BIOLOGIA VEGETALE





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*".

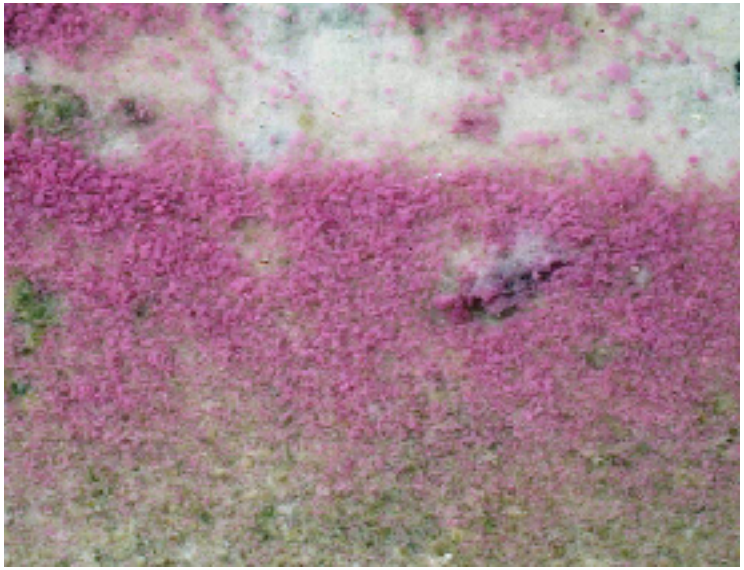


Chi fa la fotosintesi?

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

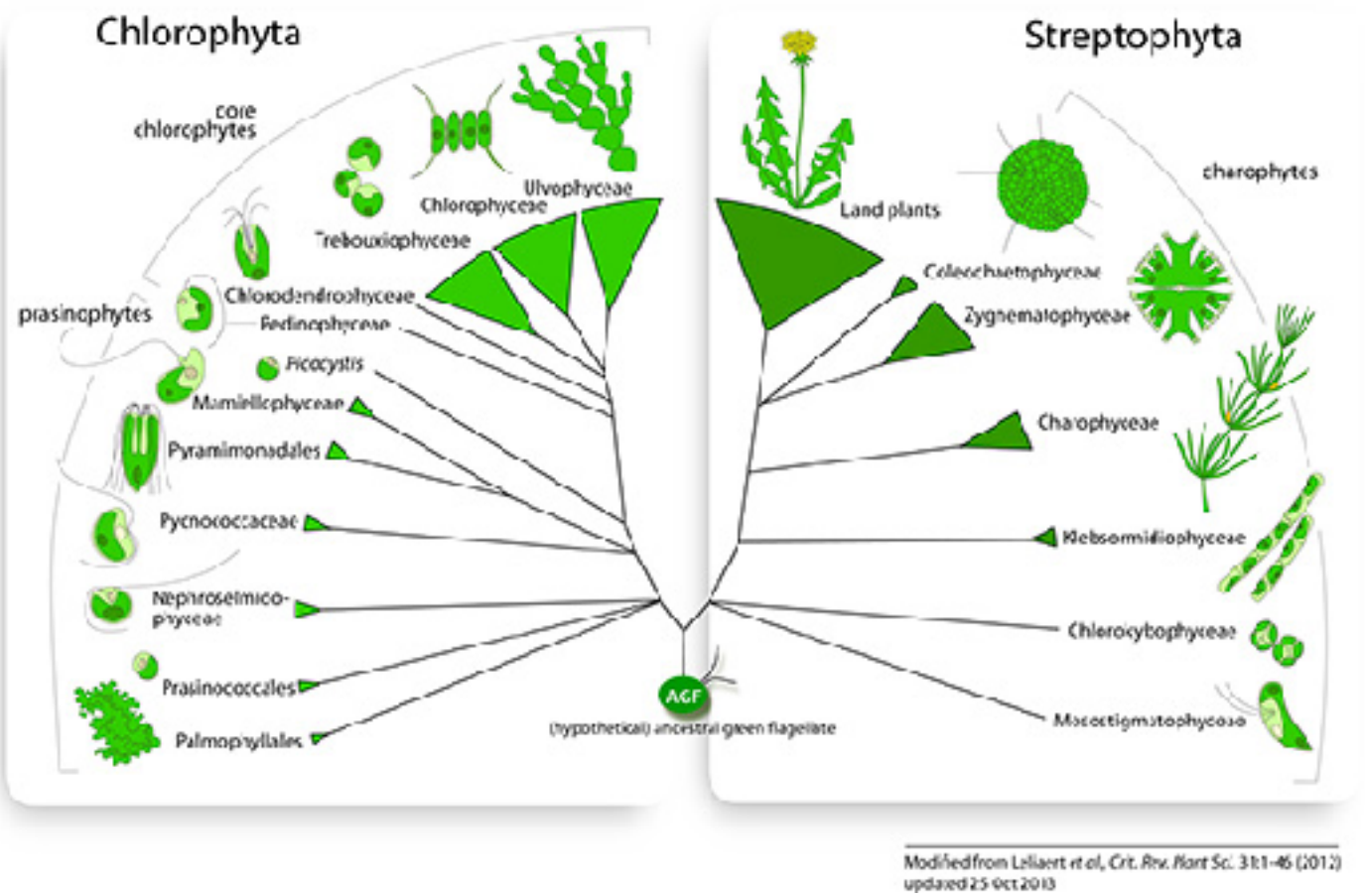


Ulva lactuca, insalata di mare
Classe Ulvophyceae
Ordine Ulvales
Famiglia Ulvaceae



Chara vulgaris
Classe Charophyceae
Ordine Charales
Famiglia Characeae

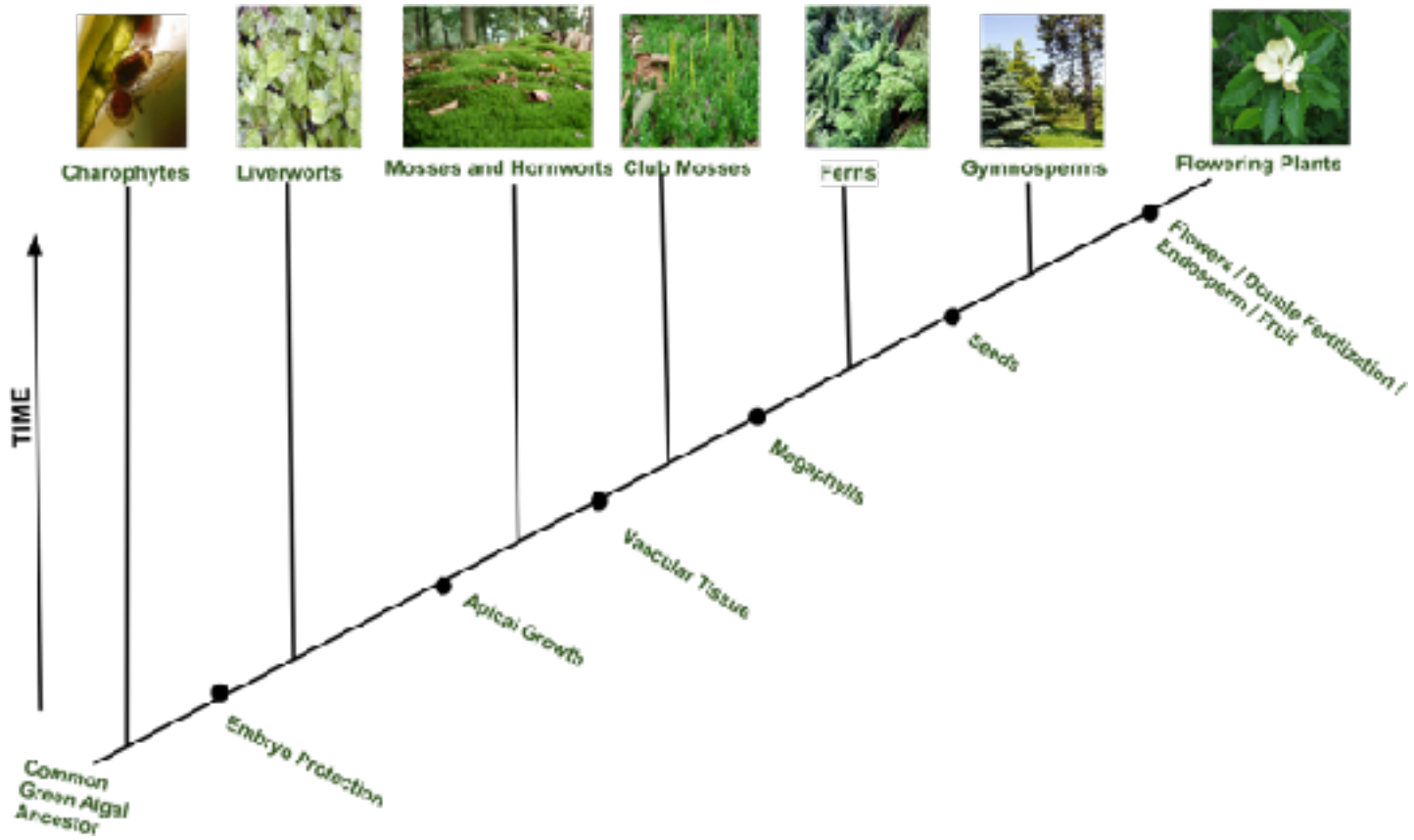




Modified from Leliaert *et al*, *Crit. Rev. Plant Sci.* 31:1-46 (2012)
updated 25 Oct 2013

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





Albero filogenetico delle piante, con i principali eventi evolutivi



Piante



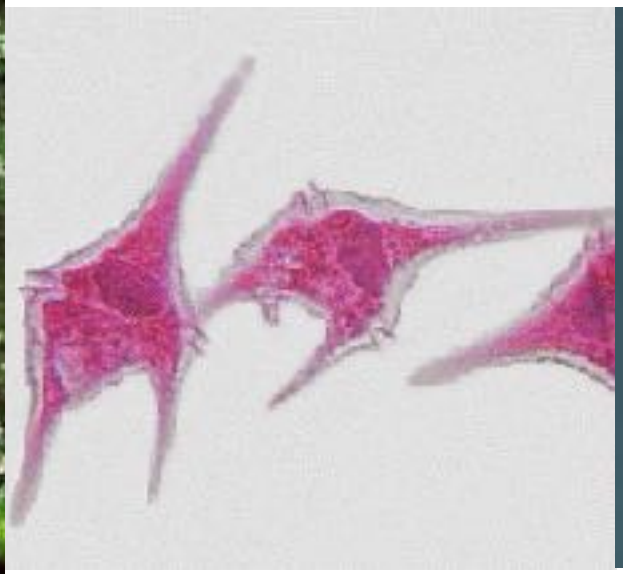
Centaurea kartschiana
Famiglia Asteraceae



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).




ONCE UPON
A TIME



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.

