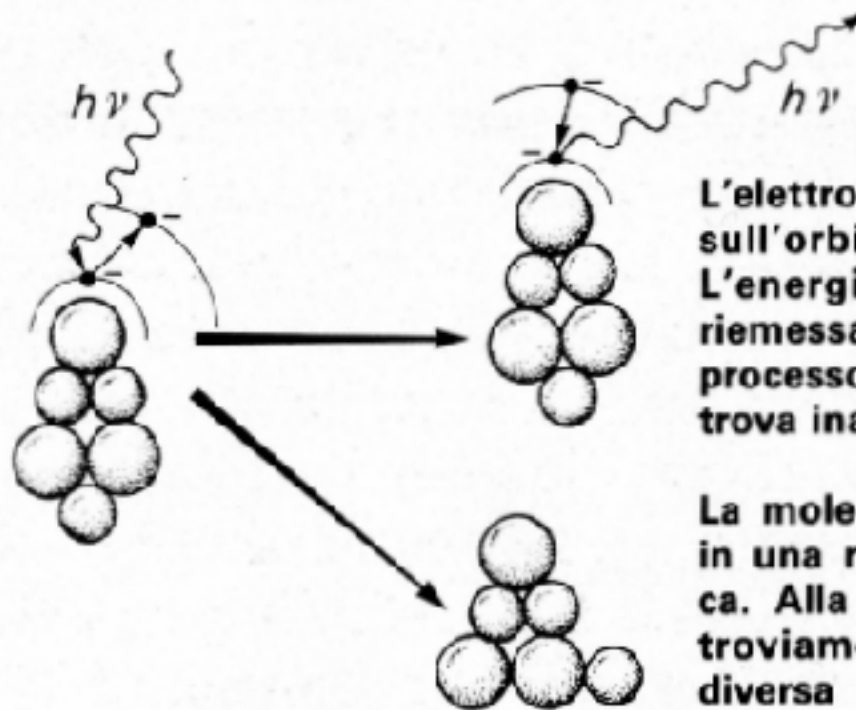
Nel caso dei pigmenti (non solo quelli fotosintetici), la radiazione elettromagnetica deve cadere nel campo del visibile. Per quelli fotosintetici, la lunghezza d'onda massima deve essere di circa 700 nm (anche due vedremo che ci sono alcuni casi particolari, come la clorofilla d).

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.

