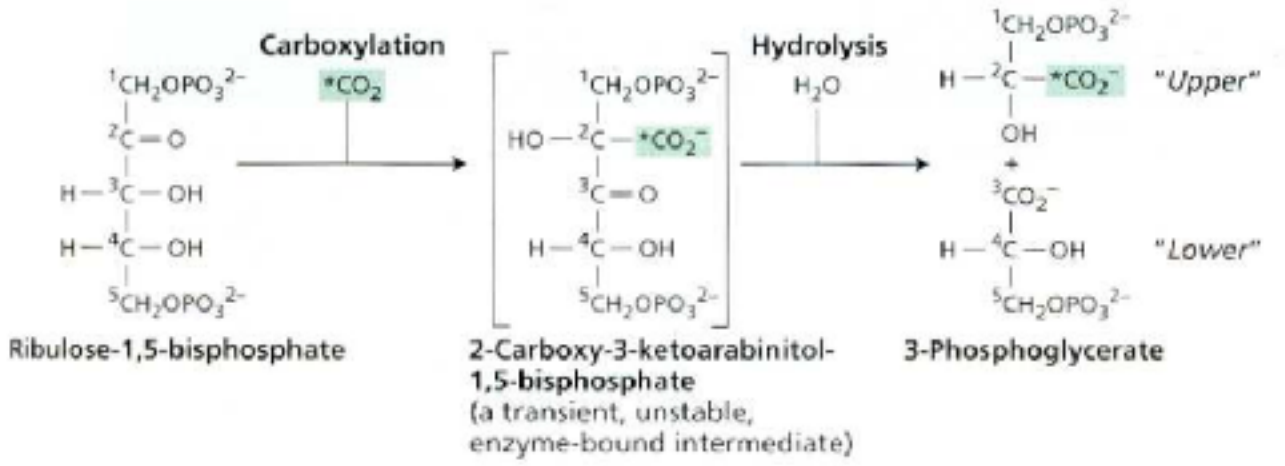

FOTOSINTESI



# Fase di carbossilazione

La prima reazione è una fissazione di **$CO_2$** su un accettore organico, il **pentoso ribulosio 1,5-difosfato** (**RuDP**). Si forma così un intermedio esoso fosfato instabile, che si decompone quasi istantaneamente per idrolisi dando due molecole di **acido 3-fosfoglicerico** (**PGA**).




**$\Delta G = -51\ kJ\ mol^{-1}$**



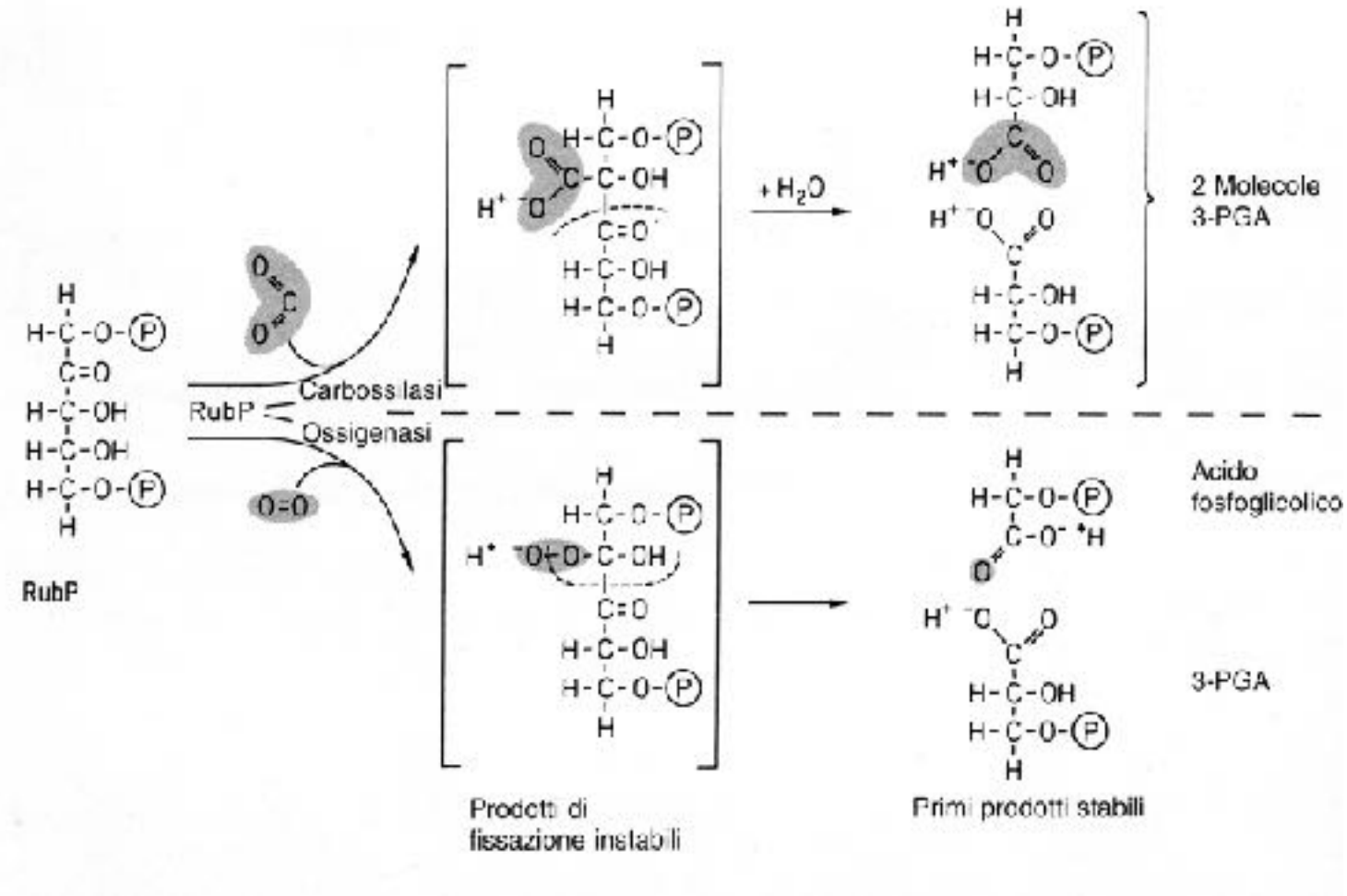
Una piccola parte delle molecole di PGA sono destinate alla **conversione del PGA in glucosio**, la grande maggioranza alla **rigenerazione del RuDP, in un rapporto 1:5**.

Catalizzatore della carbossilazione è l'enzima Ribulosio bifosfato carbossilasi-ossigenasi, detto anche **RUBISCO**, l'enzima più abbondante in natura.

In molti cloroplasti esso costituisce infatti anche il 50% delle proteine totali e, nella biosfera, fino al 20% di tutte le proteine presenti.

La caratteristica più particolare di questo enzima multi-catena sta nel fatto che esso lega al substrato sia $CO_2$ che $O_2$, a seconda della concentrazione dei due gas.




RubP
Carbossilasi
Ossigenasi
O=O
+ $H_2O$
2 Molecole 3-PGA
Acido fosfoglicolico
3-PGA
Prodotti di fissazione instabili
Primi prodotti stabili



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

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

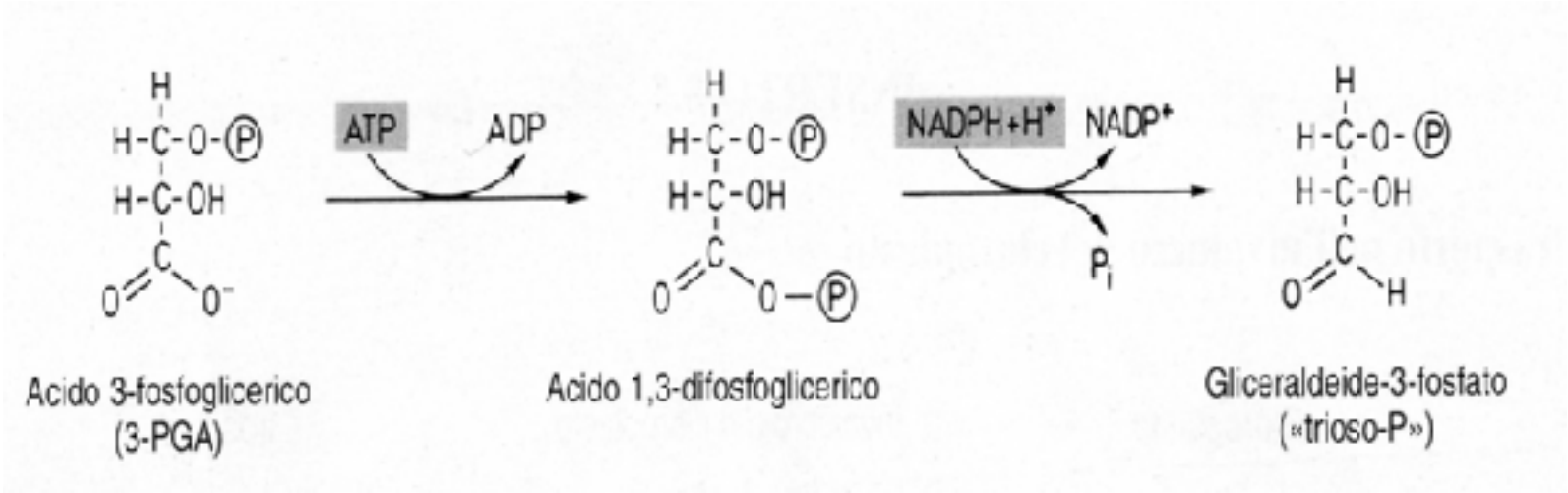
L'unica diversità tra i due opposti processi consiste nel **coenzima riducente**, che nel caso della fotosintesi è l'**NADPH**, nel caso della glicolisi l'**NAD**.

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

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



# Riduzione del PGA




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



Quale è quindi il destino della G3P?

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

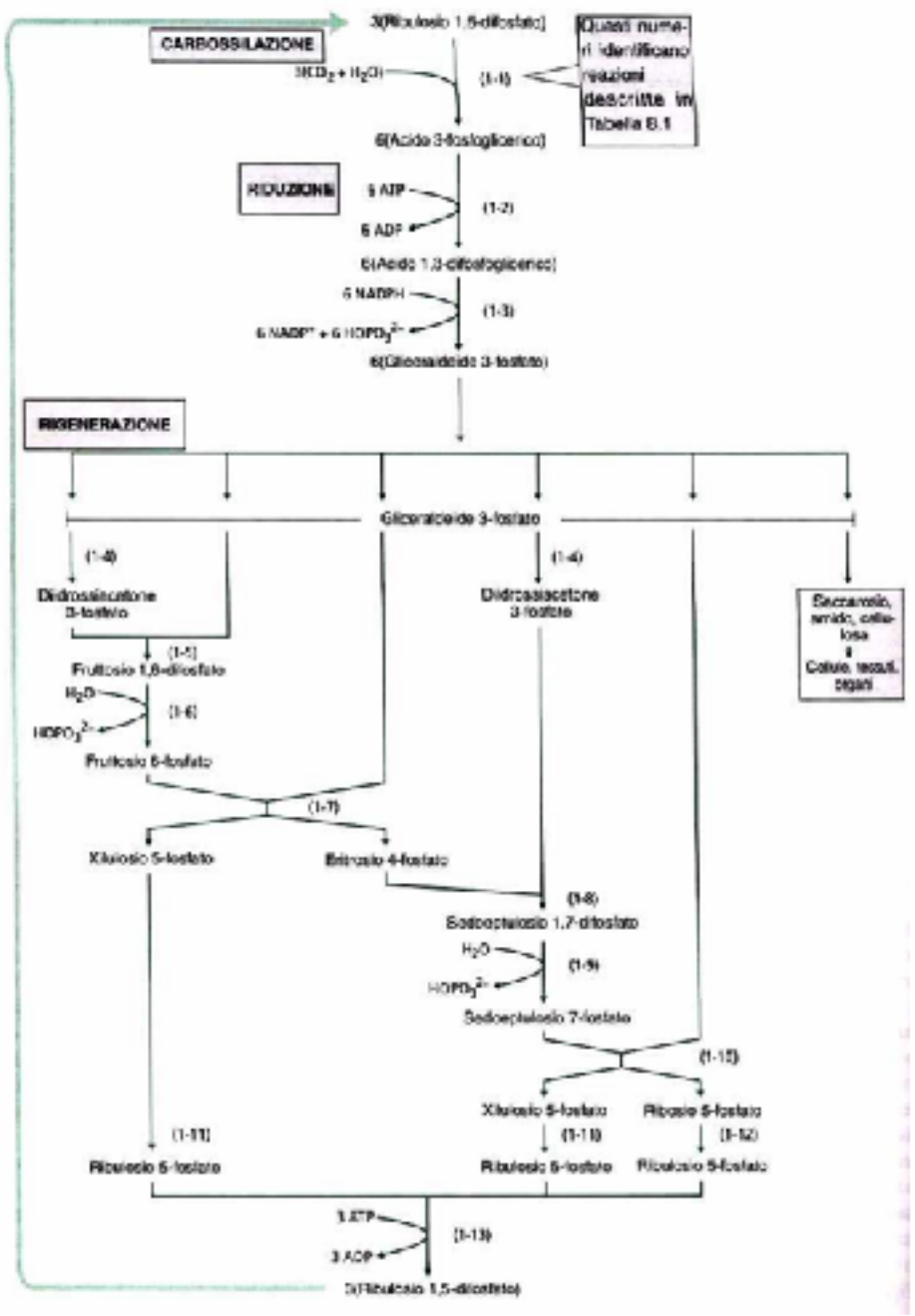
Tuttavia, se ciò avvenisse, sarebbe al contempo necessario trovare un modo per rigenerare il ribulosio 1-5 difosfato per vie esterne al ciclo di Calvin. Ma il ciclo di Calvin, è, appunto, un **ciclo**. Questo vuol dire che gli intermedi di reazione, alla fine del ciclo, si riformano.