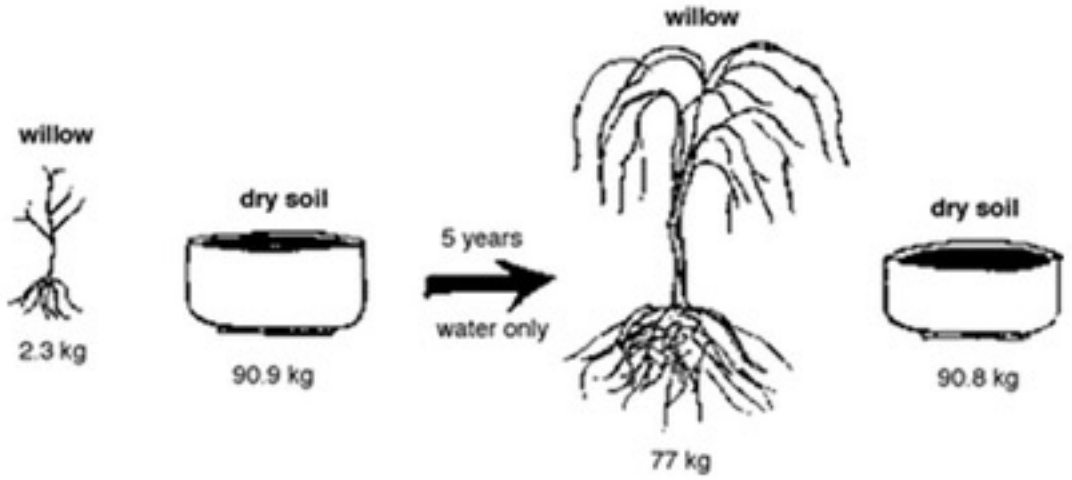
Con un semplice ma efficace esperimento, circa 400 anni fa, in uno dei primi esperimenti biologici accuratamente documentati, il medico belga **Jean Baptiste van HELMONT** (ca. 1577-1644), offrì la prima prova sperimentale che il terreno da solo non bastava a nutrire una pianta.
Egli è noto anche per essere colui che inventò la ricetta per generare i topi….





….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







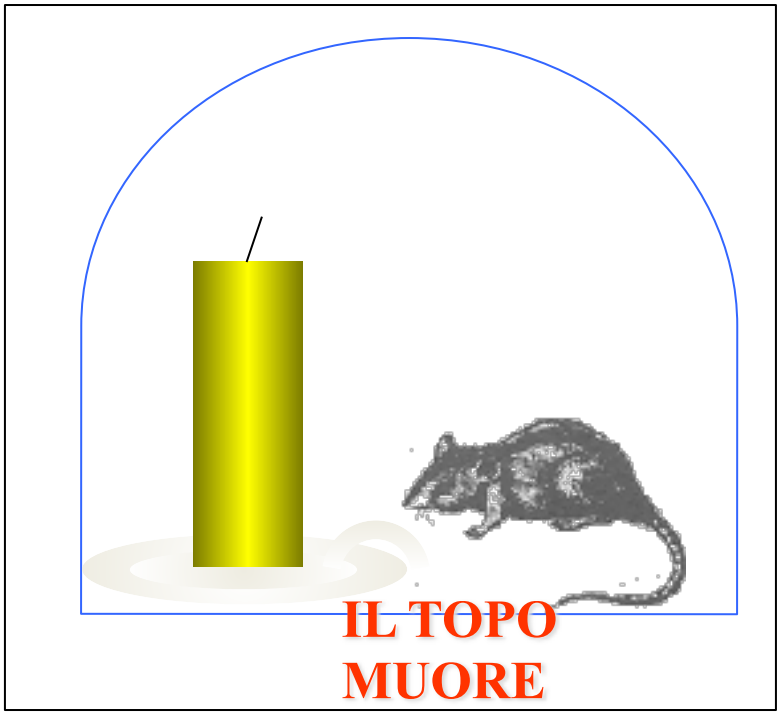
J.B. van HELMONT

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.

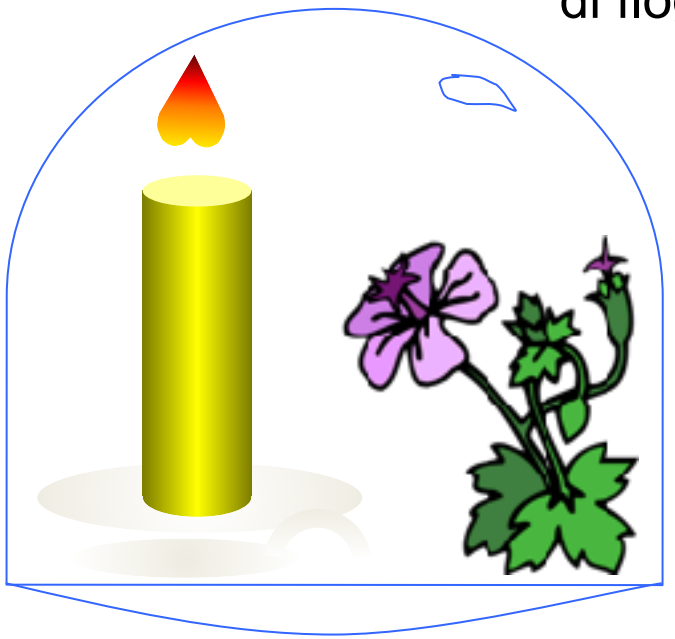






J. PRIESTLEY

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".



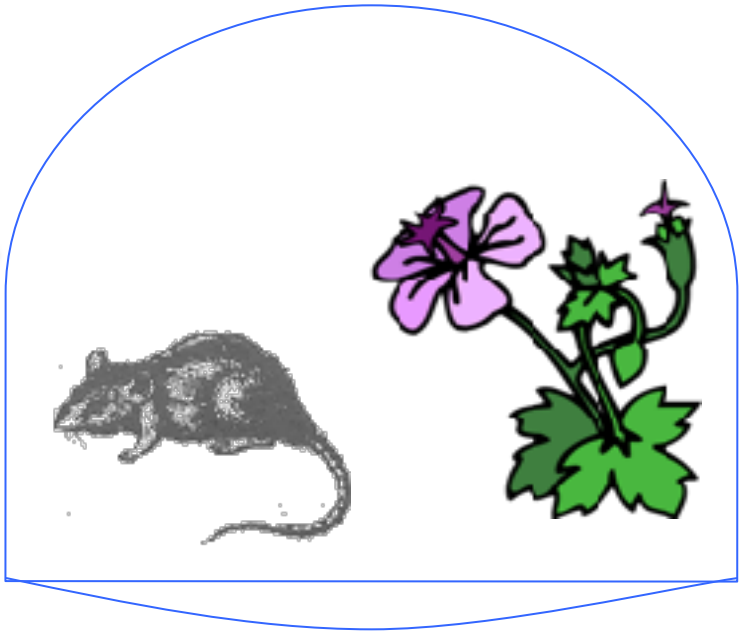
Il 27 dello stesso mese Priestley constatava che in quella stessa aria poteva bruciare un'altra candela.



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.



Antoine Laurent Lavoisier

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)



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:

$$\text{Alimenti} + O_2 \longrightarrow CO_2 + H_2O + \text{energia}$$





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:

$$CO_2 \xrightarrow{\text{Luce}} C_{\text{zuccheri}} + O_2$$

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 $(\mathbf{CH_2O})_n$ 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.

$$CO_2 + H_2O \xrightarrow{\text{Luce}} (CH_2O) + O_2$$

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:

$$CO_2 + 2H_2S \xrightarrow{\text{luce}} (CH_2O) + H_2O + 2S$$

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:

$$CO_2 + 2H_2A \xrightarrow{\text{luce}} (CH_2O) + H_2O + 2A$$



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

Nelle alghe e nelle piante verdi H_2A sta per H_2O e **2A** sta per **O_2** («fotosintesi ossigenica»).

In poche parole, van Niel ipotizzava che ad essere scissa fosse l'H_2O, non la CO_2.

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

$$CO_2 + 2H_2{}^{18}O \xrightarrow{\text{Luce}} (CH_2O) + H_2O + {}^{18}O_2$$



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’accettare 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:

$$6CO_2 + 12H_2O \xrightarrow{\text{Luce}} C_6H_{12}O_6 + 6H_2O + 6O_2$$

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:

$$3CO_2 + 6H_2O \xrightarrow{\text{Luce}} C_3H_6O_3 + 3H_2O + 3O_2$$



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 $NADPH+H^+$ (= potere riducente), e ATP, che saranno utilizzati nella fase oscura.

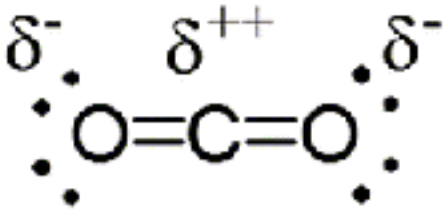
Nella **fase oscura** predominano le reazioni enzimatiche che, sfruttando l'ATP e il NADPH, legano la molecola di CO_2 ad una molecola organica preesistente, e finalmente riducono l'atomo di carbonio.



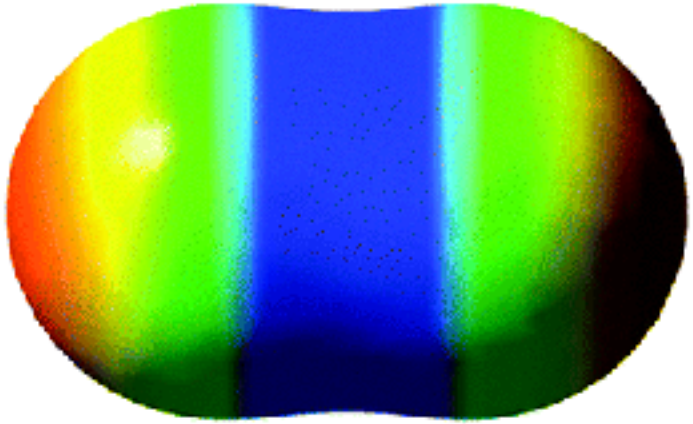
Vista la forte elettronegatività dell'ossigeno, nell'anidride carbonica gli elettroni sono spostati verso di esso, e di fatto l'atomo di carbonio è in uno stato ossidato +4, ovvero ha "perso" 4 elettroni, due a favore di ciascun atomo di ossigeno.