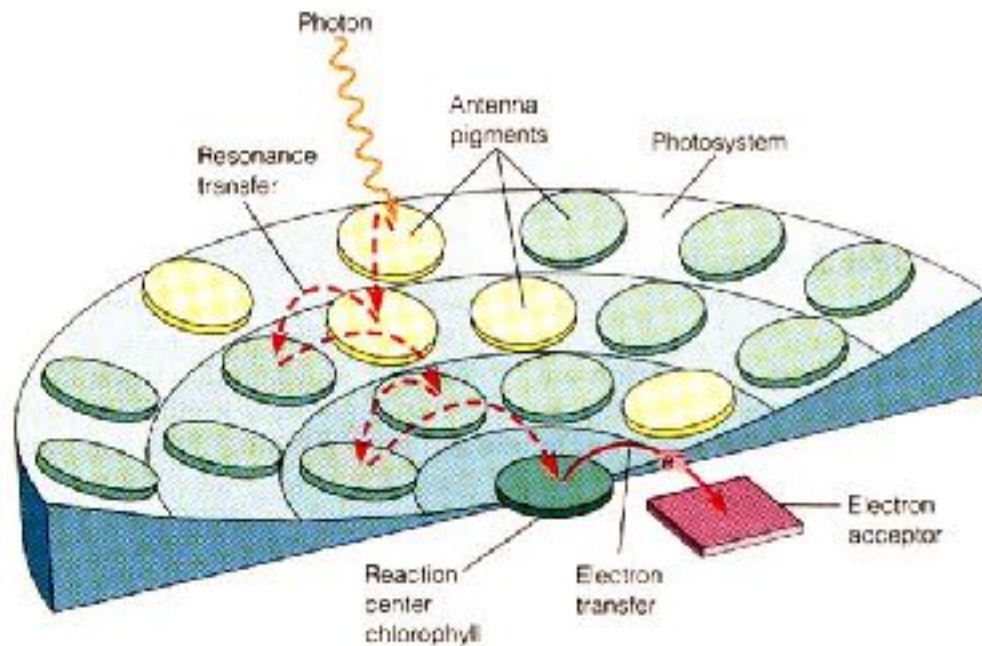


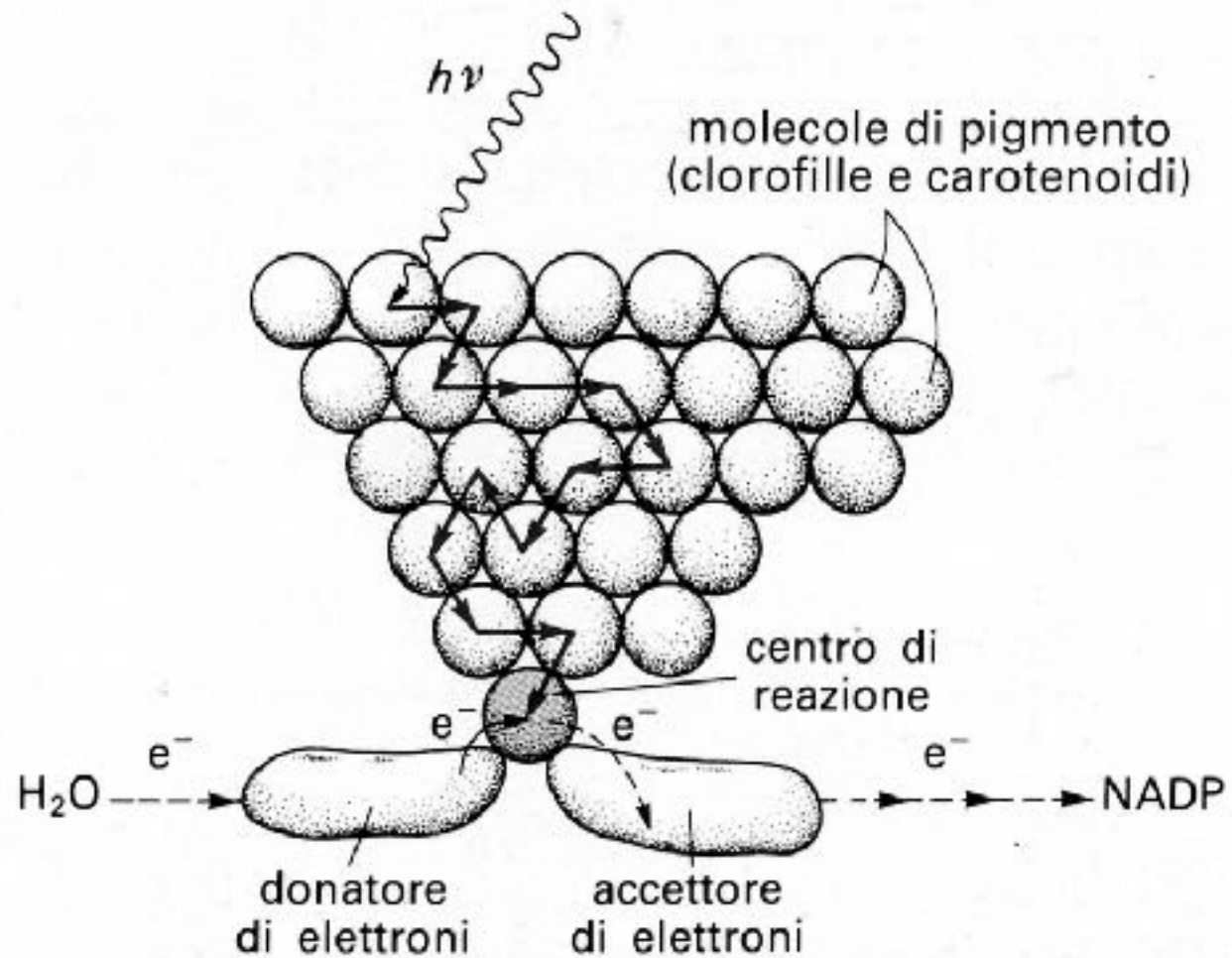


I pigmenti fotosintetici hanno la capacità di trasferire l'energia per risonanza induttiva, senza perdere l'elettrone.