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

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



Rigenerazione del RuDP





## Conversione della GP3 in esosi

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

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

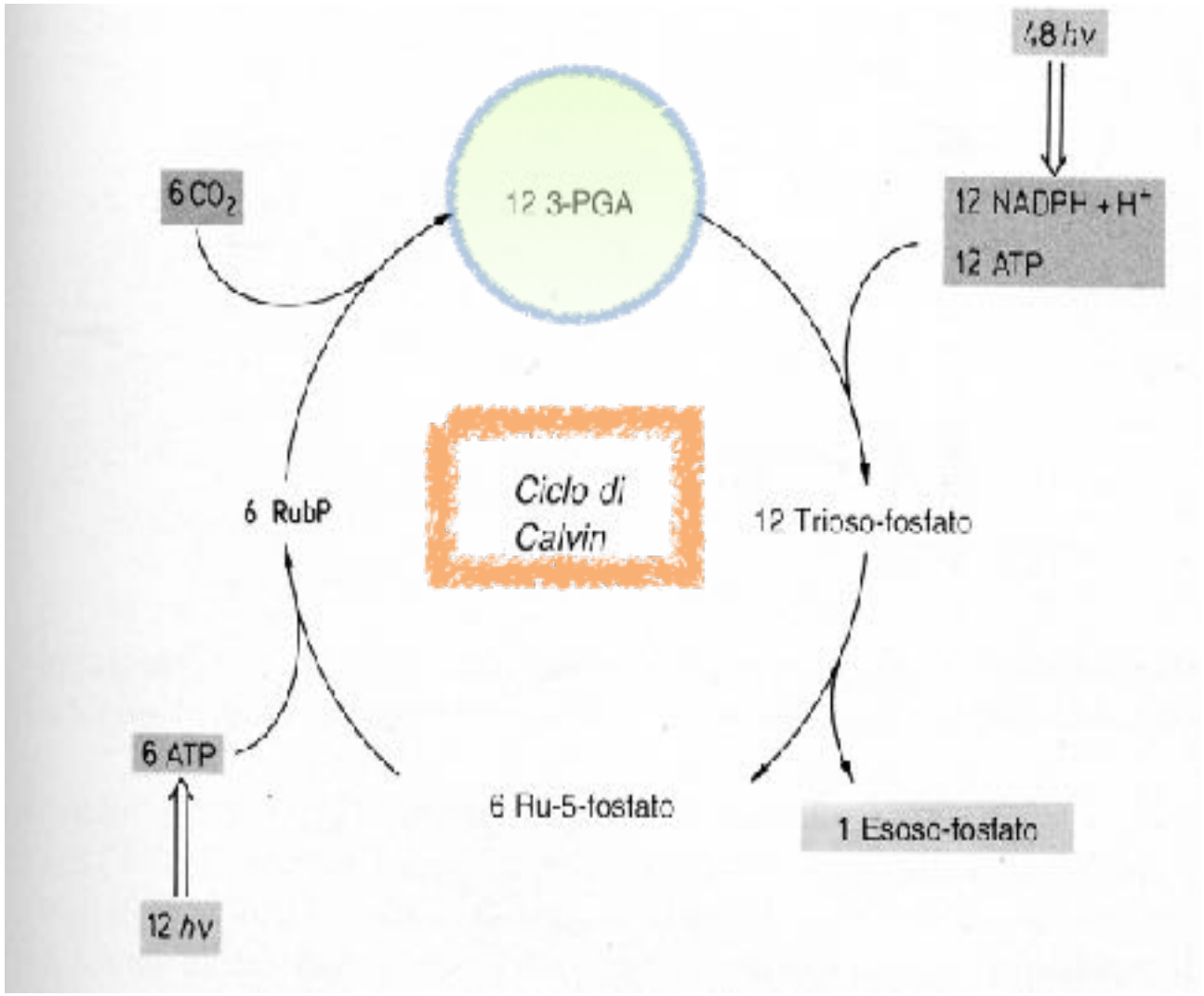
Nel processo bilanciato di costruzione di una molecola di **esoso** (glucosio), 6 molecole di **$CO_2$** si combinano con 6 di **RuDP** per formarne 12 di **PGA**.

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

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



# METABOLISMO C3 o delle piante C3



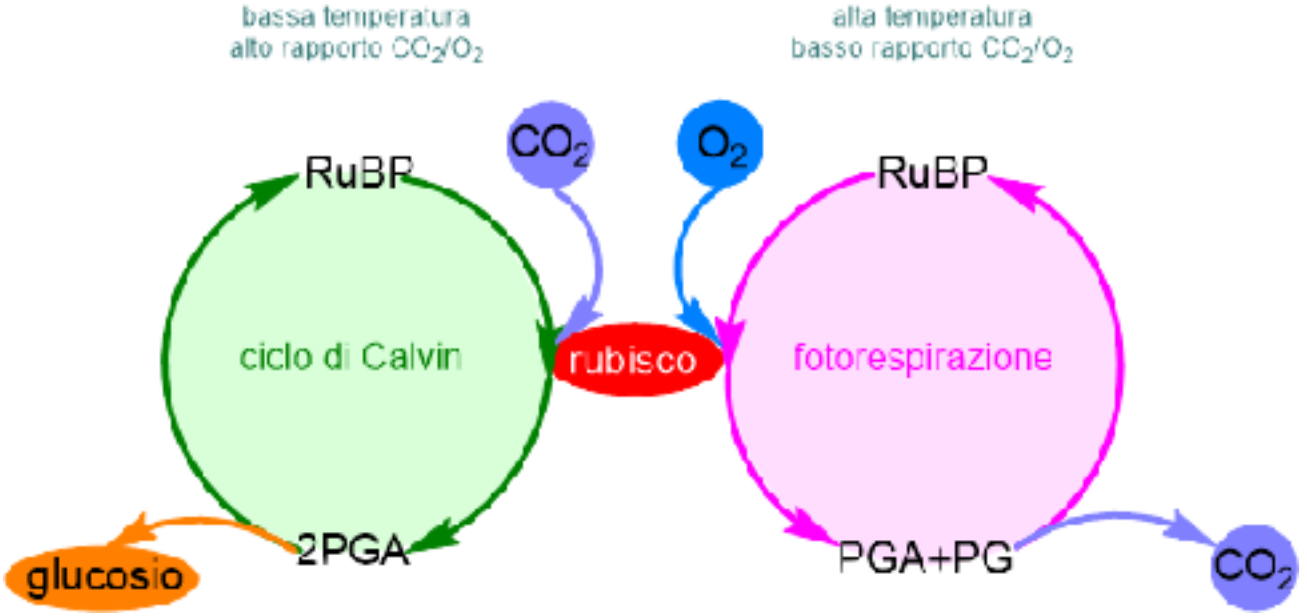


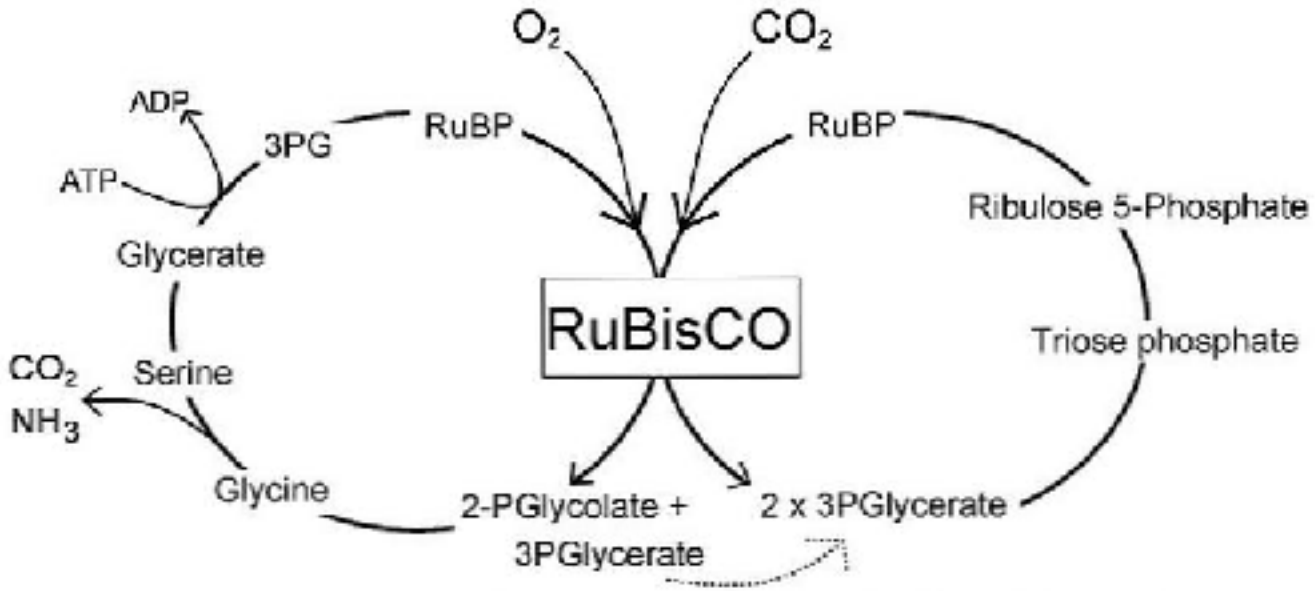
La **RibUlosio BIfoSfato Carbossilasi - Ossigenasi**, come dice il nome, ha la capacità di catalizzare l'unione del **RuDP** sia a una molecola di anidride carbonica, che a una molecola di ossigeno. Questa sua mancanza di specificità è probabilmente dovuta al fatto che questo enzima si è evoluto quando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

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

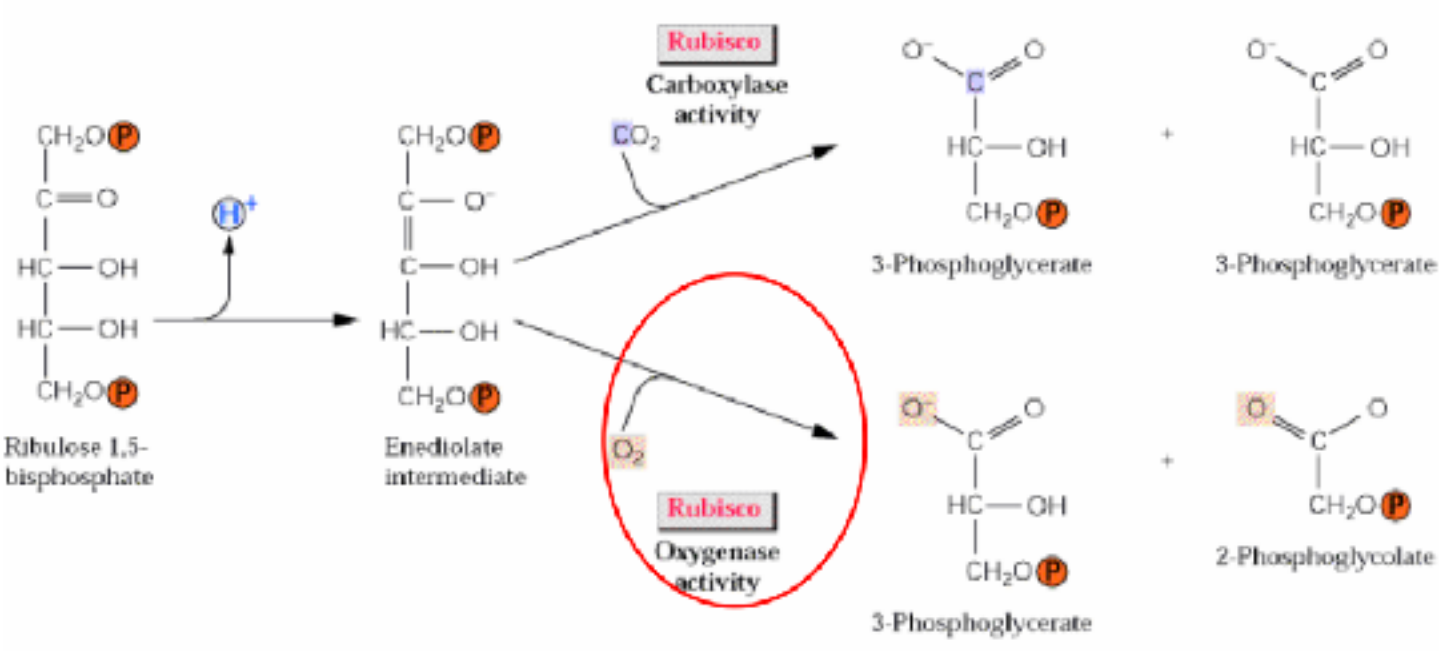
Perché è un problema? Perché l'ossigenazione del RuDP produce non due molecole di **3-fosfoglicerato**, ma una di 3-fosfoglicerato, e una di **2-fosfoglicolato** ($C_2O_3H_2$). Di conseguenza, il quantitativo di triosi prodotto è 1, e non 2. Questo ha ovvie conseguenze a cascata sui passaggi successivi,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




bassa temperatura
alto rapporto $CO_2/O_2$
alta temperatura
basso rapporto $CO_2/O_2$
RuBP
$CO_2$
$O_2$
RuBP
ciclo di Calvin
rubisco
fotorespirazione
2PGA
PGA+PG
glucosio
$CO_2$