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

A



B





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

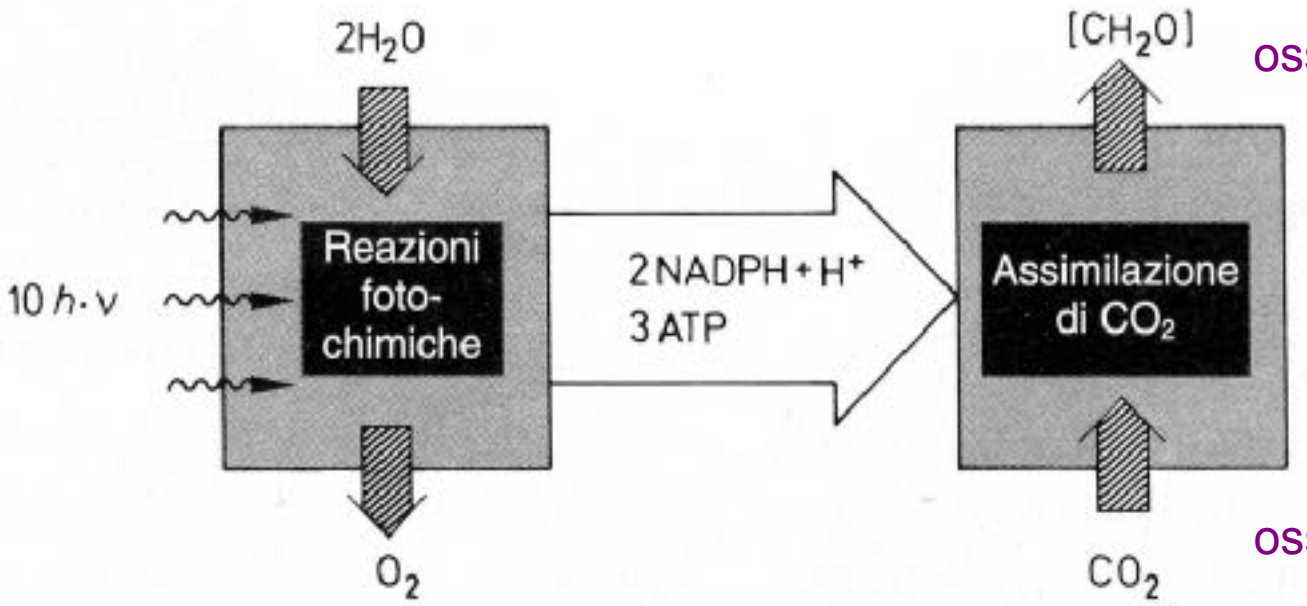
Quando viene utilizzato per ridurre un’altra molecola, ridiventa NADP+.

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



FASE LUMINOSA

FASE OSCURA



Stato di ossidazione del carbonio: **0**

Stato di ossidazione del carbonio: **+4**

DIPENDENTE DALLA LUCE

DIPENDENTE DAI PRODOTTI DELLA FASE LUMINOSA

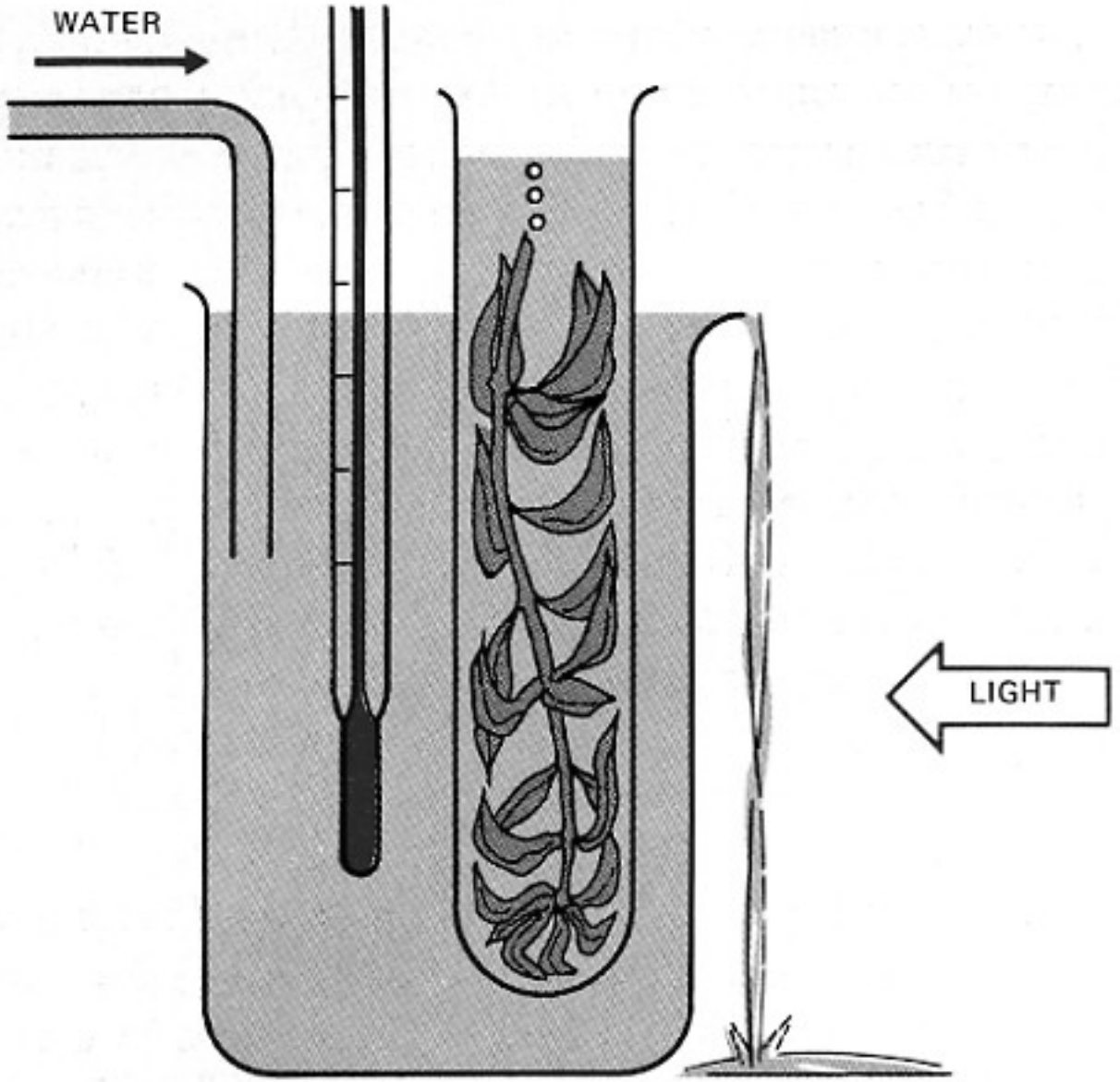


Le prime prove per un processo a due fasi furono pubblicate nel 1905 dal fisiologo vegetale inglese **F.F. Blackman**.

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

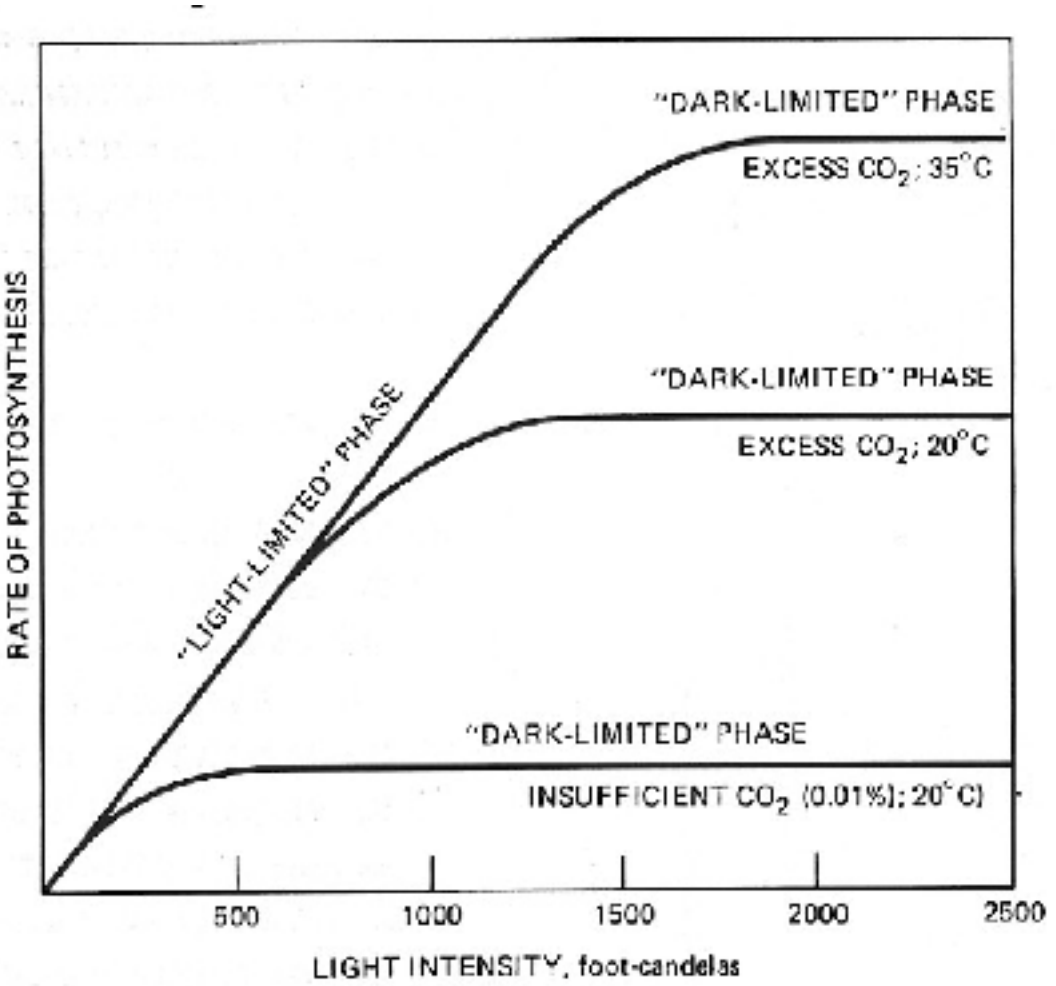
L'esperimento di Blackman usava una pianta acquatica del genere *Elodea*. Un ramo di *Elodea* veniva immerso in una soluzione di $NaHCO_3$. Nell'ambiente sperimentale, Blackman poteva variare o mantenere costanti sia la temperatura che l'intensità luminosa, che la concentrazione di $NaHCO_3$ (lo ione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




WATER
LIGHT



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.

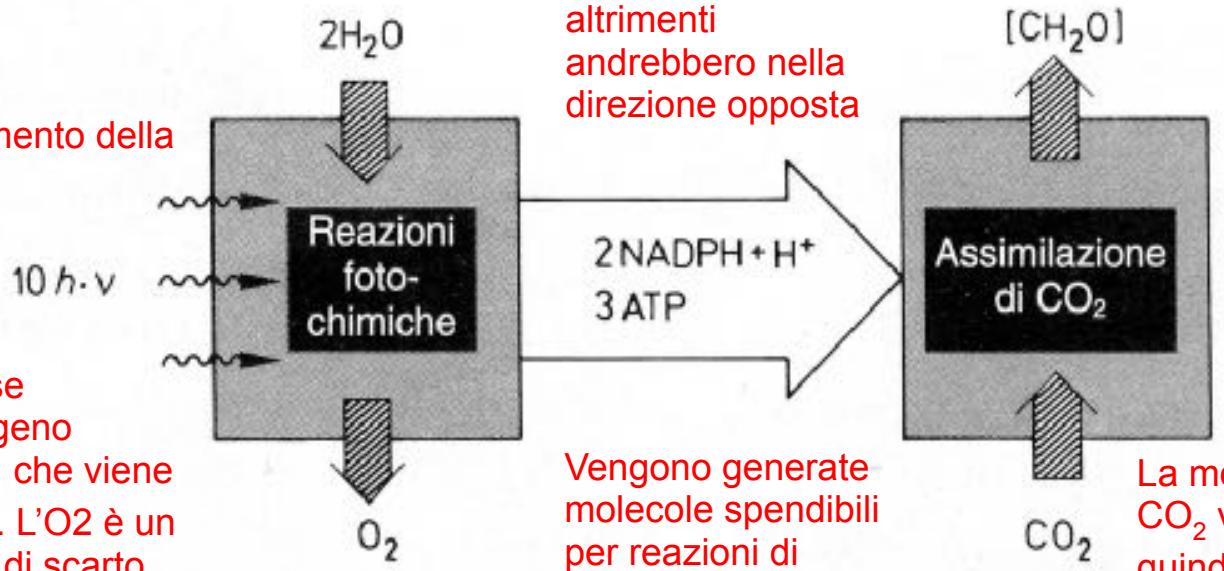
In atmosfera, la quantità di anidride carbonica disponibile è di 35 parti per milione, ovvero il 0.035%. Tuttavia vedremo che non sempre le piante hanno a disposizione un quantitativo così "elevato", ma spesso sono costrette a lavorare con molto meno.