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

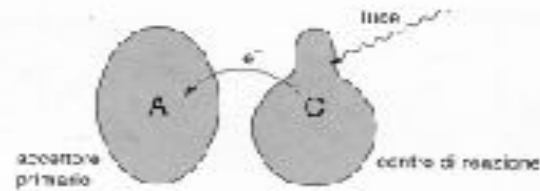
Perché il centro di reazione possa di nuovo funzionare, a questo punto, è necessario che la molecola di clorofilla venga ridotta, ottenendo un nuovo elettrone a sostituzione di quello perso.



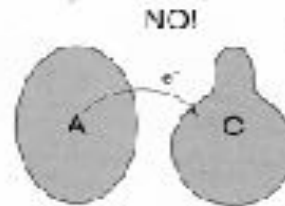




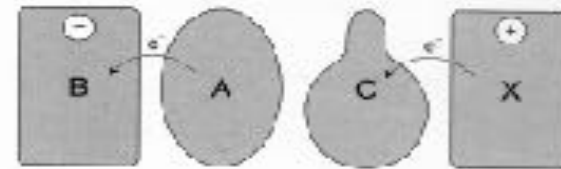
- ① Il centro di reazione accettato perde un elettrone all'accettore primario.



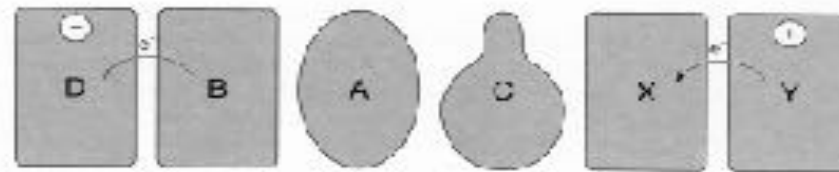
- ② Risultato: il centro di reazione che ha perso un elettrone acquista una carica positiva, l'accettore primario che ha preso un elettrone acquista una carica negativa.



- ③ Ci si potrebbe aspettare che l'elettore 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 D. Contemporaneamente la il centro di reazione recupera l'elettrone perduto da un donatore X. Risultato: sono ancora due cariche opposte, ma esse si sono allontanate.



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

Fig. 13.19 • In seguito all'assorbimento 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 terminata la fase di eccitazione le due cariche non si neutralizzano nuovamente perché migrano verso strutture 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, 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).

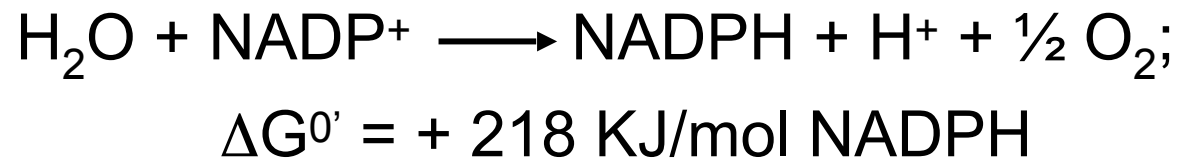
Il fotosistema I, invece, non riceve elettroni dall’acqua (la fotolisi è “esclusiva” del fotosistema II), ma da una catena di trasporto degli elettroni che proviene dal fotosistema II.