$O_2$
$CO_2$
ADP
3PG
RuBP
RuBP
ATP
Ribulose 5-Phosphate
Glycerate
RuBisCO
Triose phosphate
$CO_2$
$NH_3$
Serine
Glycine
2-PGlycolate +
3PGlycerate
2 x 3PGlycerate




Rubisco
Carboxylase activity
$CO_2$
$H^+$
Ribulose 1,5-bisphosphate
Enediolate intermediate
3-Phosphoglycerate
3-Phosphoglycerate
$O_2$
Rubisco
Oxygenase activity
3-Phosphoglycerate
2-Phosphoglycolate



**A 25° Carbossilazione/ossigenazione = 3:1**

**Cosa succede quando la temperatura aumenta?**

**A 35° Carbossilazione/ossigenazione = 1:1**



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

$$C = P \times \alpha$$

α= coefficiente di assorbimento alla temperatura T

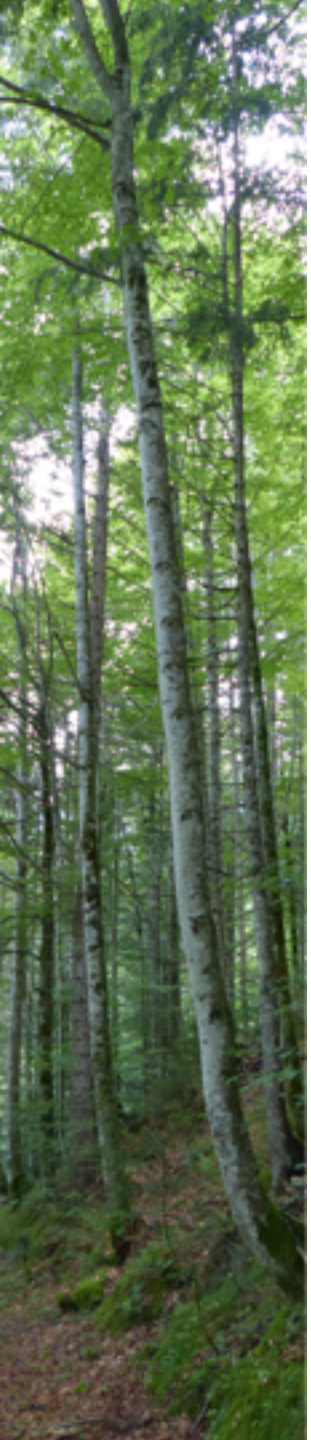
C = volume di gas (riportato a 0°), assorbito alla pressione di 1 atmosfera da un volume unitario di acqua

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

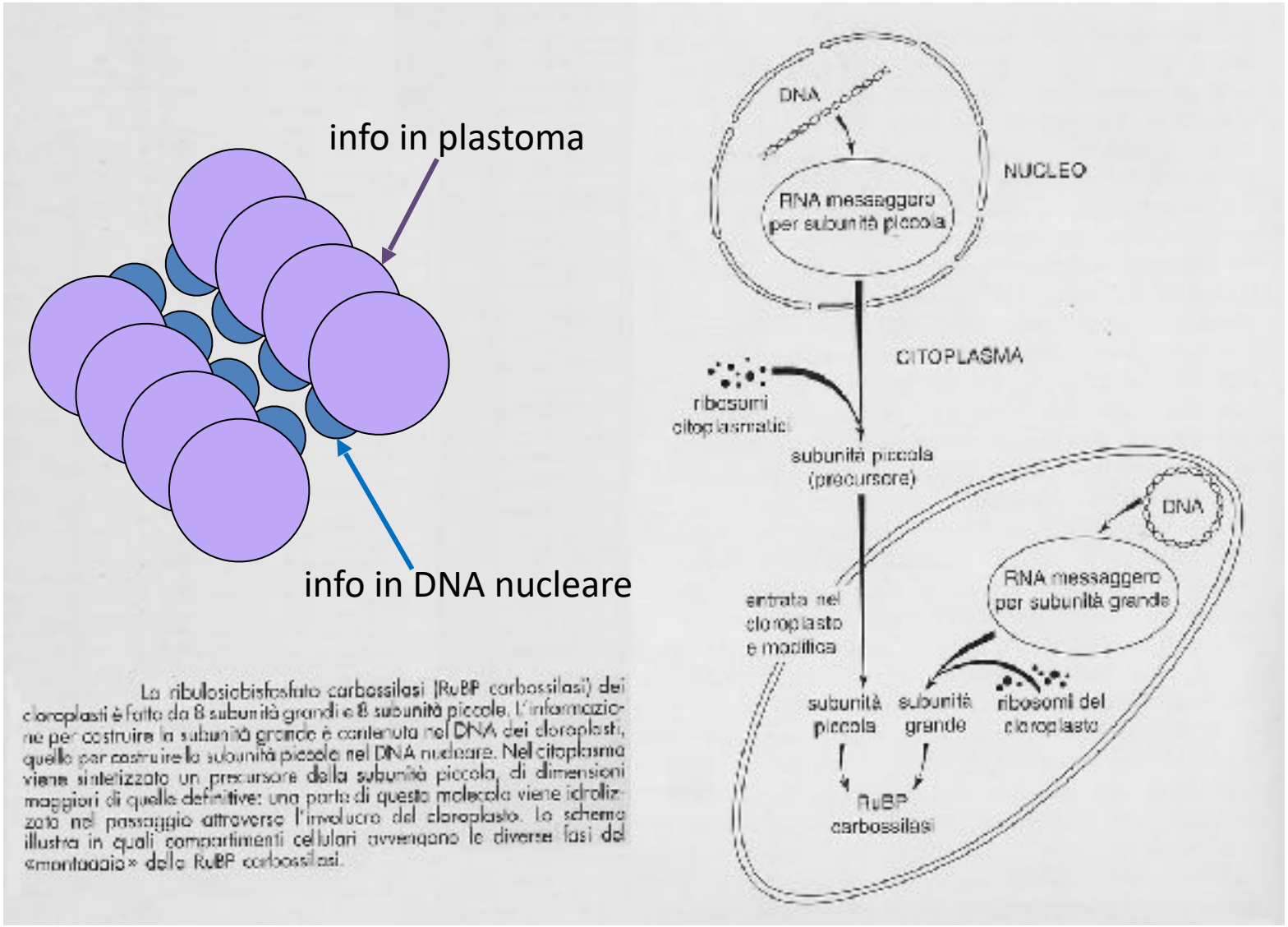
A 25°C è di $1.3 \times 10^{-3}$ mol/atm·L per l'ossigeno, e $3.4 \times 10^{-2}$ mol/atm·L per l'anidride carbonica.



| Temperature (°C) | $\alpha$ ($CO_2$) | [$CO_2$] ($\mu M$ in solution) | $\alpha$ ($O_2$) | [$O_2$] ($\mu M$ in solution) | $\frac{[CO_2]}{[O_2]}$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 5 | 1.424 | 21.93 | 0.0429 | 401.2 | 0.0515 |
| 15 | 1.019 | 15.69 | 0.0342 | 319.8 | 0.0462 |
| 25 | 0.759 | 11.68 | 0.0283 | 264.6 | 0.0416 |
| 35 | 0.592 | 9.11 | 0.0244 | 228.2 | 0.0376 |



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




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



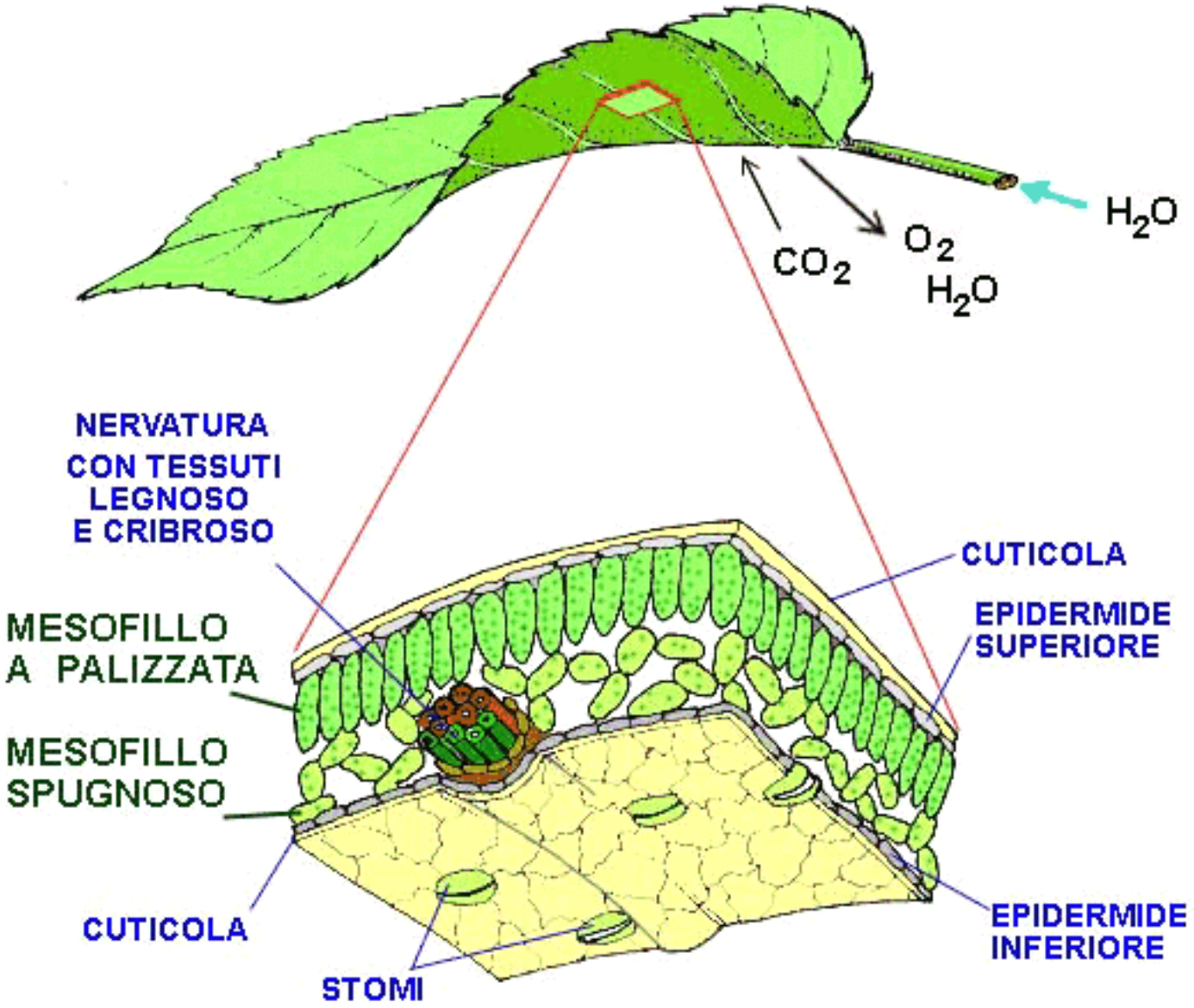
Tuttavia, non è solo “colpa” della temperatura.
O meglio, la temperatura non agisce esclusivamente da sola, e solo direttamente sulla solubilità dei gas.

Conta anche l’acqua.

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

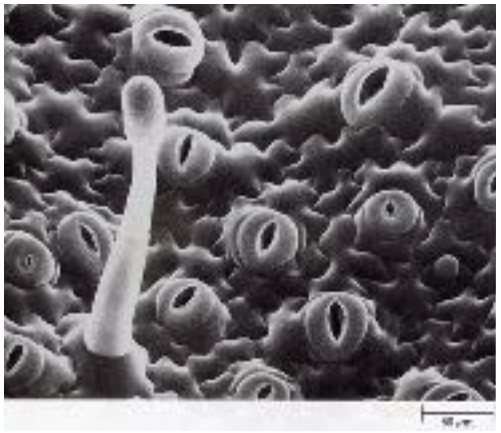
La disponibilità idrica, combinata con la temperatura, è un’altro fattore importante per l’equilibrio tra fotorespirazione e ciclo di Calvin.