FASE LUMINOSA

FASE OSCURA

L'energia assorbita permette delle reazioni che altrimenti andrebbero nella direzione opposta



Assorbimento della luce

…a spese dell'ossigeno dell'H_2O, che viene ossidato. L'O2 è un prodotto di scarto

Vengono generate molecole spendibili per reazioni di riduzione e di «energicizzazione» molecolare

La molecola della CO_2 viene legata, quindi il suo C ridotto

DIPENDENTE DALLA LUCE

DIPENDENTE DAI PRODOTTI DELLA FASE PRECEDENTE



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).



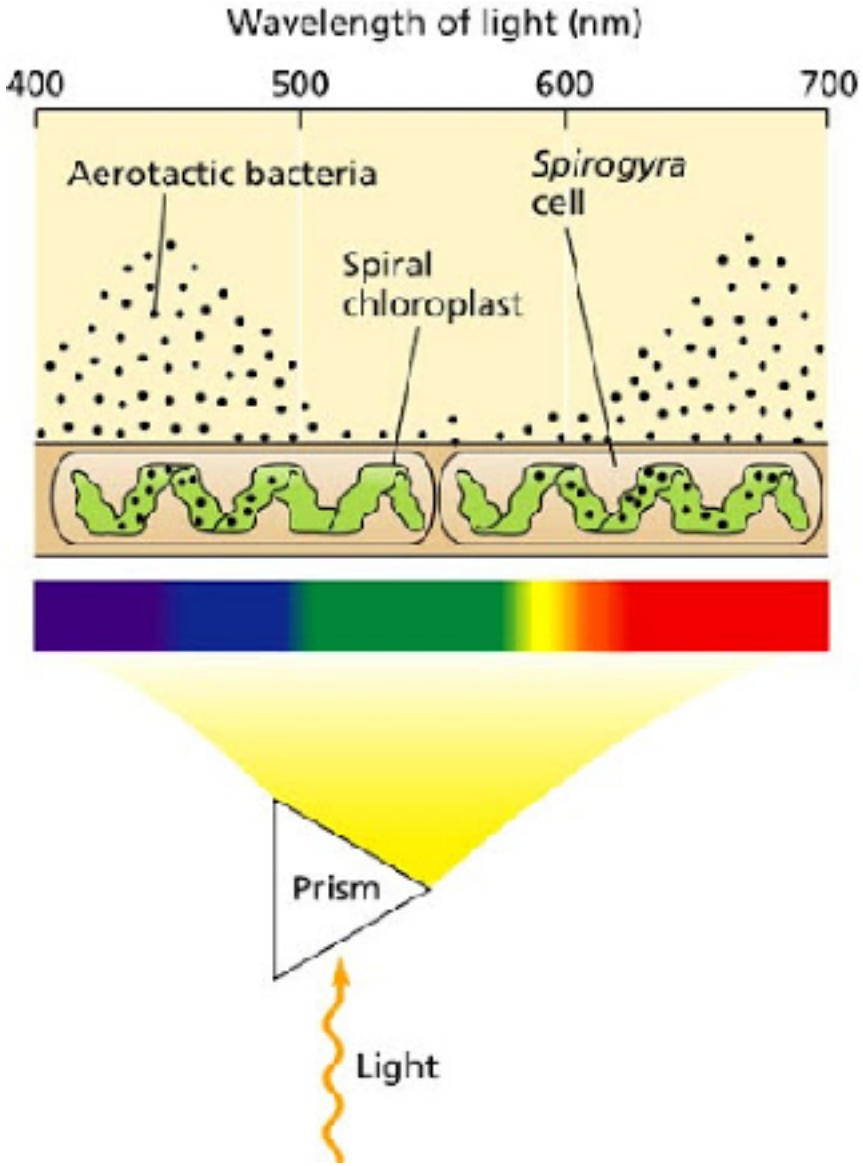
Il nome di “fase oscura” è alquanto infelice in quanto essa comunque avviene in presenza di luce in quanto
(a) richiede i prodotti della fase luminosa;
(b) alcuni enzimi sono addirittura attivati dalla luce.

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

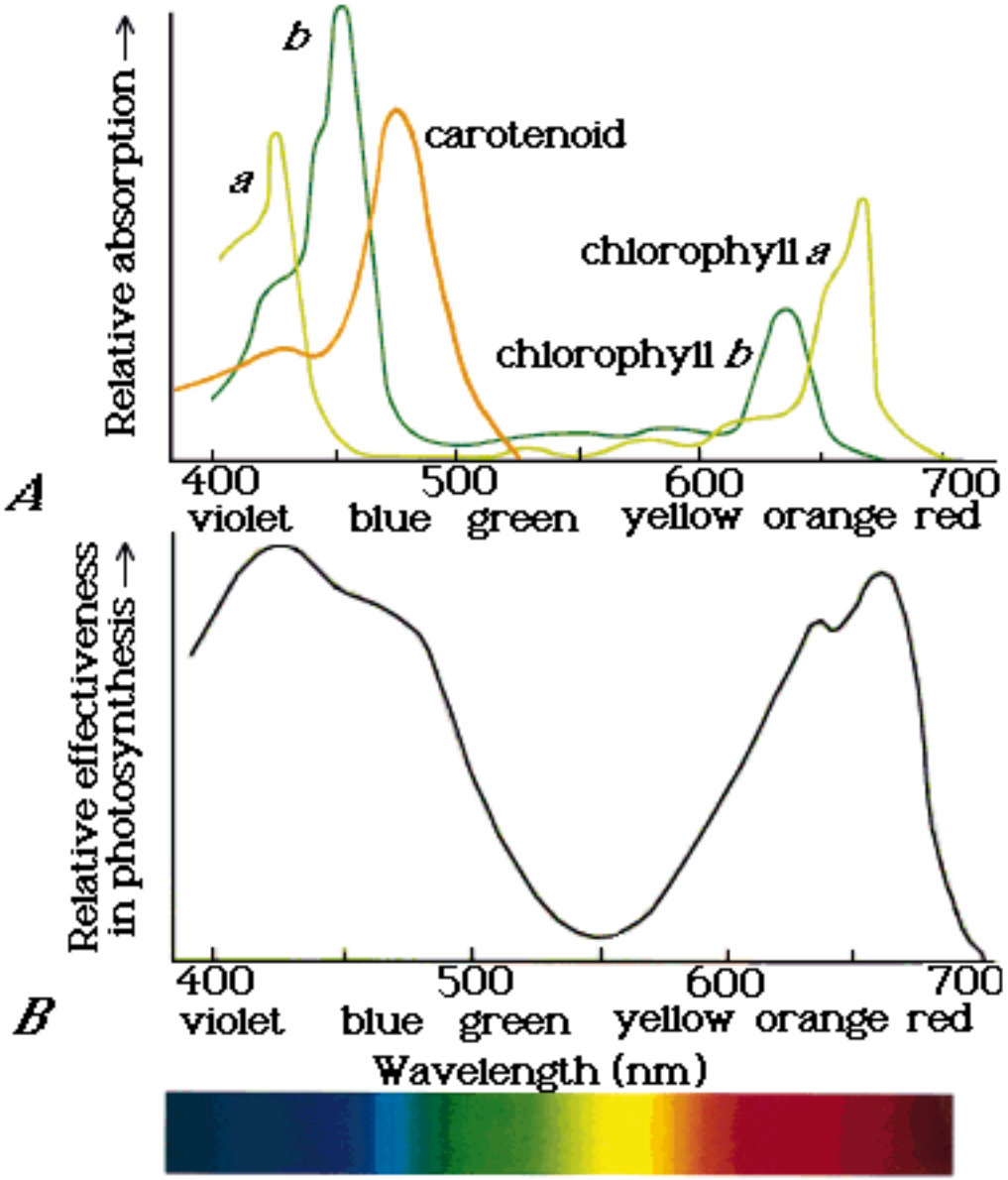
La comprensione delle lunghezze d’onda capaci di attivare la fotosintesi venne da un elegante esperimento di **Theodore Wilhelm Engelmann** (1843-1909), nel 1882. Volendo comprendere lo spettro d’azione della fotosintesi, usò come organismo modello un’alga filamentosa del genere *Cladophora*.



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.