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



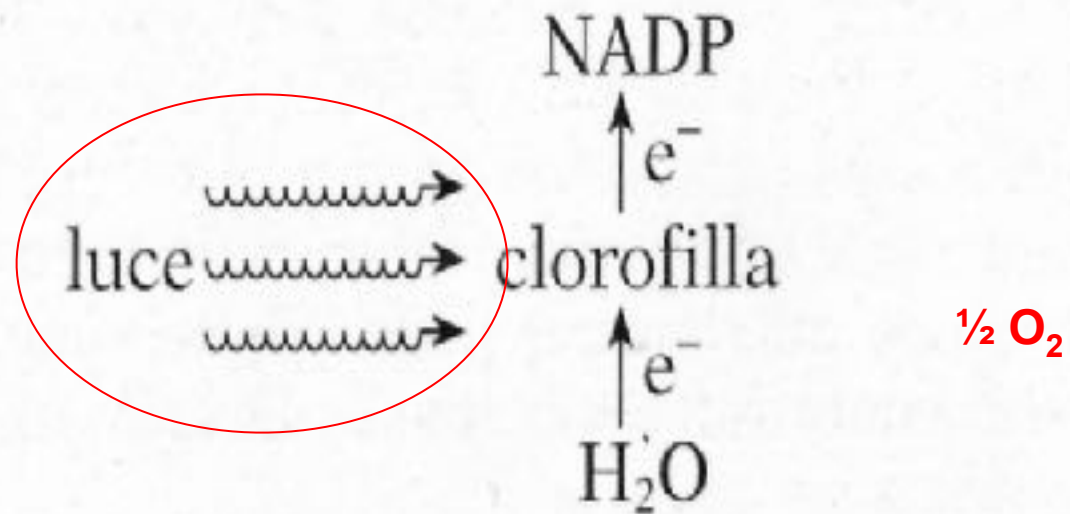


In conclusione, il donatore iniziale di elettroni è l'ossigeno dell'acqua, che si ossida (nei tilacoidi), e l'accettore finale è il NADP⁺ (nello stroma dei cloroplasti).



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**.



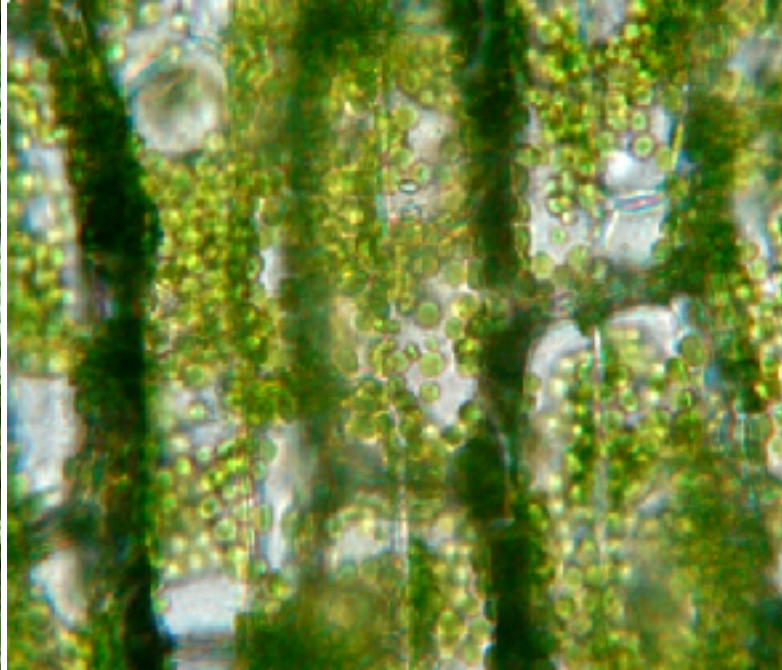
Clorofilla *a* (Chl *a*)

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.