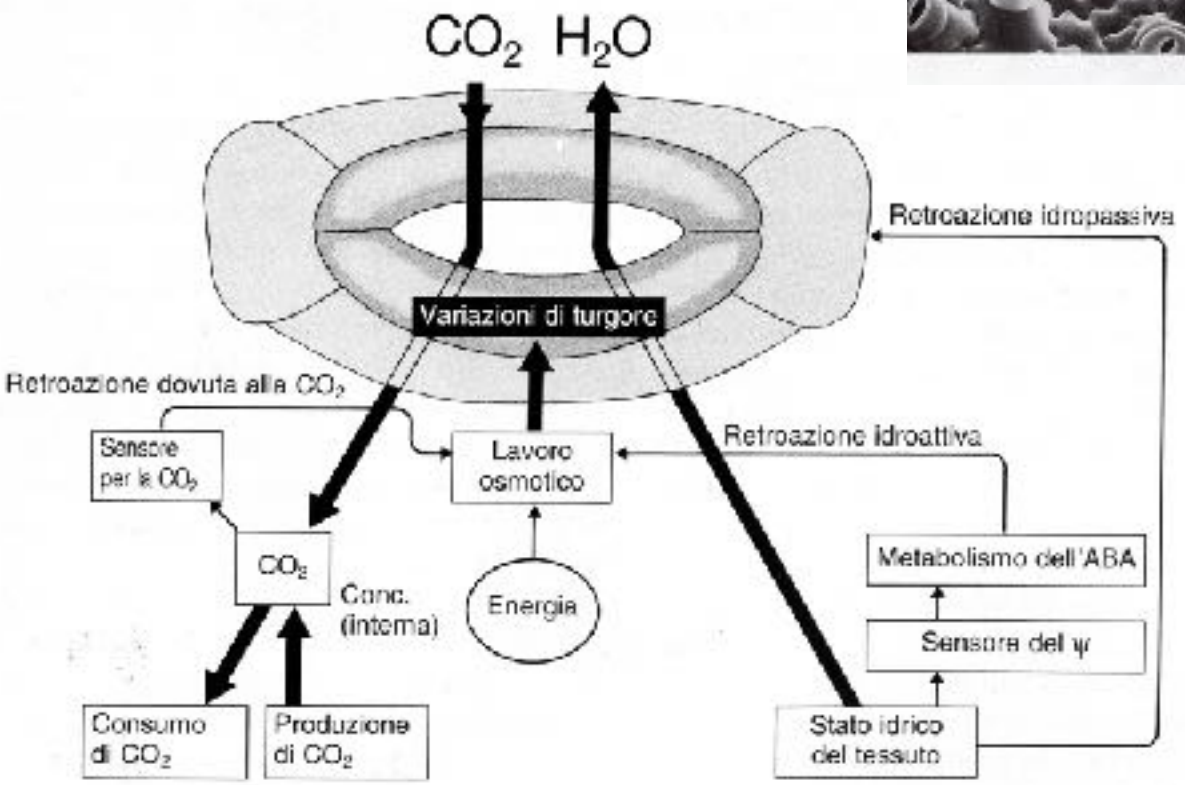



$H_2O$
$CO_2$
$O_2$
$H_2O$
NERVATURA
CON TESSUTI
LEGNOSO
E CRIBROSO
CUTICOLA
EPIDERMIDE
SUPERIORE
MESOFILLO
A PALIZZATA
MESOFILLO
SPUGNOSO
CUTICOLA
EPIDERMIDE
INFERIORE
STOMI



# Gli stomi






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



Le piante si trovano costrette a gestire anche la quantità d'acqua che hanno a disposizione.
Se vi è abbondanza d'acqua, tenere gli stomi aperti anche a alte temperature non è un grosso problema, visto che le perdite possono essere compensate facilmente.
Tuttavia, in condizioni di scarsa disponibilità idrica o comunque quando l'evapotraspirazione non riesce a essere compensata, le piantesi trovano costrette a chiudere gli stomi durante porzioni del giorno, o per l'intera giornata, per evitare perdite letali di acqua.
Tuttavia, la fotosintesi non si ferma, causando un aumento della concentrazione dell'ossigeno, e una diminuzione della concentrazione di anidride carbonica. A stomi chiusi non vi è ricambio dell'aria arricchita di ossigeno della foglia, con conseguente incremento della fotorespirazione, e consumo di energia per ripristinare gli intermedi di reazione del ciclo di Calvin.

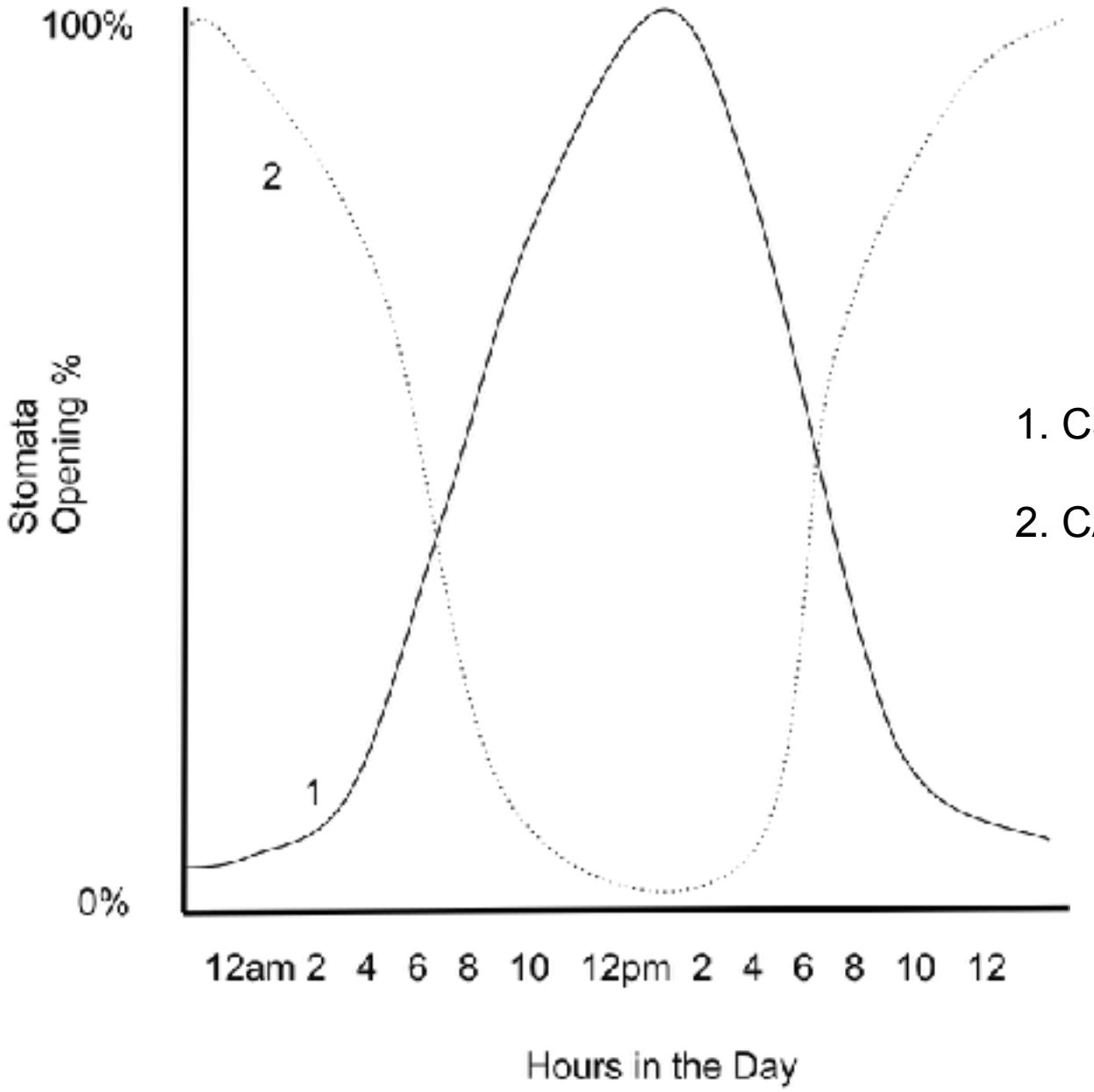
Pe questo, in alcuni gruppi di piante si sono evoluti metabolismi additivi al ciclo di Calvin, detto C3. Questi sono i metabolismi C4 e CAM.



Le piante "CAM" aprono i loro stomi di notte, quando, negli ambienti in cui vivono, fa più freddo, e quindi l'acqua evapora più lentamente, e fissano l'anidride carbonica in composti a 4 atomi di carbonio che vengono conservati in grandi vacuoli.
Di giorno chiudono gli stomi e rilasciano l'anidride carbonica, saturando la RuBisCO e limitando la fotorespirazione. Questo metabolismo è fortemente limitato dalla capacità di immagazzinare carbonio nei vacuoli, e risulta quindi vantaggioso solo in ambienti con forte limitazione di disponibilità idrica.

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




100%
2
Stomata
Opening %
1
0%
12am 2 4 6 8 10 12pm 2 4 6 8 10 12
Hours in the Day

1. C3, C4

2. CAM

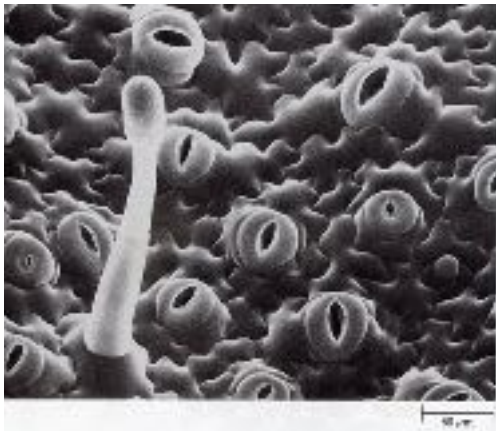


Nelle piante C3 e C4, quando le condizioni sono favorevoli all'apertura (ad esempio, elevata intensità di luce e alta umidità), una pompa protonica favorisce la fuoriuscita di protoni (H +) dalle celle di guardia, con conseguente negativizzazione del potenziale elettrico. Questo fa aprire canali voltaggio-dipendenti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

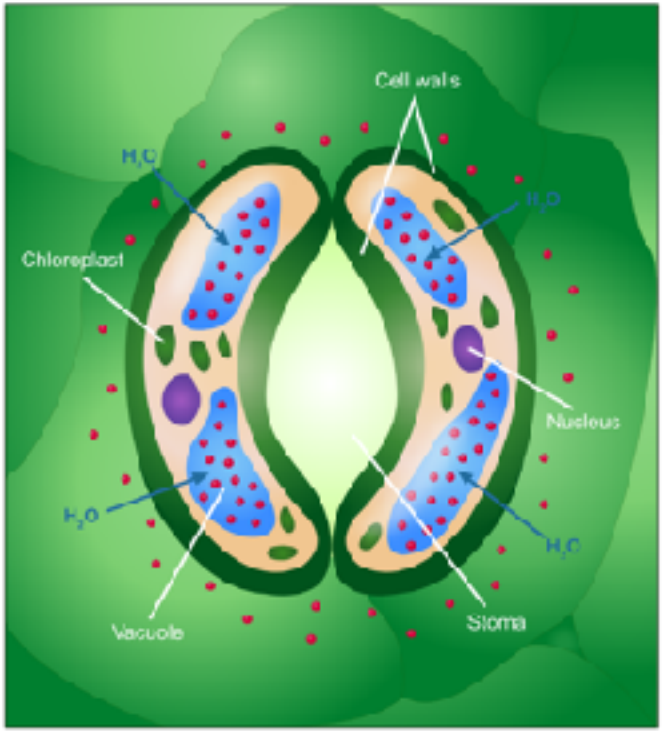
Per mantenere questa tensione negativa, anioni bilanciano l'afflusso di potassio. L’aumento della concentrazione di soluto abbassa il potenziale idrico della cellula, con conseguente afflusso d'acqua per osmosi, e aumento di volume e della pressione del turgore.

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



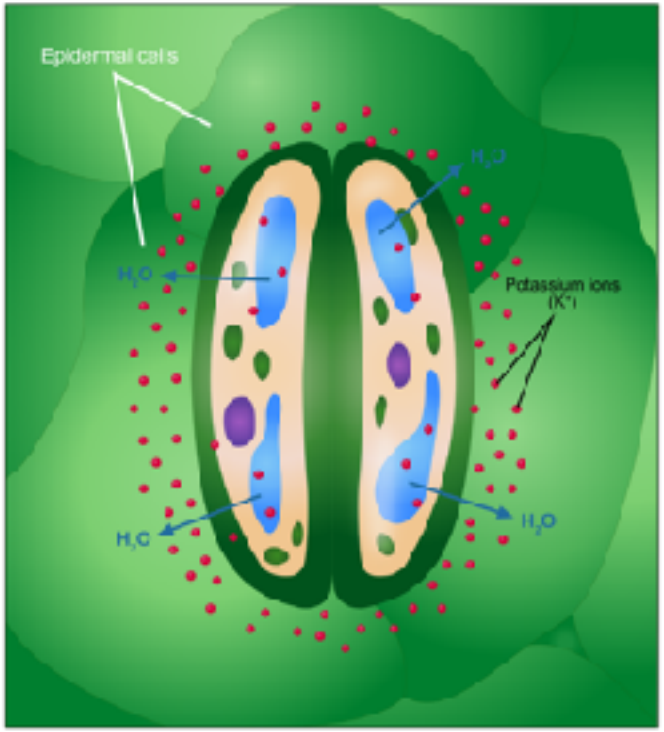


Guard cells (swollen)




Stoma opening

Guard cells (shrunken)