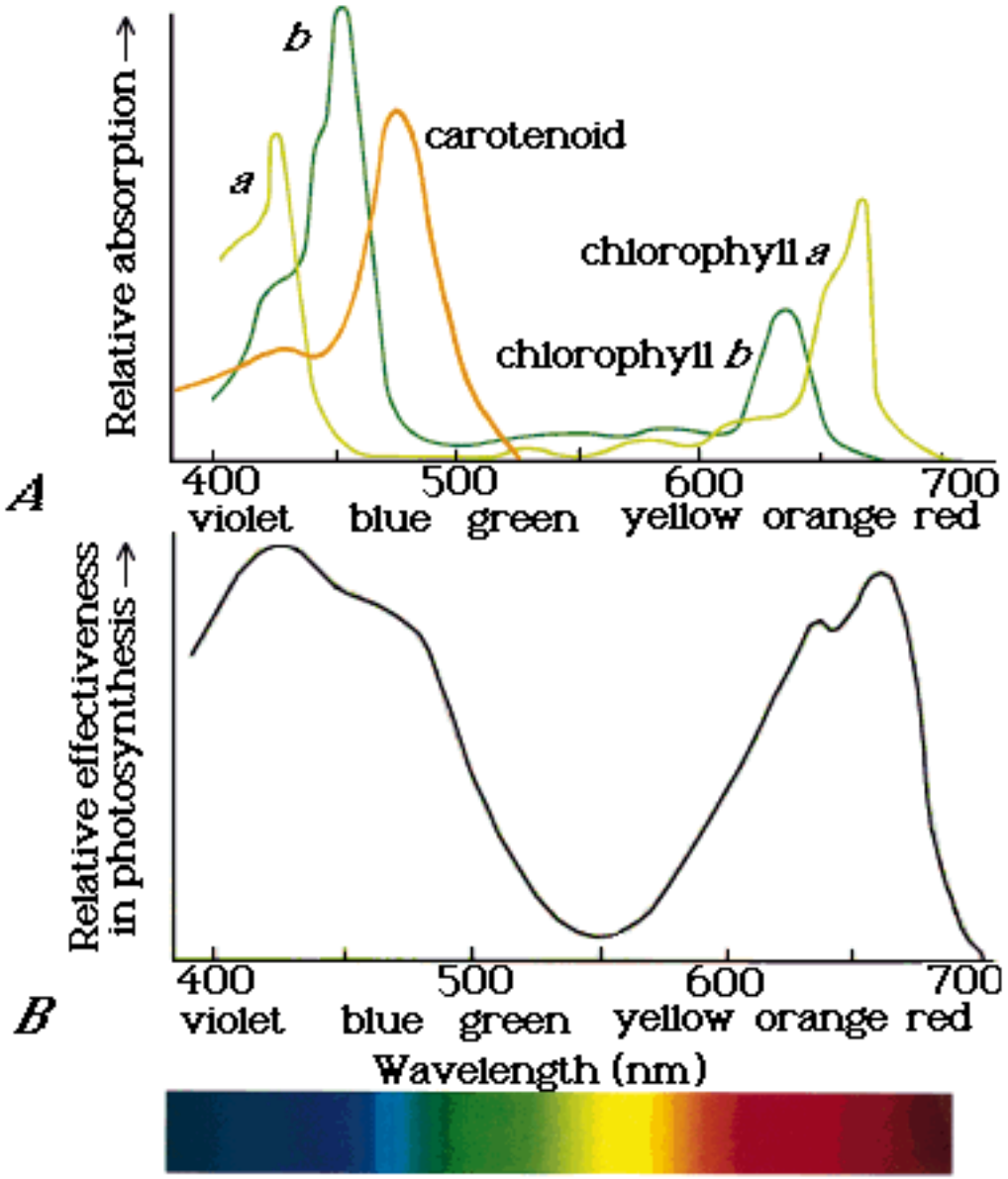


Un altro aspetto ormai consolidato legato alla fase luminosa derivò dagli esperimenti di **Emerson**, che descrisse (1957) un fenomeno ora noto come **effetto Emerson**: l'assorbimento della luce è legato alla presenza di due gruppi macromolecolari distinti, a cui sono associate specifiche reazioni fotochimiche.

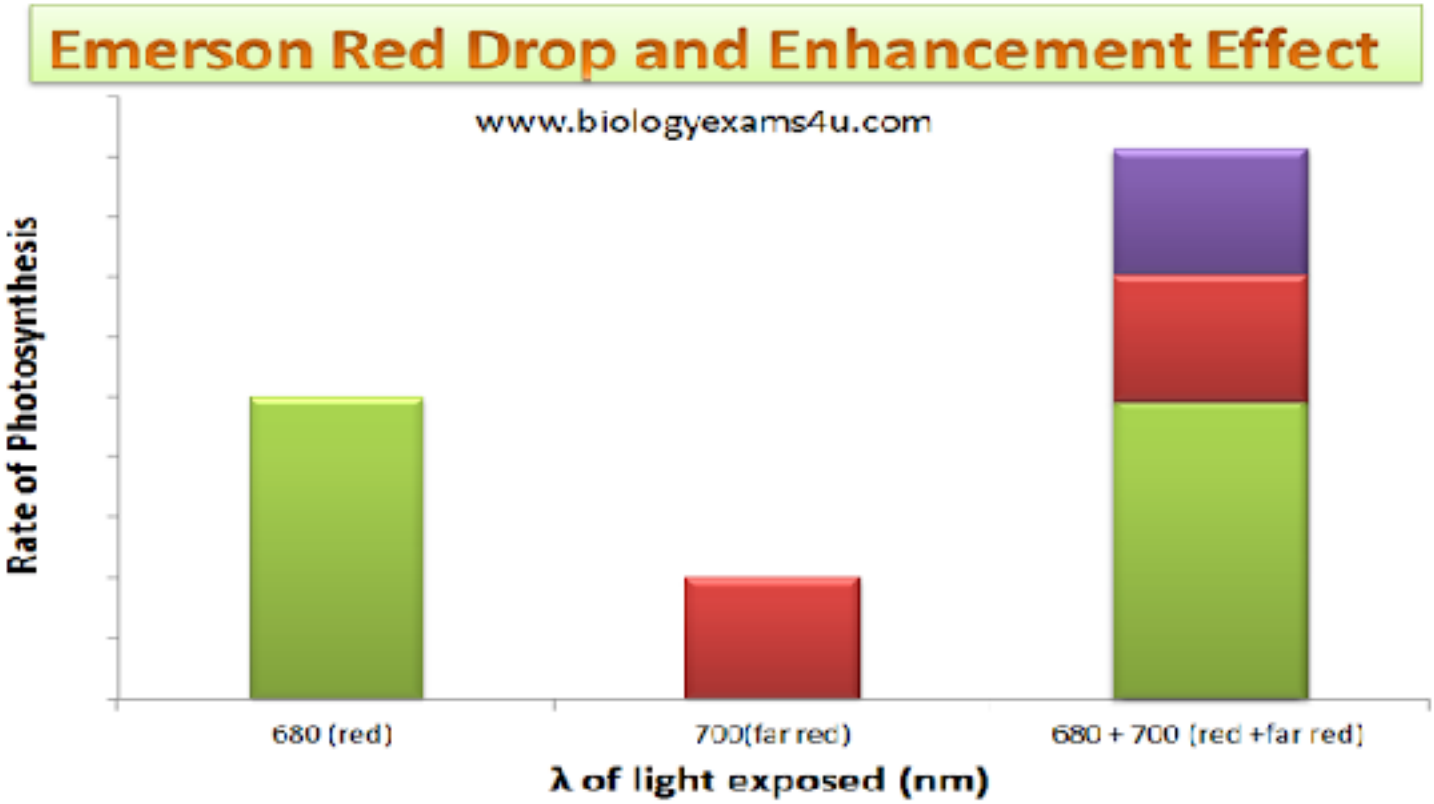
Emerson giunse a queste conclusioni studiando l'efficienza fotosintetica nella porzione rossa dello spettro. Questa scelta era dovuta a due fattori:

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.




Relative absorption →
b
a
carotenoid
chlorophyll a
chlorophyll b
400
500
600
700
violet
blue
green
yellow
orange
red
A
Relative effectiveness in photosynthesis →
400
500
600
700
violet
blue
green
yellow
orange
red
B
Wavelength (nm)





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 O_2 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.

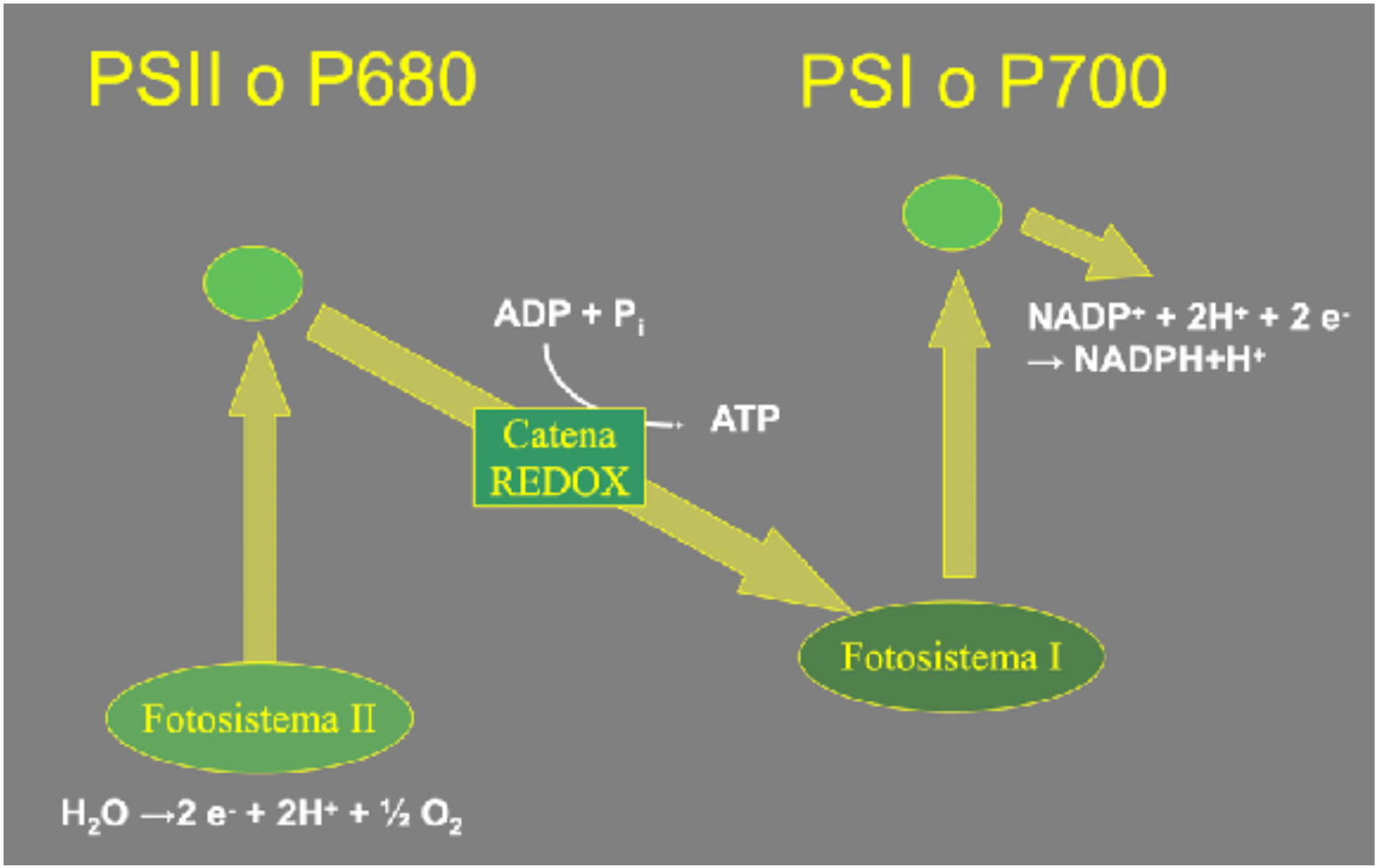


Nasceva cosi l'idea di
unità fotosintetiche o
FOTOSISTEMI,
che sono di due tipi (I e II).