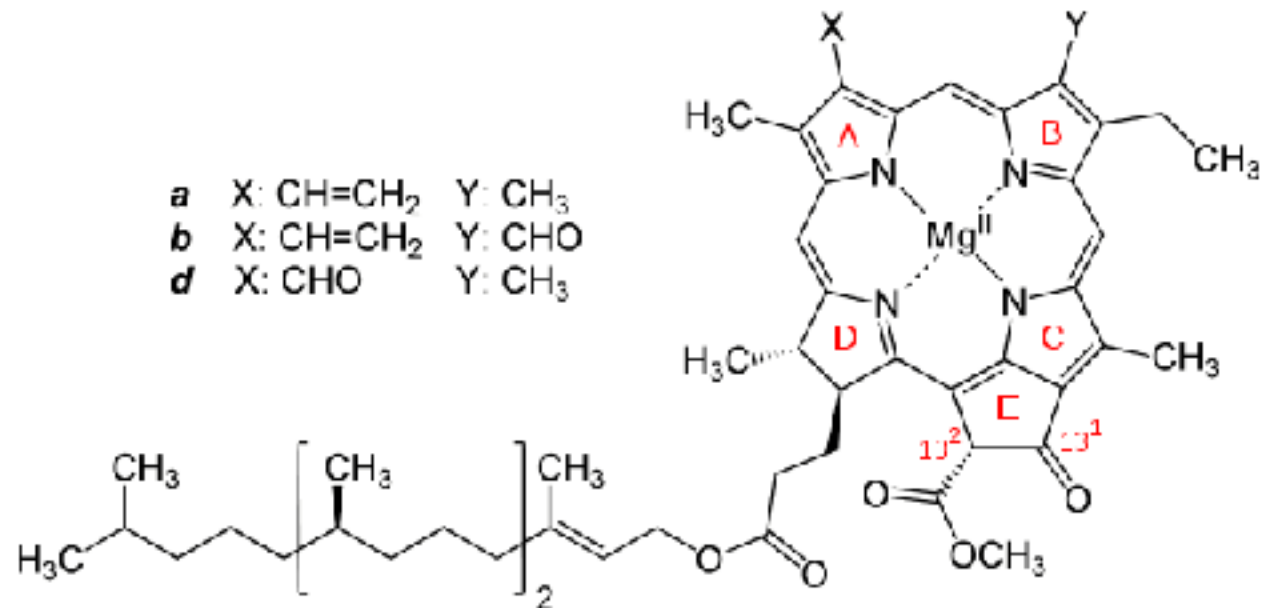
La molecola della clorofilla *a* è costituita da 4 anelli pirrolici sostituiti, uno dei quali ridotto, e da una lunga catena laterale terpenoide (fitolo); i due gruppi acidi sono esterificati uno dall'alcool metilico e l'altro dal fitolo.

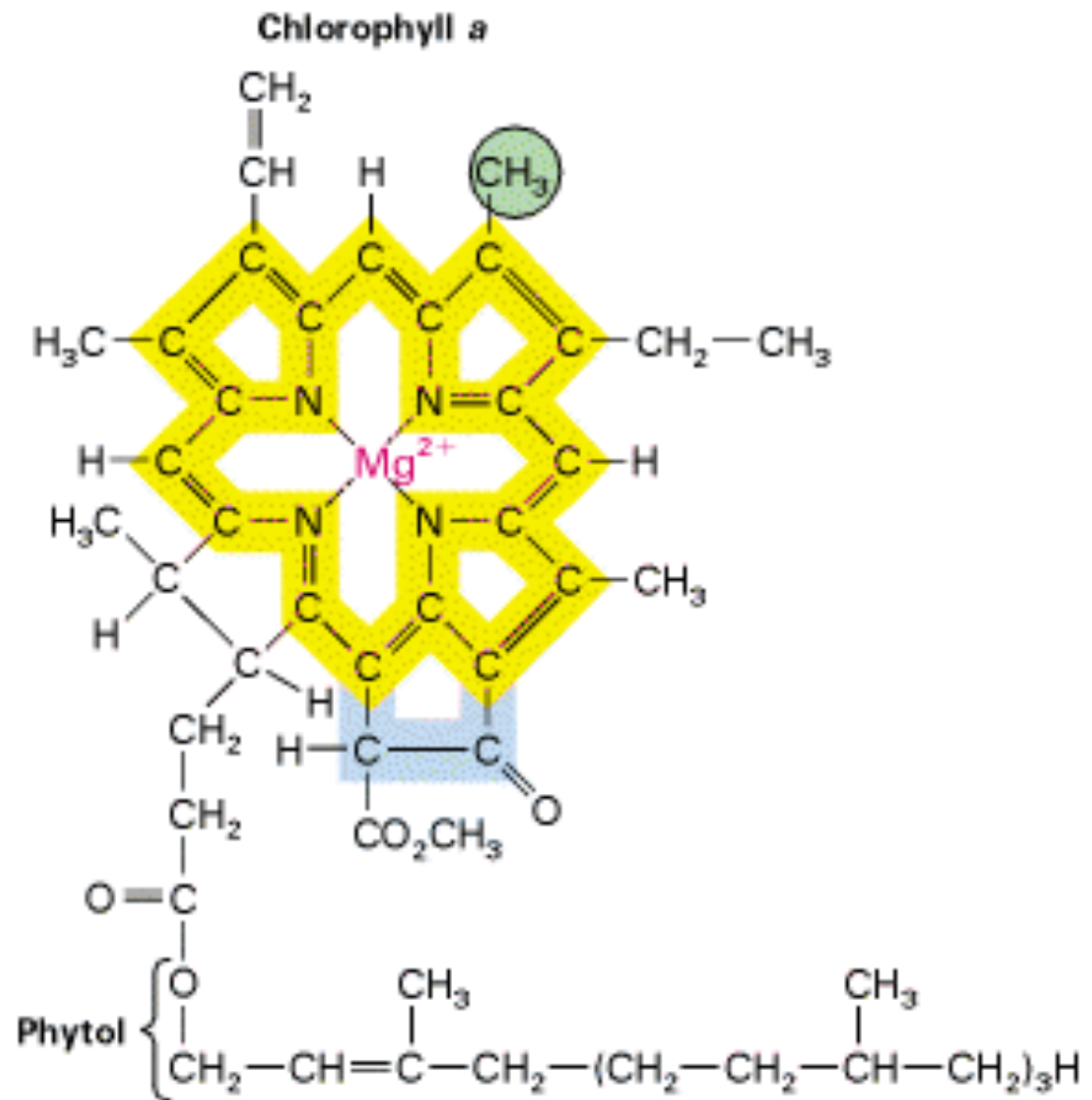
La molecola che ne risulta presenta un polo idrofilo, quello con il nucleo tetrapirrolico, ed uno idrofobo, quello con il fitolo. Nei solventi organici presenta un massimo di assorbimento della luce alla lunghezza d'onda intorno a 430 e 660 nm. Ciò significa che assorbe la luce rossa e blu mentre la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