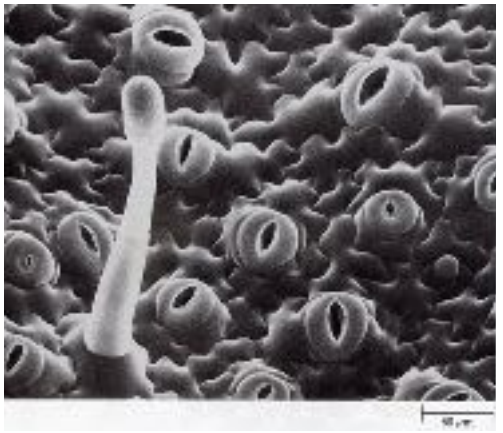


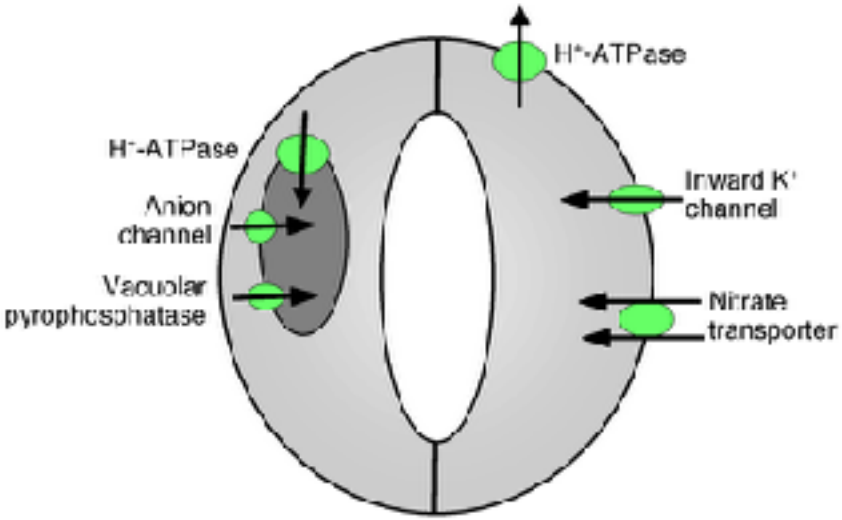

Stoma closing

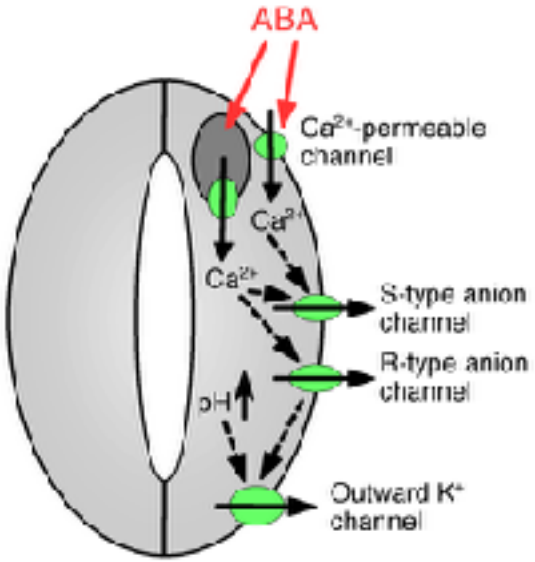


Quando le radici iniziano a percepire una carenza d'acqua nel terreno viene rilasciato acido abscissico (ABA).
Questo si lega alle proteine recettrici nella membrana plasmatica e del citosol delle cellule di guardia. Questo porta a un aumento del pH del citosol, e fa aumentare la concentrazione di ioni calcio ($Ca^{2+}$) liberi nel citosol tramite afflusso dall'esterno della cellula, e rilascio da depositi interni, come il reticolo endoplasmatico e i vacuoli.
Questo arresta l'assorbimento di ioni potassio ($K^+$) e, successivamente, la perdita di $K^+$. La conseguenza è un aumento del potenziale idrico, che si traduce nella diffusione dell'acqua fuori dalla cellula per osmosi, che si traduce nella chiusura dei pori stomatici.





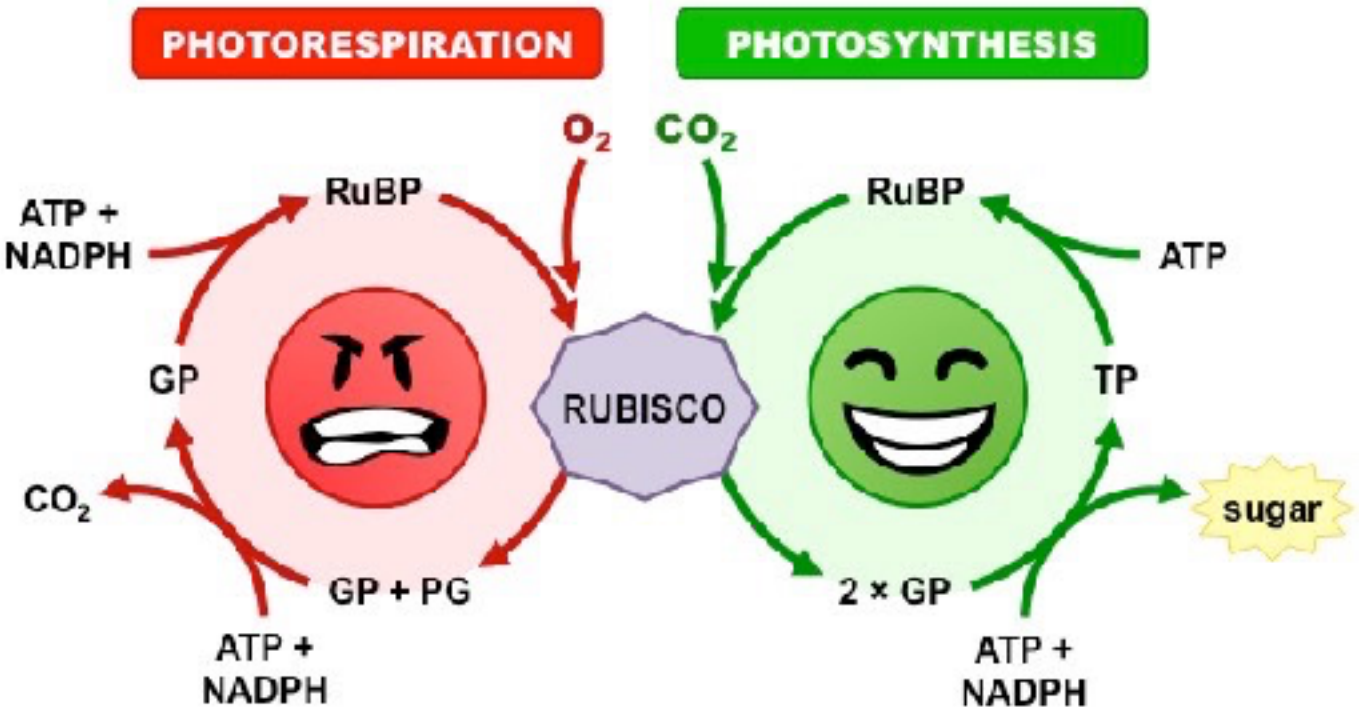

H⁺-ATPase
H⁺-ATPase
Anion channel
Vacuolar pyrophosphatase
Inward K⁺ channel
Nitrate transporter


ABA
Ca²⁺-permeable channel
Ca²⁺
Ca²⁺
S-type anion channel
R-type anion channel
pH
Outward K⁺ channel



# Fotosintesi C3, C4 e CAM




PHOTORESPIRATION
PHOTOSYNTHESIS
$O_2$
$CO_2$
RuBP
RuBP
ATP + NADPH
ATP
GP
RUBISCO
TP
$CO_2$
sugar
GP + PG
2 × GP
ATP + NADPH
ATP + NADPH



La estrema variabilità delle condizioni ambientali sul pianeta ha spinto le piante ad adattarsi per prosperare in ambienti diversi, sviluppando adattamenti che incrementassero l'efficienza fotosintetica anche in condizioni ove la fotorespirazione renderebbe la strategia C3 limitante, o addirittura inadatta alla sopravvivenza.
Per questo si sono evoluti dei metabolismi aggiuntivi al classico ciclo **C3**, denominati **C4** e **CAM**.

La fotosintesi nelle piante **C4** prevede una **separazione spaziale** della fase luminosa da quella oscura, separazione che consente il "distanziamento" della fotolisi dell'acqua dal ciclo di Calvin.

Le piante **CAM** invece operano una **separazione temporale** tra la cattura dell'anidride carbonica (di notte) e la fotosintesi (di giorno), con conseguente possibilità di tenere gli stomi chiusi durante tutto il giorno.

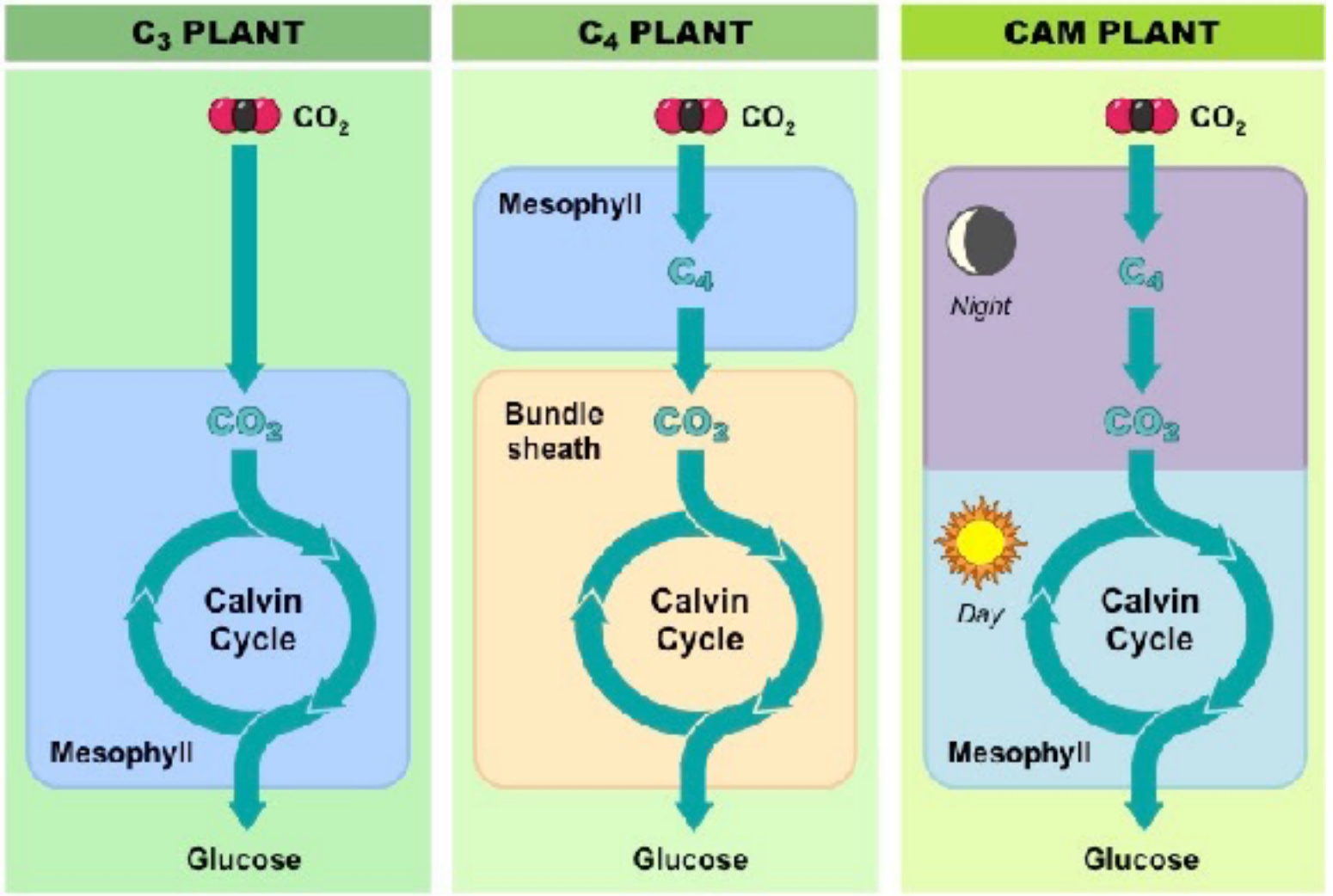


Si tratta di adattamenti fisiologici di piante che vivono in ambienti caratterizzati in genere da forte irraggiamento luminoso e temperature elevate.

Introducendo delle fissazioni temporanee pre-Ciclo di Calvin, alcune specie hanno raggiunto:

- i più elevati ratei fotosintetici (piante C4);
- il più efficiente uso dell'acqua (piante CAM).




C3 PLANT
CO2
CO2
Calvin Cycle
Mesophyll
Glucose
C4 PLANT
CO2
Mesophyll
C4
Bundle sheath
CO2
Calvin Cycle
Glucose
CAM PLANT
CO2
Night
C4
CO2
Day
Calvin Cycle
Mesophyll
Glucose



# Comparison of $C_3$, $C_4$, and CAM plants

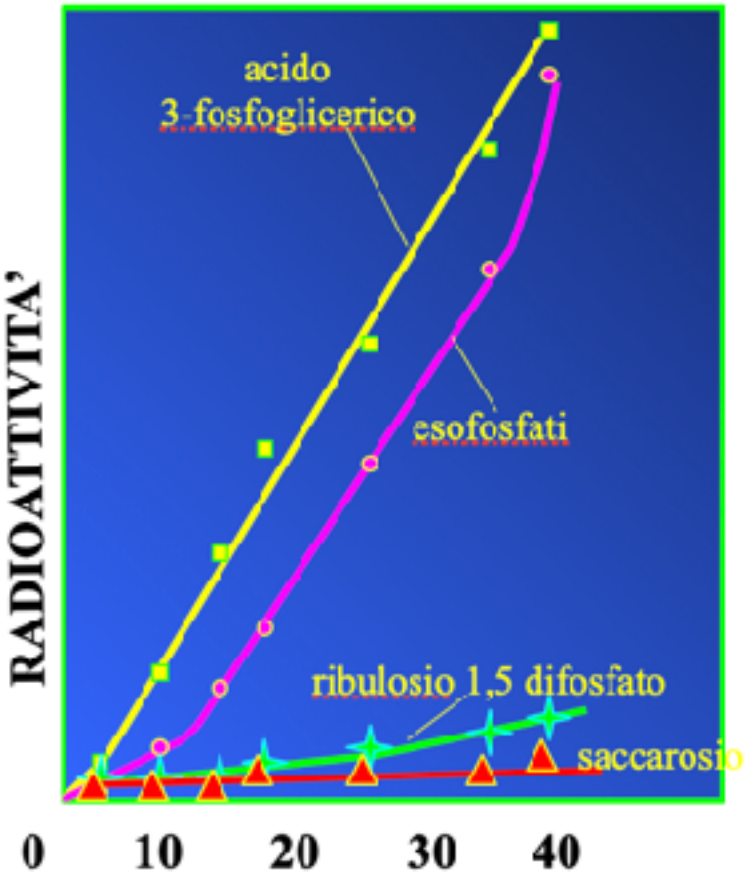
| C3 plants | C4 plants | CAM plants |
|---|---|---|
| Most plants | Tropical grasses like corn, sugarcane | Succulents, pineapple, agave |
| Fix carbon in Calvin cycle - attach $CO_2$ to RuBP | Fix carbon in cytoplasm - attach $CO_2$ to PEP | Fix carbon at night only, fix it to organic molecules |
| Enzyme - Rubisco | Enzyme – PEP-ase | Enzyme – PEP-ase |
| Most energy efficient method | 1/2 way between these two | Best water conservation |
| Loses water through photorespiration | Loses less water ⟷ | Loses least water |