L'acronimo è **PS**, che sta per
Photo**S**ystem(s)



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





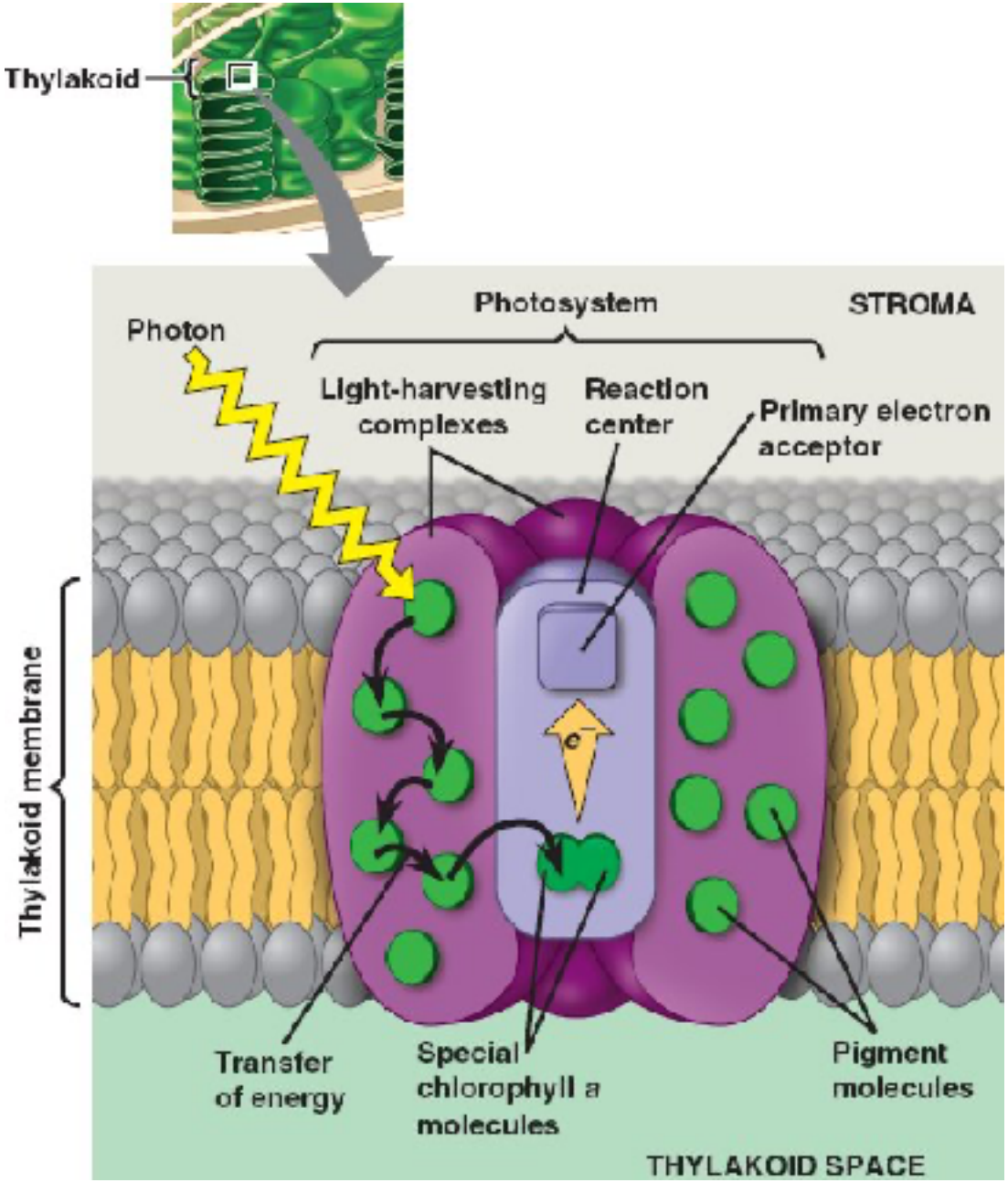
I fotosistemi sono complessi di molecole inseriti nelle membrane tilacoidali dei cloroplasti. Le sigle che li contraddistinguono, P680 e P700, sono le lunghezze d'onda di massimo assorbimento delle clorofille negli "*special pair"* dei centri di reazione.

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 "raccogliere" 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.




Thylakoid
Photosystem
STROMA
Photon
Light-harvesting complexes
Reaction center
Primary electron acceptor
Thylakoid membrane
Transfer of energy
Special chlorophyll a molecules
Pigment molecules
THYLAKOID SPACE

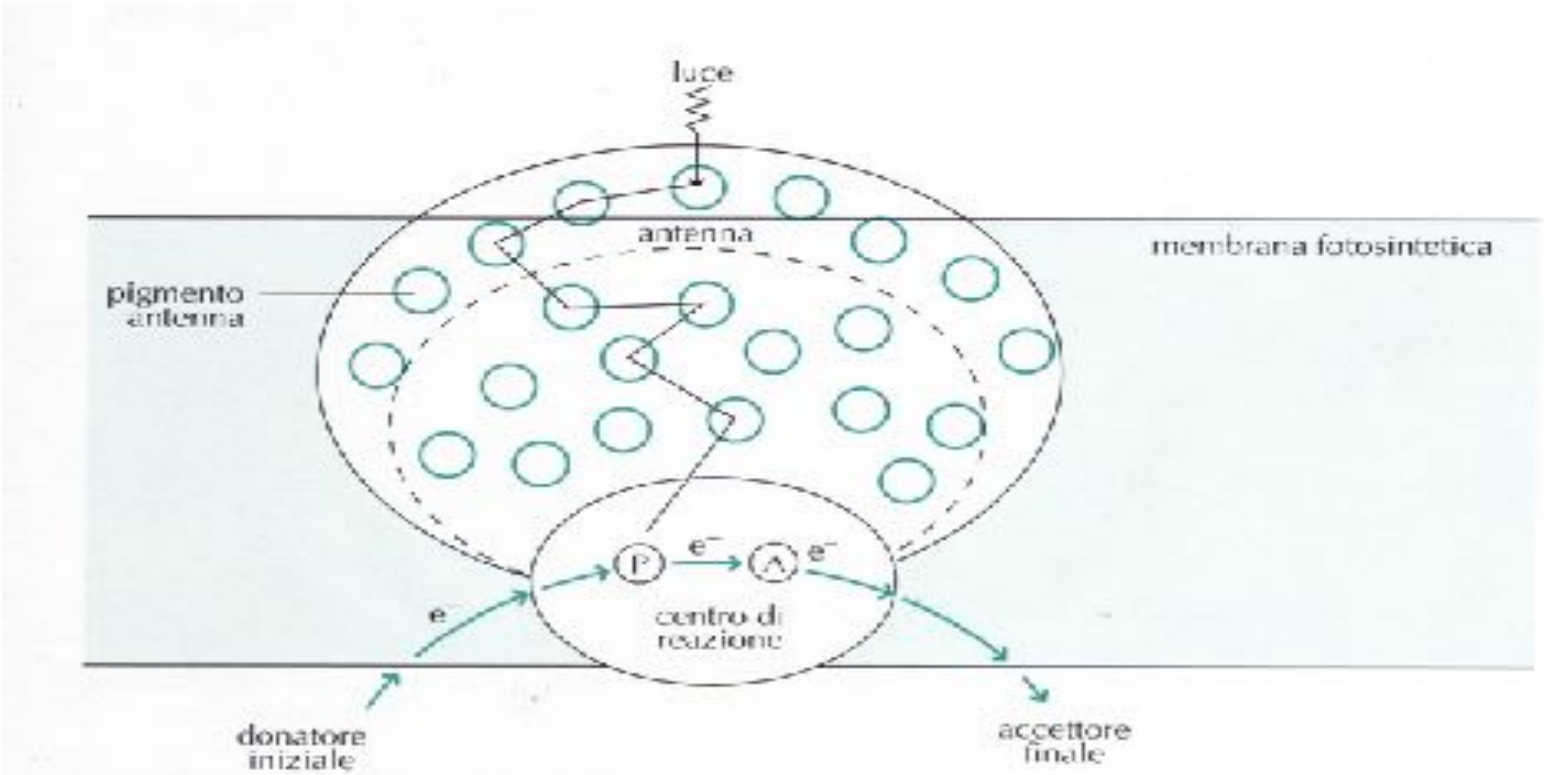


CLOROFILLE

CAROTENOIDI

FICOBILIPROTEINE (limitate a *Cyanophyta, Rhodophyta, Cryptophyta*)

PROTEINE STRUTTURALI





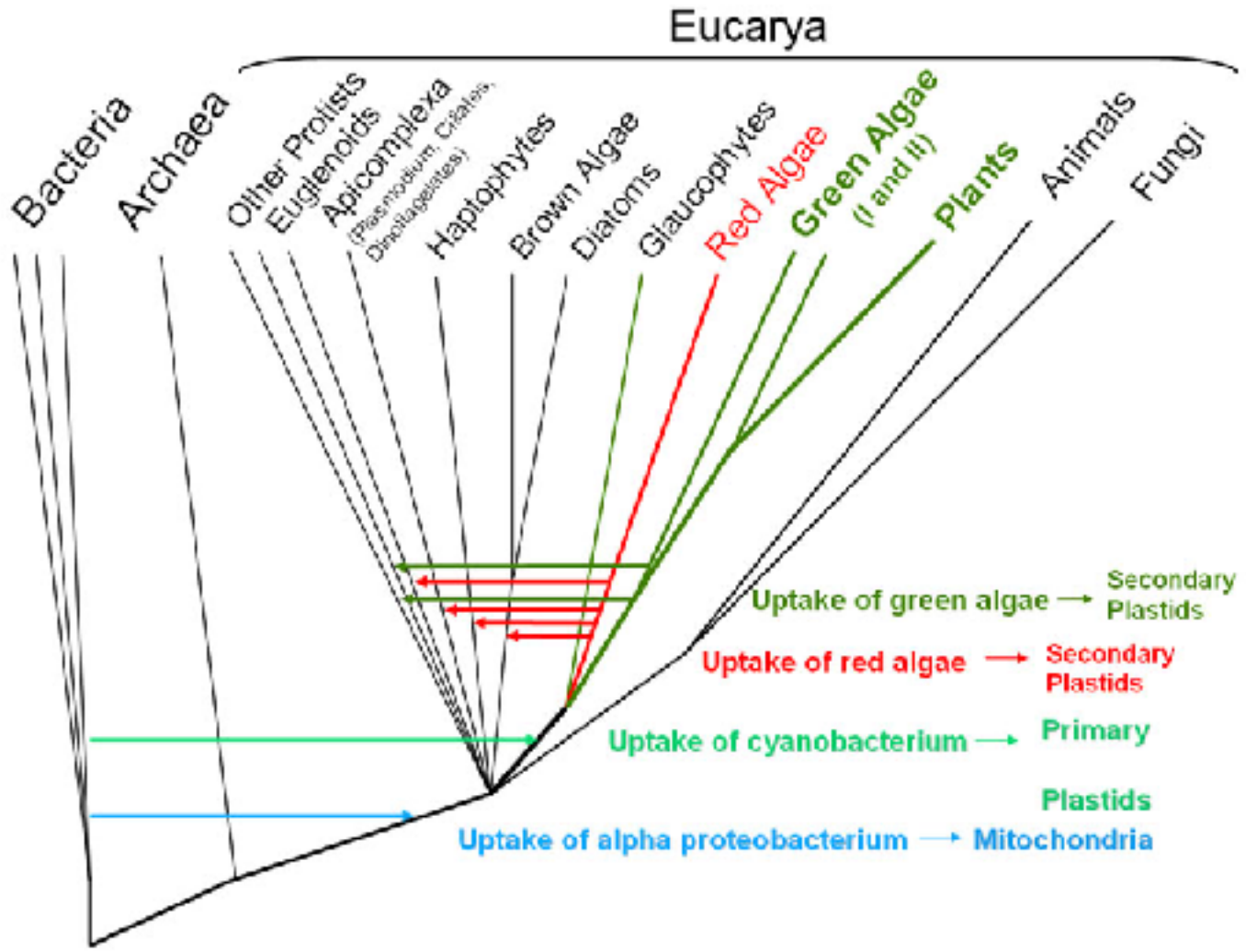


Cloroplasti nella foglia di peste d'acqua (*Elodea canadensis* Michx., fam. Hydrocharitaceae). x 1000 (*950*)