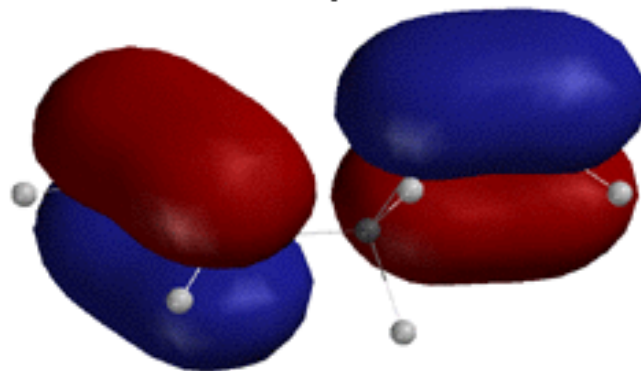
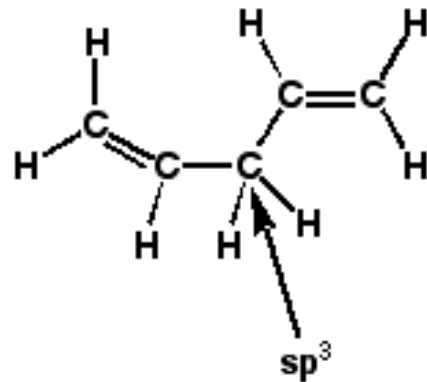




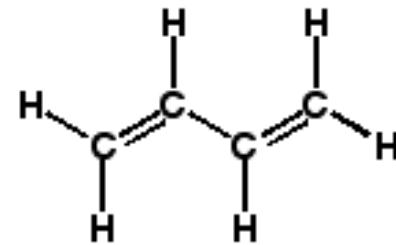
- a** X: CH=CH₂ Y: CH₃
b X: CH=CH₂ Y: CHO
d X: CHO Y: CH₃



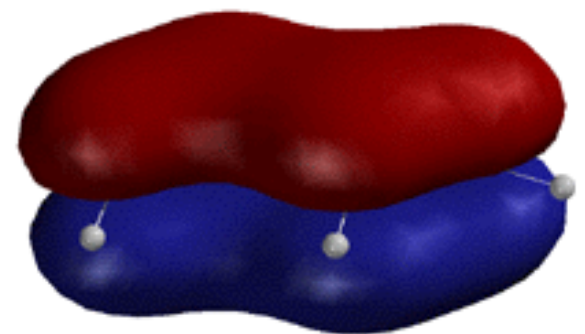




Non-conjugated π system
(π bonds do not interact)



All carbon atoms sp^2



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