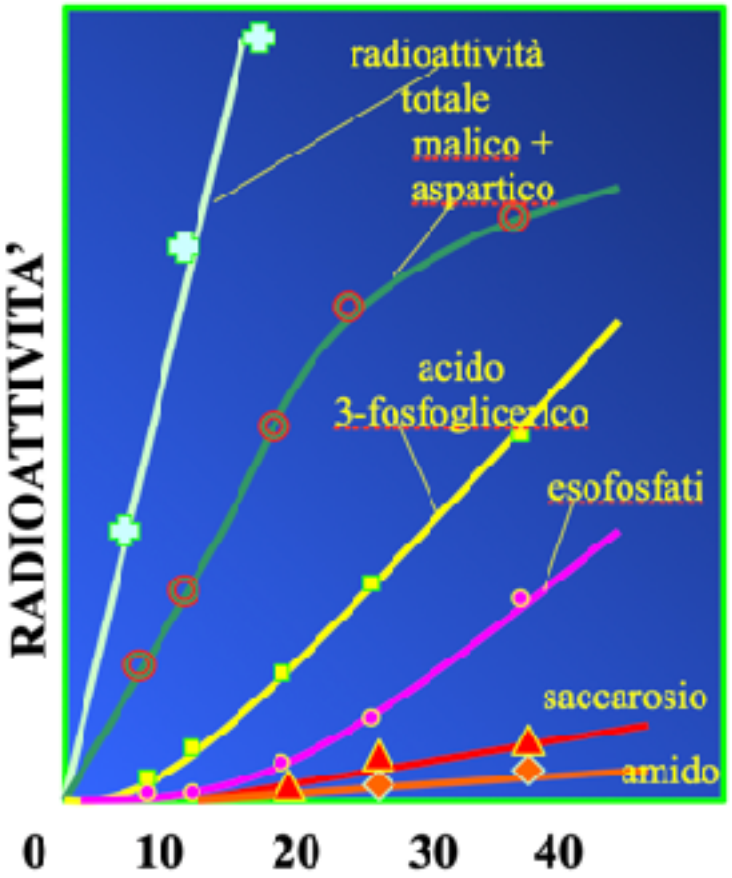


# Fotosintesi nelle piante C4



Il loro primo prodotto di fissazione (temporanea) della $CO_2$ è un acido organico a 4 atomi di carbonio anziché acido 3-fosfoglicerico.





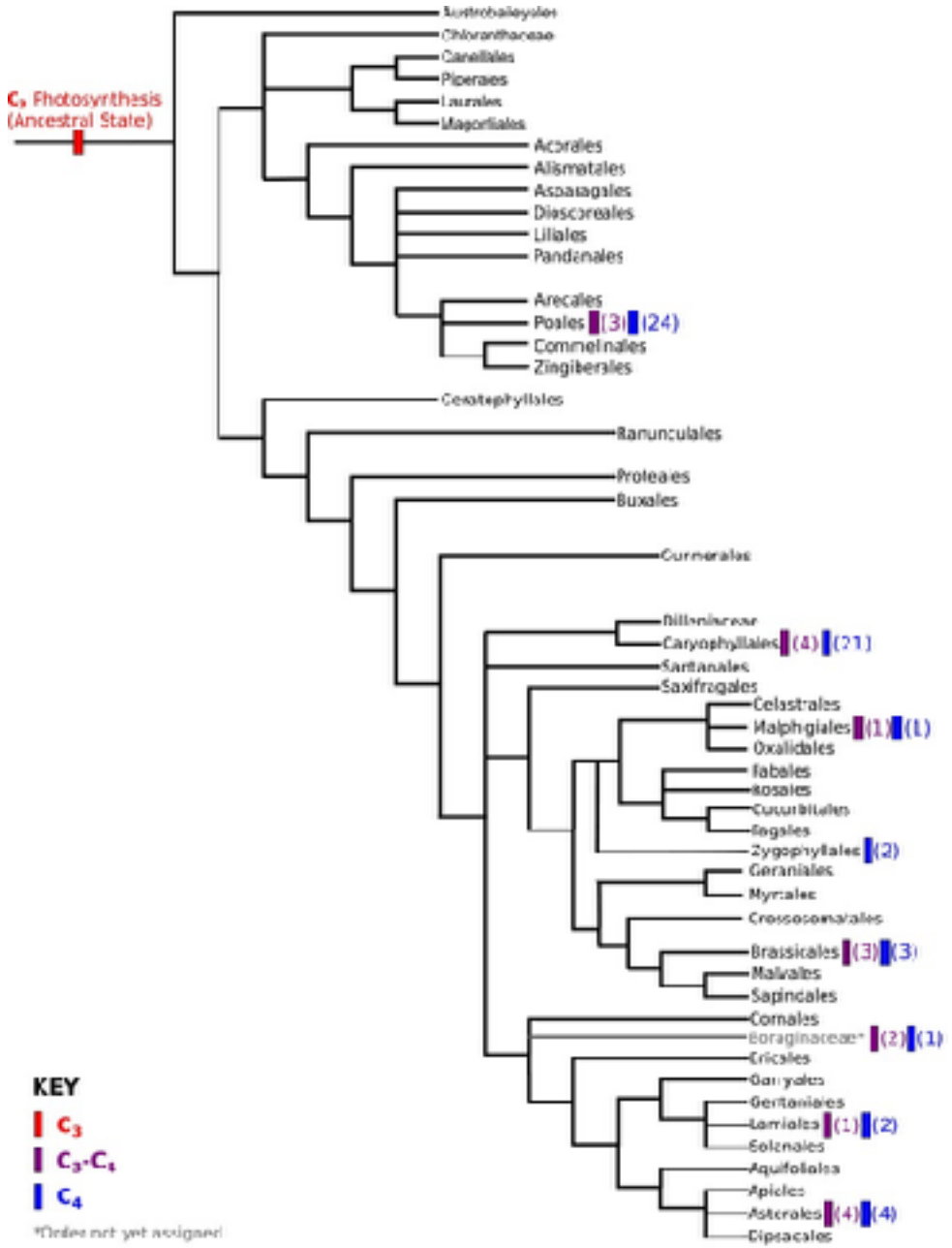
Se compariamo i prodotti che si formano dopo una breve esposizione a $CO_2$ radioattiva in una pianta che possiede solo il ciclo di Calvin (*Chlorella*, un'alga unicellulare) e in una pianta $C_4$ (canna da zucchero), noteremo che in *Chlorella* il primo prodotto fotosintetico che compare, già dopo un'esposizione brevissima alla $CO_2$ radioattiva è l'acido 3-fosfoglicerico.

Al contrario, nella canna da zucchero compaiono per primi gli acidi malico e aspartico.

Questi derivano dalla fissazione provvisoria della $CO_2$ ad opera della PEP carbossilasi.

Saccarosio e amido, i prodotti finali della fotosintesi compaiono notevolmente più tardi in entrambi i casi. Il comportamento di tutte le piante $C_3$ è simile a quello di *Chlorella*.




$C_3$ Photosyrthesis
(Ancestral State)
Chloranthaceae
Canellales
Piperales
Laurales
Magoliales
Acorales
Alismatales
Asparagales
Dioscoreales
Liliales
Pandanales
Arecales
Poales (3) (24)
Commelinales
Zingiberales
Ceratophyllales
Ranunculales
Proteales
Buxales
Gunnerales
Caryophyllales (4) (21)
Santanales
Saxifragales
Celastrales
Malpighiales (1) (1)
Oxalidales
Fabales
Rosales
Cucurbitales
Fagales
Zygophyllales (2)
Geraniales
Myrtales
Crossosomatales
Brassicales (3) (3)
Malvales
Sapindales
Cornales
Boraginaceae* (2) (1)
Ericales
Garryales
Gentianales
Lamiales (1) (2)
Solanales
Aquifoliales
Apiales
Asterales (4) (4)
Dipsacales
KEY
$C_3$
$C_3$-$C_4$
$C_4$
*Order not yet assigned



La via metabolica **C4**, o di **Hatch–Slack**, si è evoluta indipendentemente diverse volte. Le piante **C4** quindi non sono un clade monofiletico tra le piante.

Questa via metabolica si è evoluta, stando alle ultime evidenze, 62 volte diverse in 19 diverse famiglie di mono- e dicotiledoni.

Il nome di questa via metabolica deriva dal nome dei due ricercatori che nel 1966 ne chiarirono gli aspetti: Marshall Davidson Hatch, e Charles Roger Slack.

Il fatto di essersi evoluto diverse volte da piante C3, ha fatto si che, nonostante la strategia rimanga la stessa in tutte le piante C4, vi siano diverse varianti.



## Quali sono le piante C4?

Solo un numero ridotto delle 250.000 angiosperme sono piante C4.

Si trovano ad esempio tra le Poaceae e le Chaenopodiaceae, indicando una origine polifiletica, che è relativamente recente (10 milioni di anni fa…).

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

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

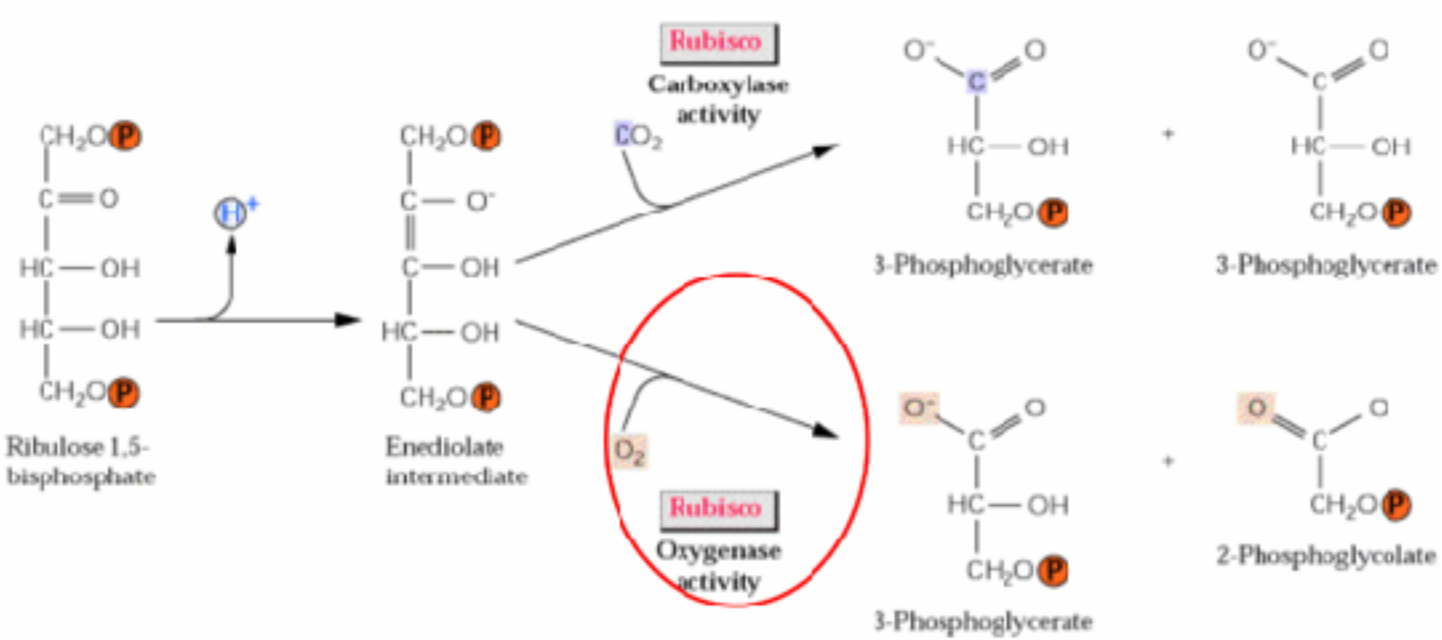


Canna da zucchero
*Saccharum officinarum* L.