Eucarya
Bacteria
Archaea
Other Protists
Euglenoids
Apicomplexa
(Plasmodium, Cryptos, Dinoflagellates)
Haptophytes
Brown Algae
Diatoms
Glaucophytes
Red Algae
Green Algae
(I and II)
Plants
Animals
Fungi
Uptake of green algae → Secondary Plastids
Uptake of red algae → Secondary Plastids
Uptake of cyanobacterium → Primary Plastids
Uptake of alpha proteobacterium → Mitochondria

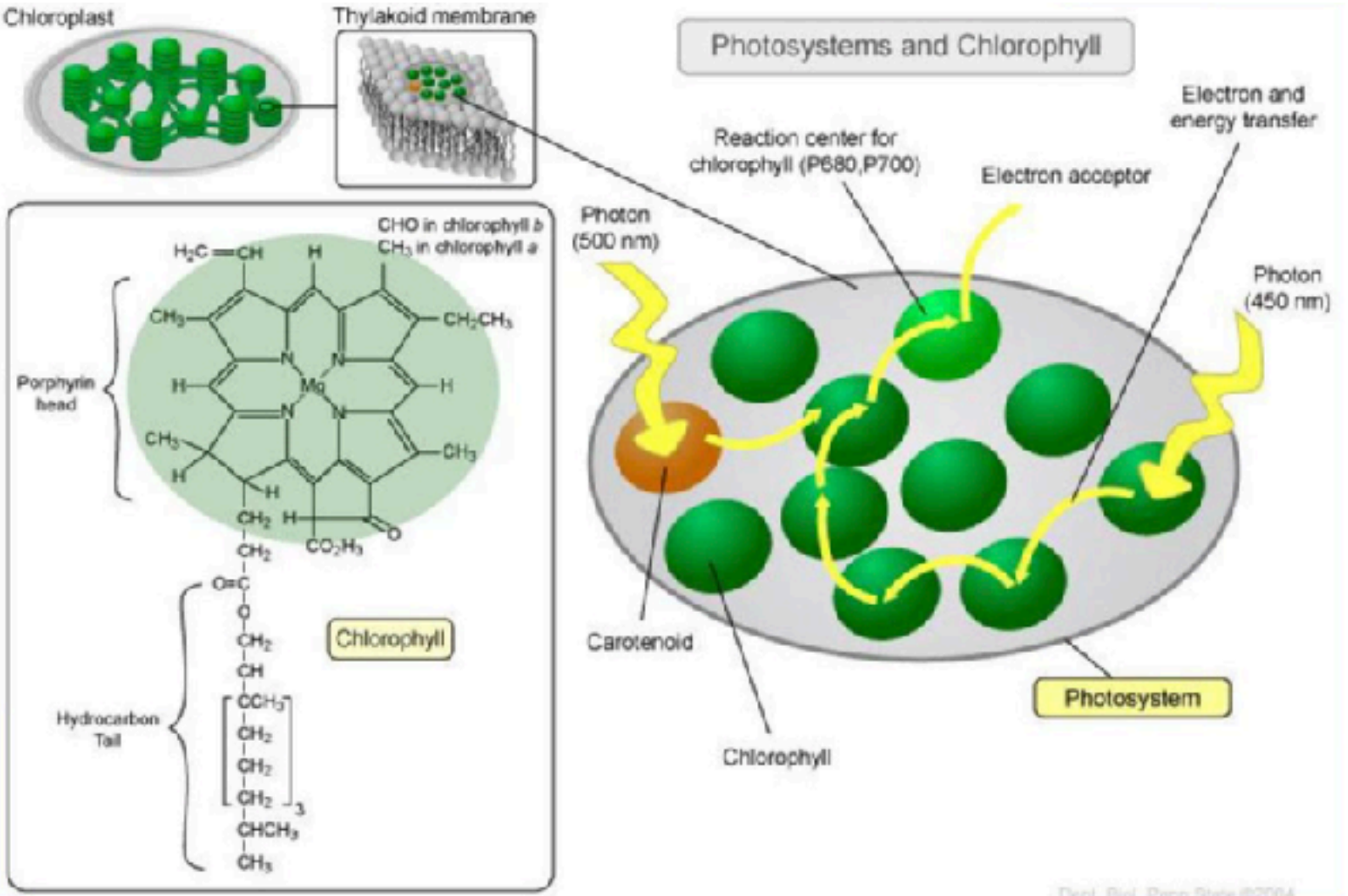


Almeno un nuovo evento, molto recente, di endosimbiosi primaria è stato riscontrato in alcune specie del genere *Paulinella*. Si tratta di organismi ameboidi, in cui l'endosimbiosi di un cianobatterio, probabilmente di un "sister group" dei gruppi di cianobatteri *Synechoccus* è avvenuta in tempi relativamente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

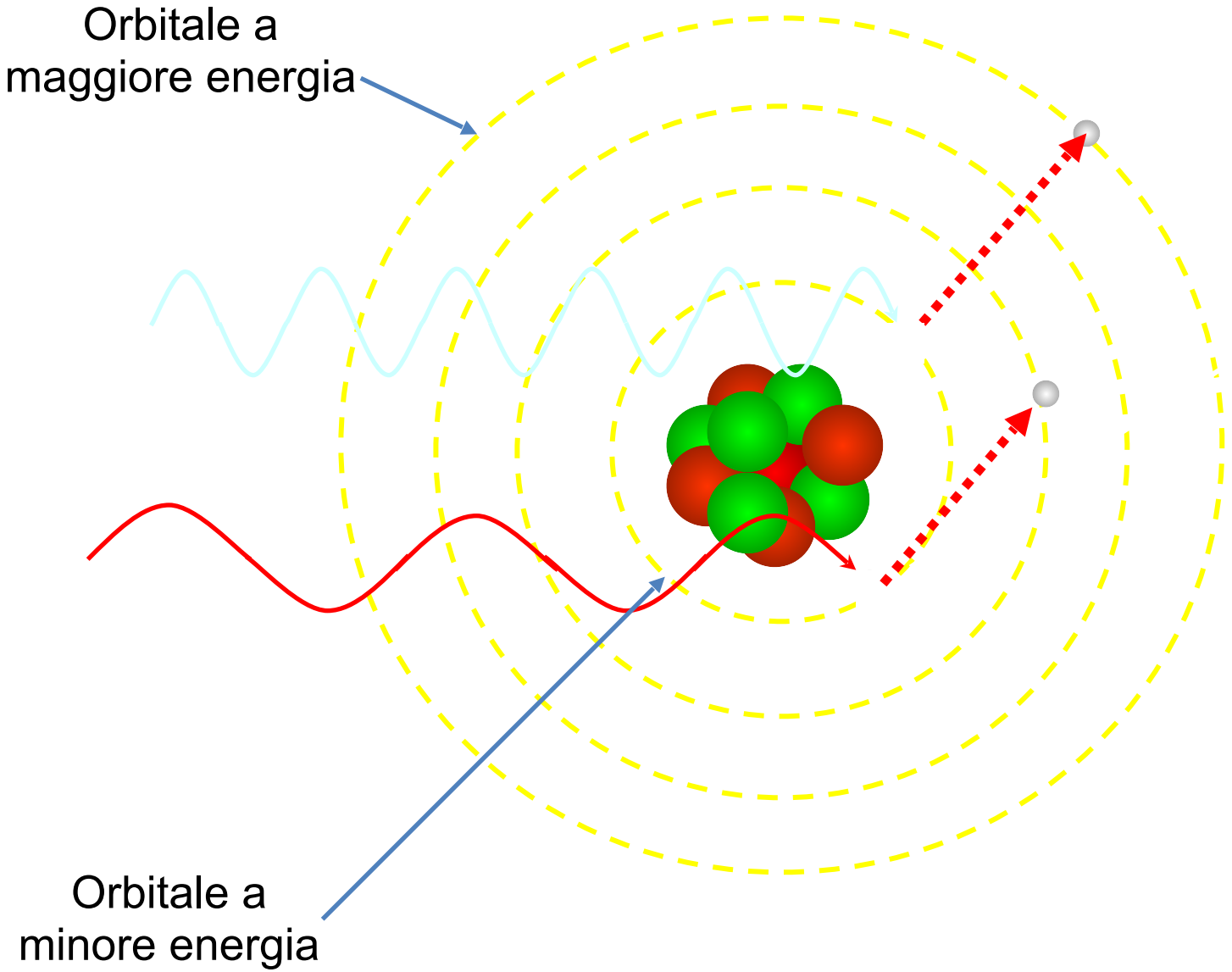
Il genoma dei plastidi in *Paulinella* ha dimensioni molto più elevate di quello dei plastidi più "antichi", segno che la fase di riduzione del genoma conseguente all'endosimbiosi è probabilmente ancora in atto.






Chloroplast
Thylakoid membrane
Photosystems and Chlorophyll
Electron and energy transfer
Reaction center for chlorophyll (P680,P700)
Electron acceptor
Photon (500 nm)
Photon (450 nm)
CHO in chlorophyll b
CH3 in chlorophyll a
Porphyrin head
Chlorophyll
Hydrocarbon Tail
Carotenoid
Photosystem
Chlorophyll




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".

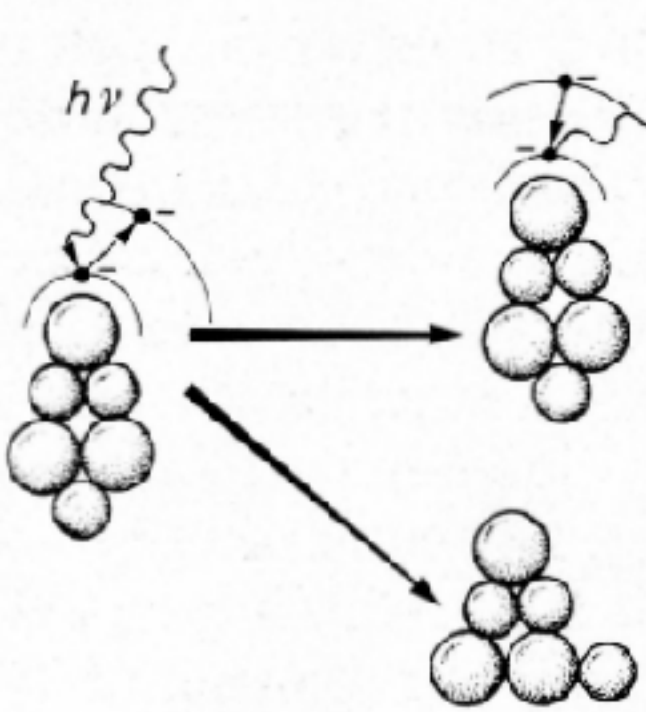
Nel caso dei pigmenti (non solo quelli fotosintetici), la radiazione elettromagnetica deve cadere nel campo del visibile. Per quelli fotosintetici, la lunghezza d'onda massima deve essere di circa 700 nm (anche due vedremo che ci sono alcuni casi particolari, come la clorofilla d).

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

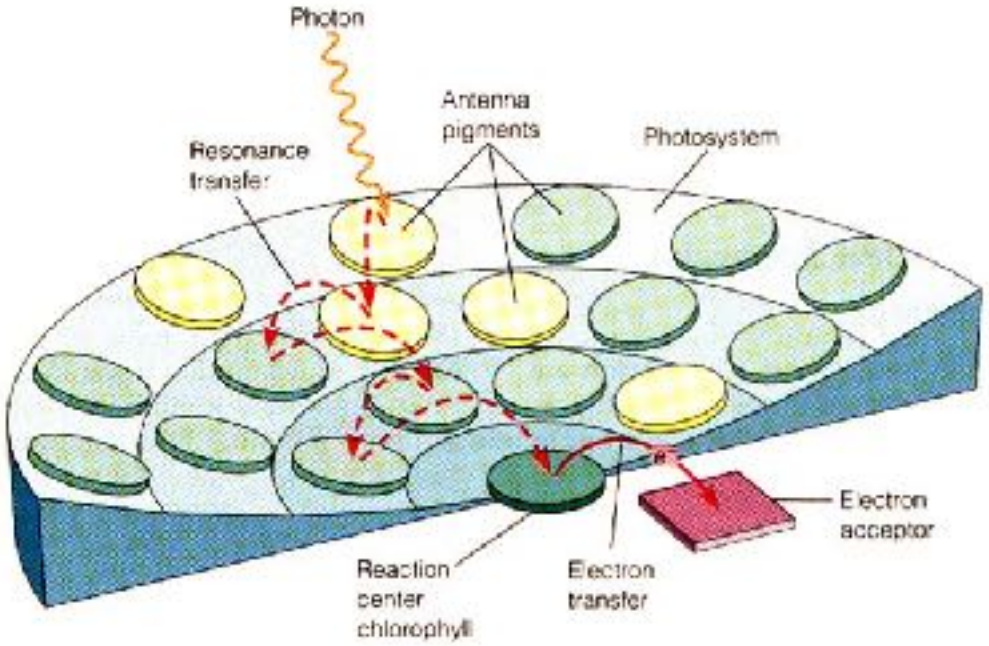


L'elettrone può ricadere sull'orbitale originario. L'energia assorbita viene riemessa. Alla fine del processo la molecola si ritrova inalterata.

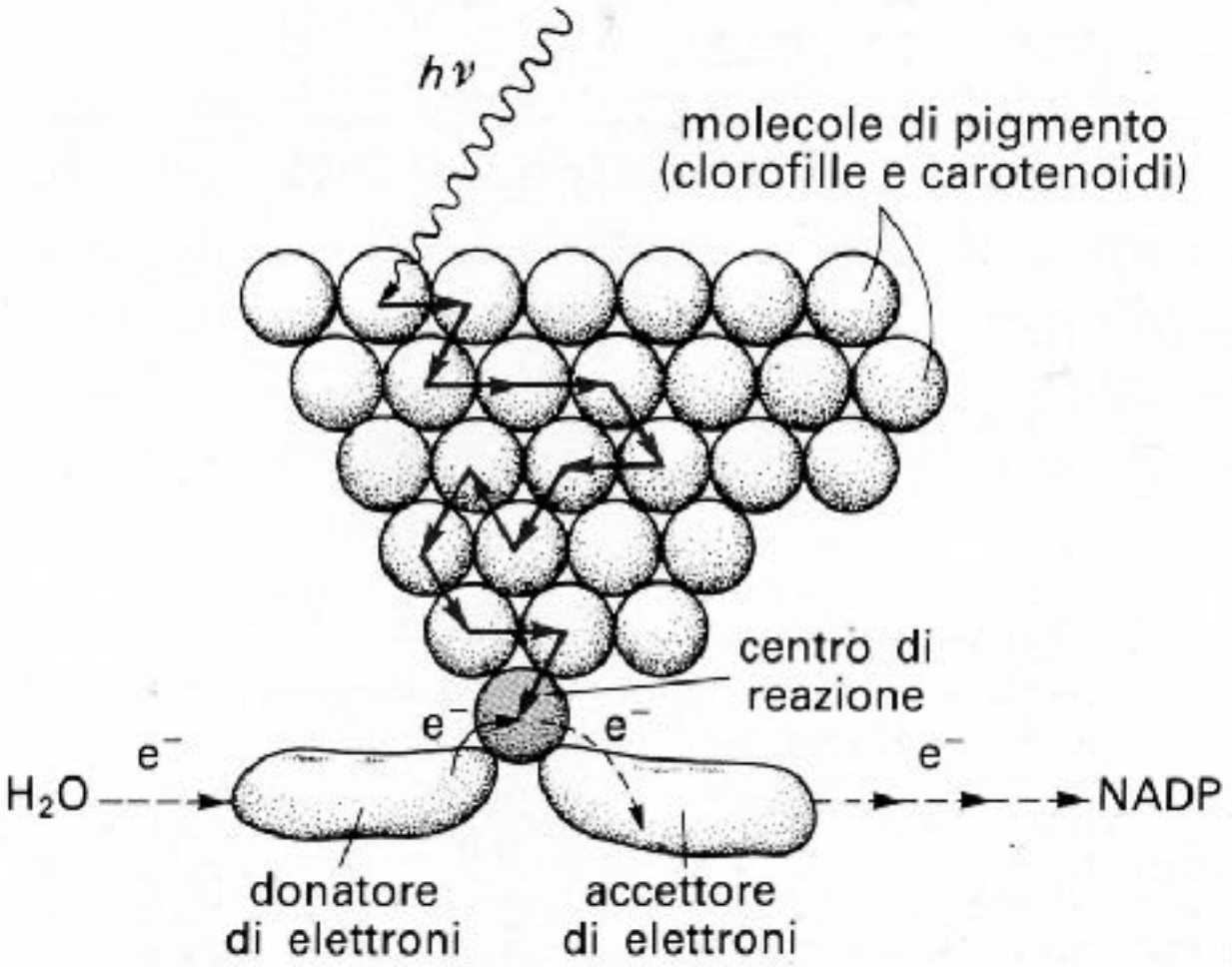
La molecola eccitata entra in una reazione fotochimica. Alla fine del processo troviamo una molecola diversa da quella di partenza.



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 accettare 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.






hν
molecole di pigmento
(clorofille e carotenoidi)
centro di
reazione
e⁻
e⁻
e⁻
e⁻
H₂O
NADP
donatore
di elettroni
accettore
di elettroni



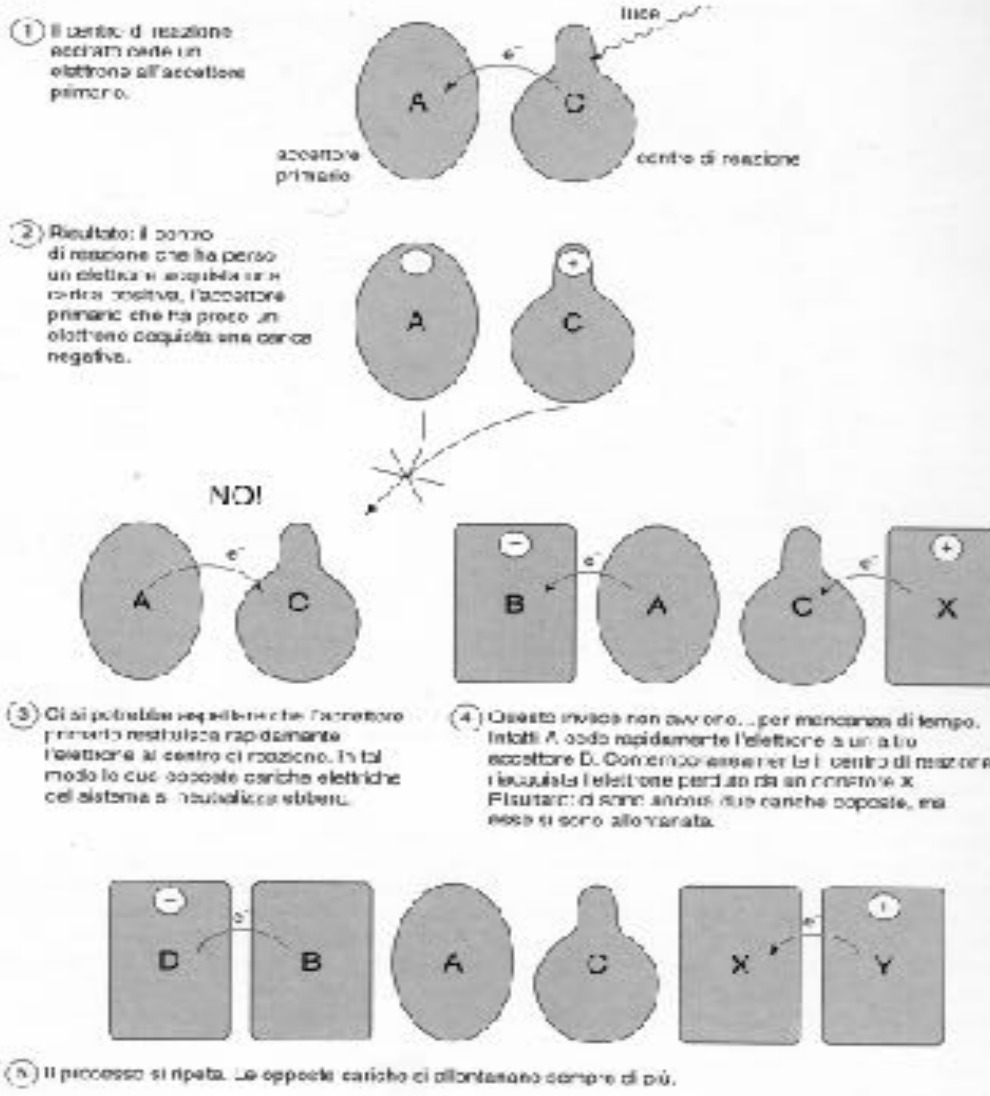


Fig. 13.19 • In seguito all'eccitazione del centro di reazione si forma una coppia di cariche elettriche: il centro di reazione perde un elettrone e quindi acquista una carica positiva mentre un accettore riceve un elettrone e quindi acquista una carica negativa. Una volta separate in questo modo le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



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

Il destino dell’OH è quello di unirsi a un altro OH, liberando acqua, 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.