Rubisco
Carboxylase activity
$CO_2$
$H^+$
Ribulose 1,5-bisphosphate
Enediolate intermediate
3-Phosphoglycerate
3-Phosphoglycerate
$O_2$
Rubisco
Oxygenase activity
3-Phosphoglycerate
2-Phosphoglycolate

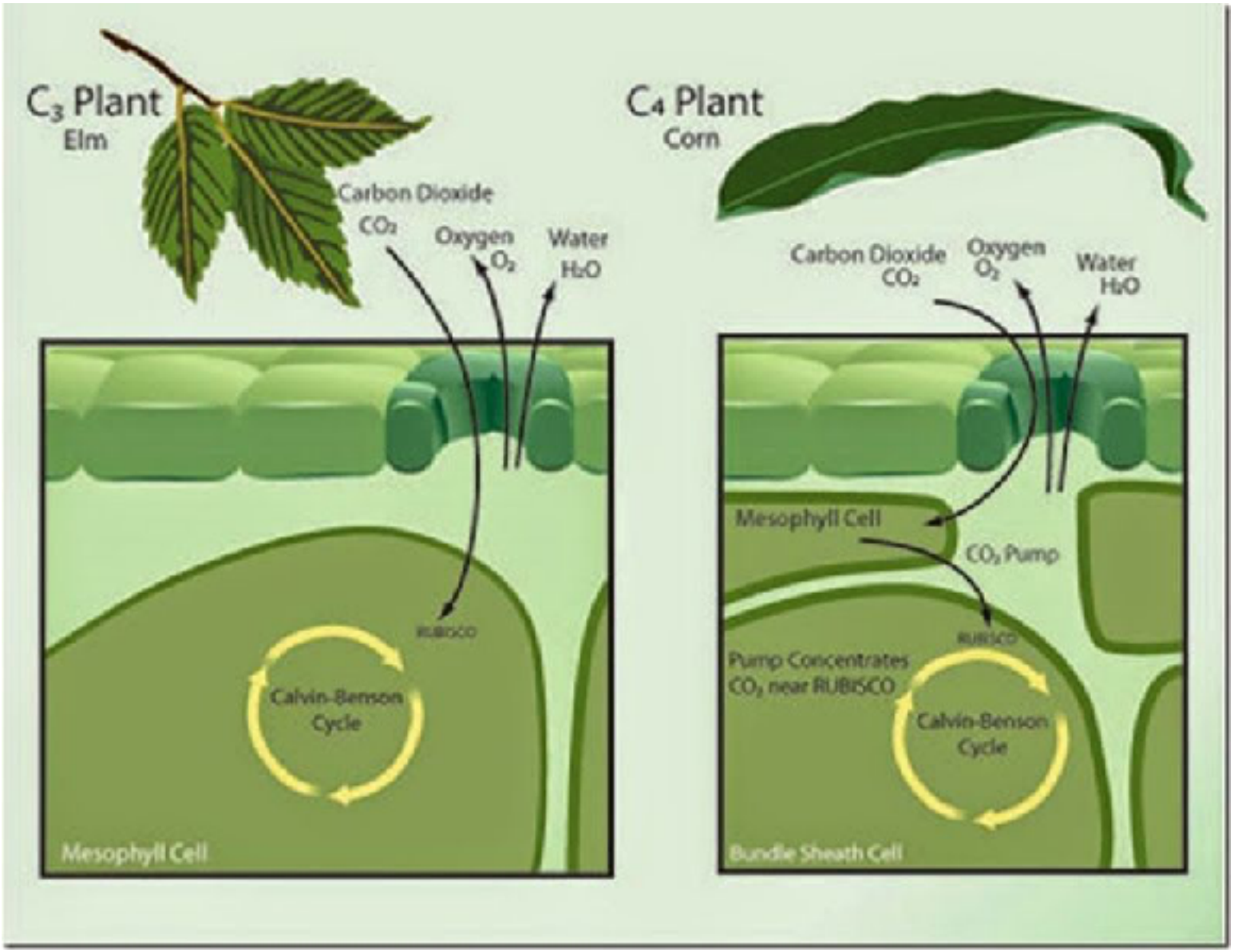


Nelle piante C4 si osserva un meccanismo che incrementa la pressione parziale della $CO_2$ in alcune cellule specializzate, in modo da ottimizzare l'attività carbossilasica della RuBisCO.

A monte del ciclo di Calvin compare infatti una precedente fissazione provvisoria di $CO_2$, per opera di un enzima particolare (nelle cellule del mesofillo), cui segue (in un diverso distretto, le cellule della guaina del fascio) la fissazione definitiva di $CO_2$.

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

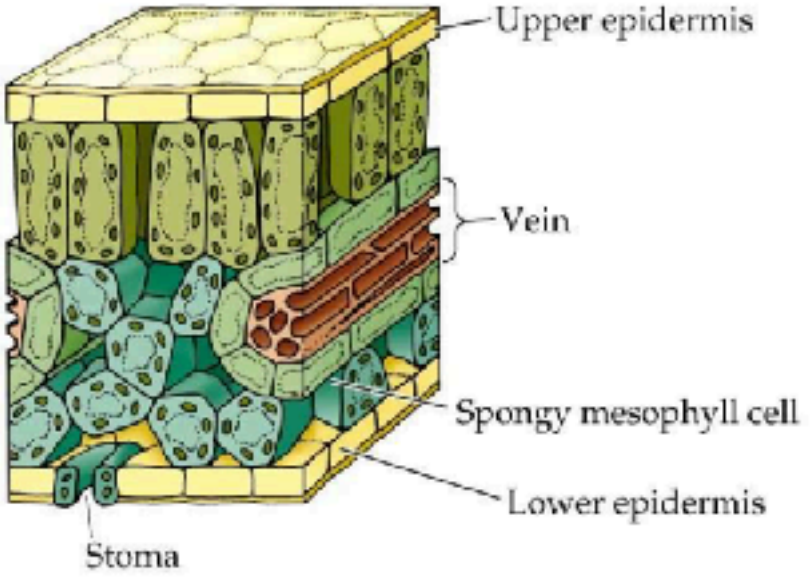



C3 Plant
Elm
Carbon Dioxide
CO2
Oxygen
O2
Water
H2O
RUBISCO
Calvin-Benson
Cycle
Mesophyll Cell
C4 Plant
Corn
Carbon Dioxide
CO2
Oxygen
O2
Water
H2O
Mesophyll Cell
CO2 Pump
RUBISCO
Pump Concentrates
CO2 near RUBISCO
Calvin-Benson
Cycle
Bundle Sheath Cell

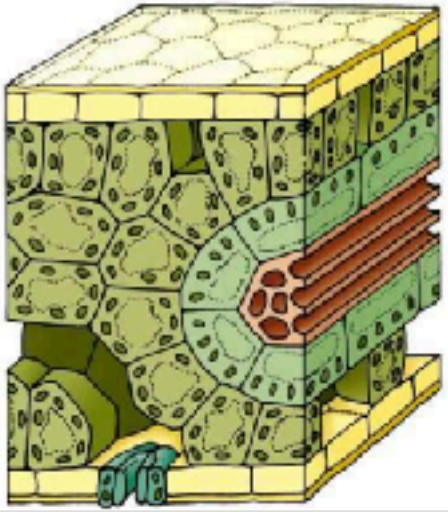


## Anatomia Kranz

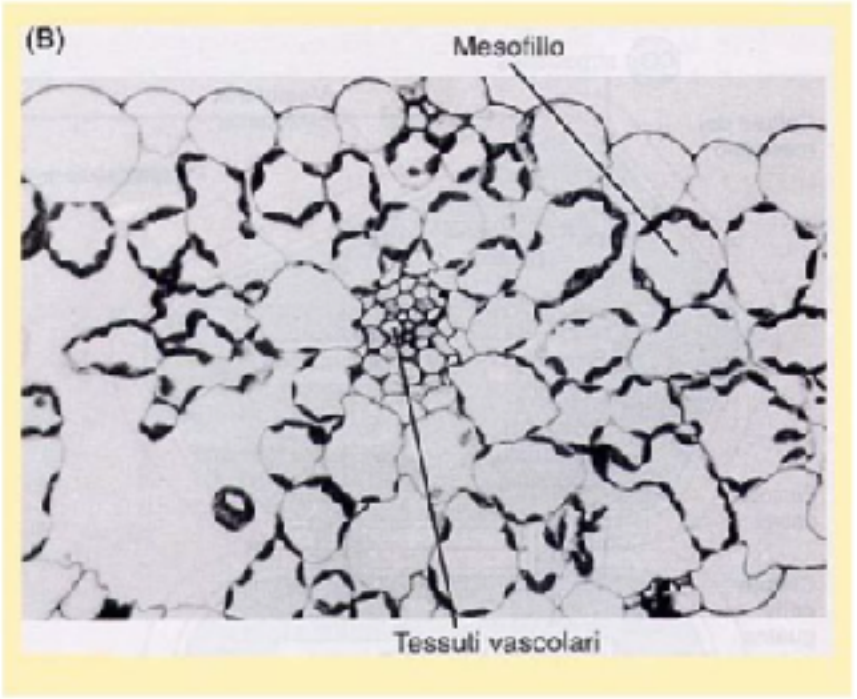
(a) Arrangement of cells in a $C_3$ leaf




(b) Arrangement of cells in a $C_4$ leaf

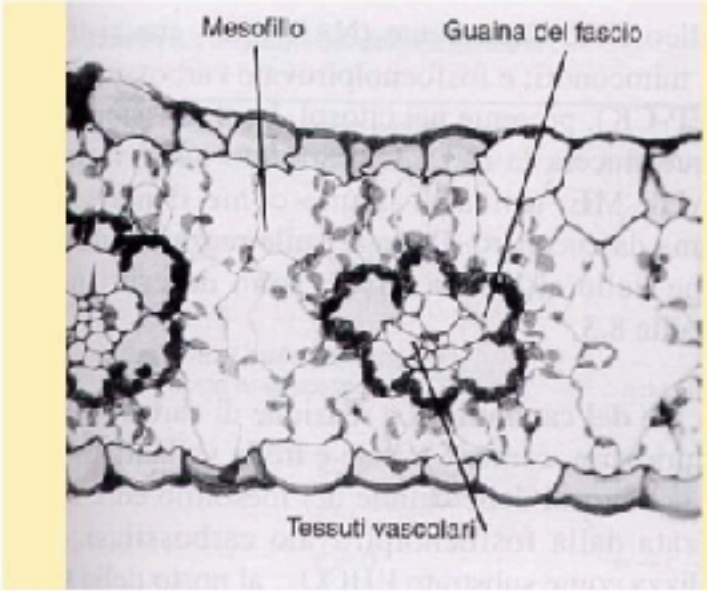




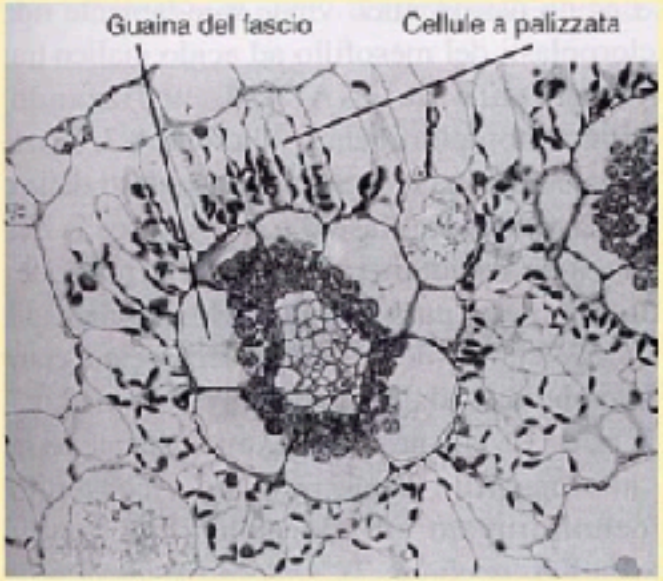



***Avena sativa* (C3)**






*Zea mays* (C4)
monocotiledone

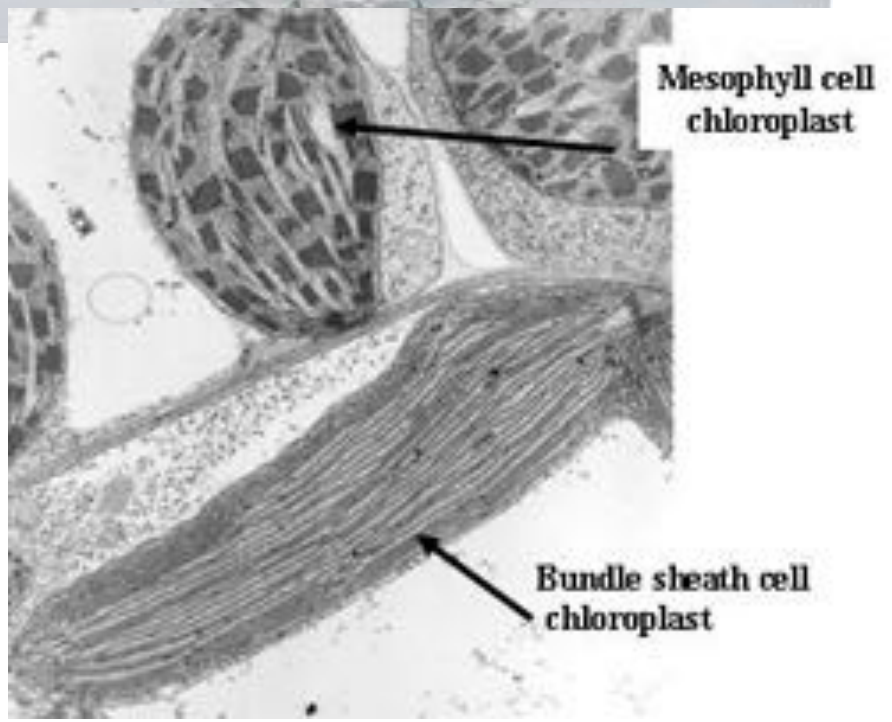



*Gomphrena* (C4)
dicotiledone



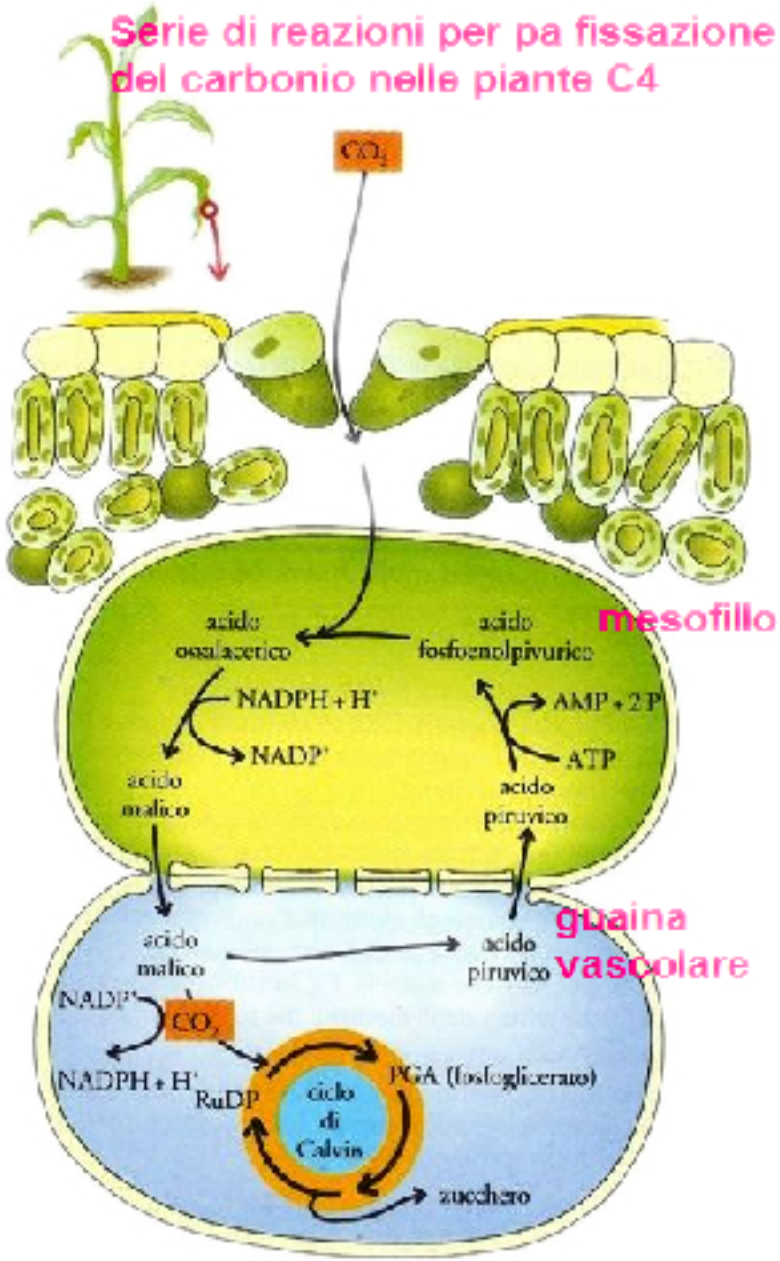



Le cellule della guaina del fascio contengono (spesso) cloroplasti senza grana e pieni di granuli d'amido. Questi cloroplasti non contengono il PS II (questo fotosistema è localizzato nei tilacoidi dei grana che qui mancano).





Serie di reazioni per pa fissazione del carbonio nelle piante C4





**Il bello del mondo reale:**

**é QUASI sempre così, ma….**





*Flaveria brownii*
Asteraceae

Questa pianta è sia una C3 che una C4. A seconda della quantità di luce, si comporta più come una C3 o più come un C4. Questo dimostra che il passaggio da C3 a C4 non è troppo complesso, motivo per cui è avvenuto diverse volte nella storia evolutiva delle piante.



Un altro caso interessante è quello di *Suaeda* (*Borszczowia*) *aralocaspica*, una Amaranthacea che è nota per i deserti dell'Asia centrale.

In questa piante abbiamo fotosintesi C4 senza anatomia Krantz. Questo è un caso affascinante, in cui assistiamo a una compartimentazione all'interno della stessa cellula, anziché in cellule diverse.

Uno studio ha infatti evidenziato come i diversi enzimi coinvolti nella fotosintesi si distribuiscano in modo ineguale all'interno della stessa cellula. Inoltre, vi sono due diversi tipi di cloroplasti, e diversi organuli seguono la compartimentazione all'interno della cellula.



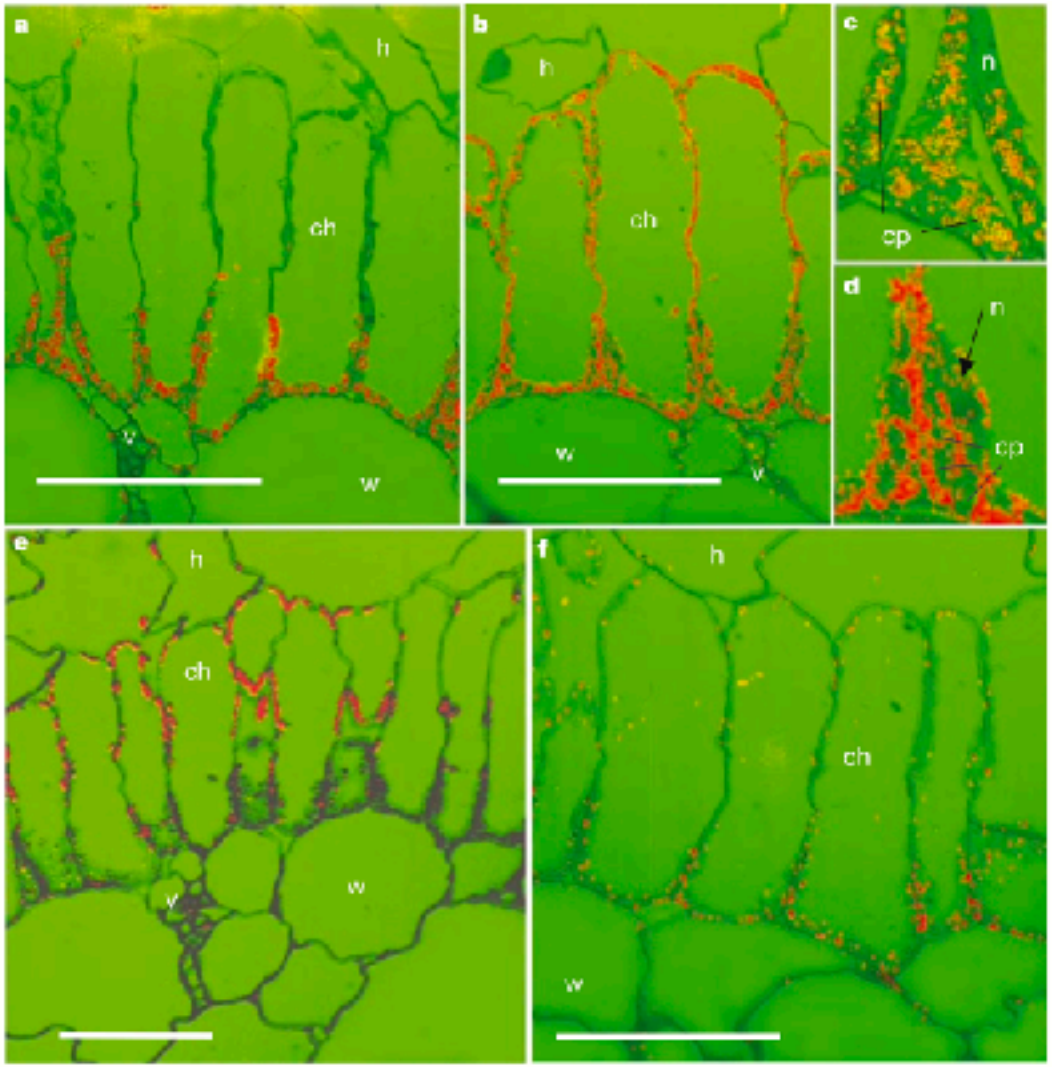



**Figure 2** Immunolocalization of photosynthetic enzymes in leaves of *Bouteloua arafocaspica* by confocal laser scanning microscopy. Immunolocalization of Rubisco (**a**), PEP carboxylase (**b**), higher magnification showing Rubisco in chloroplasts in proximal end of cell (**c**), higher magnification showing PEP carboxylase in cytosol (**d**), pyruvate,Pi dikinase (**e**) and NAD malic enzyme (**f**). Red dots indicate where the enzyme is present. cp, chloroplast; ch, chlorenchyma cell; h, hypodermal cell; n, nucleus; v, vascular tissue; w, water storage cell. Scale bars, 50 μm.



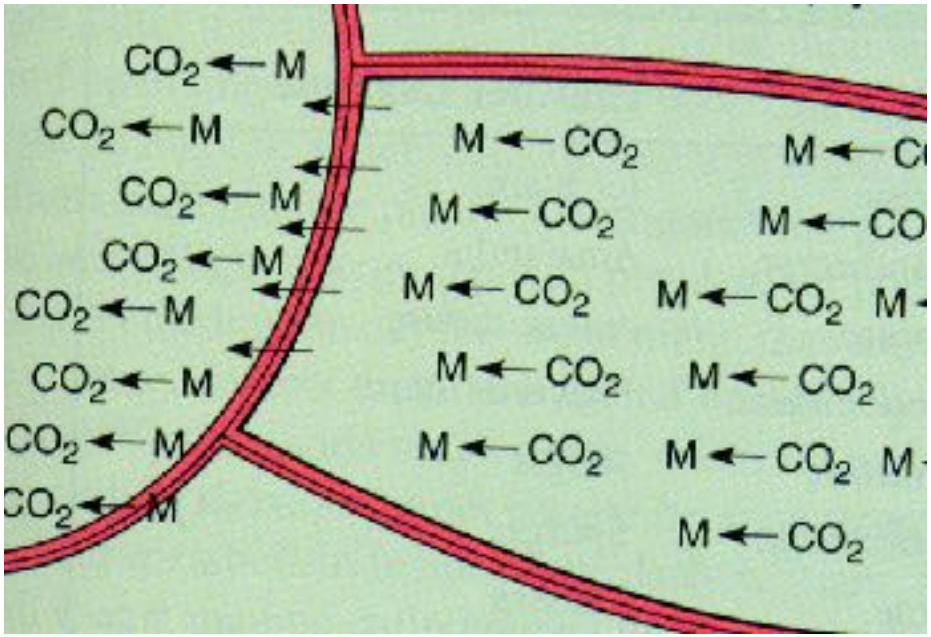
**OOOK… ma….**

**Come funziona?**



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

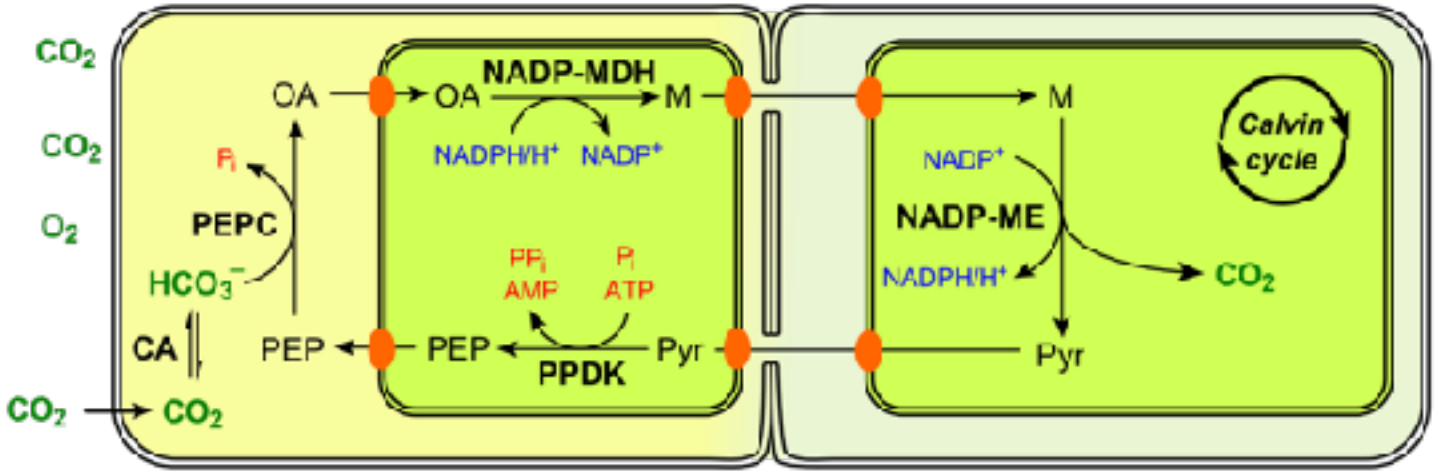
L'acido ossalacetico che ne deriva viene ridotto ad acido malico e quest'ultimo viene trasportato nelle cellule della guaina, dove viene decarbossilato ad acido piruvico, liberando $CO_2$.





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

L'acido piruvico derivato dalla decarbossilazione del malico viene riportato nelle cellule del mesofillo e lì ritrasformato in PEP attraverso una reazione che richiede 2 molecole di ATP.





1. *Fosfoenolpiruvato carbossilasi*
   acido fosfoenolpiruvico + $HCO_3^-$ → acido ossalacetico + $HOPO_3^{2-}$



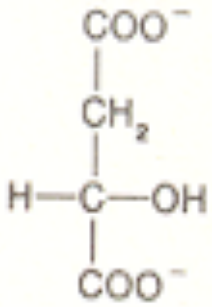
2. *NADP malico deidrogenasi*
   acido ossalacetico + NADPH + $H^+$ → acido malico + $NADP^+$

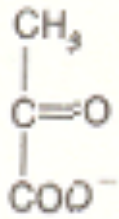




4. *Enzima NADP malico*

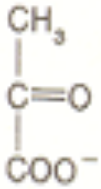
acido malico + $NADP^+$ → acido piruvico + $CO_2$ + NADPH + $H^+$

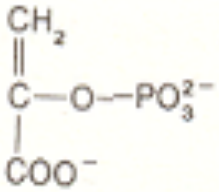




*Piruvato,ortofosfato dichinasi*

acido piruvico + $HOPO_3^{2-}$ + ATP → acido fosfoenolpiruvico + AMP + $H_2P_2O_7^{2-}$







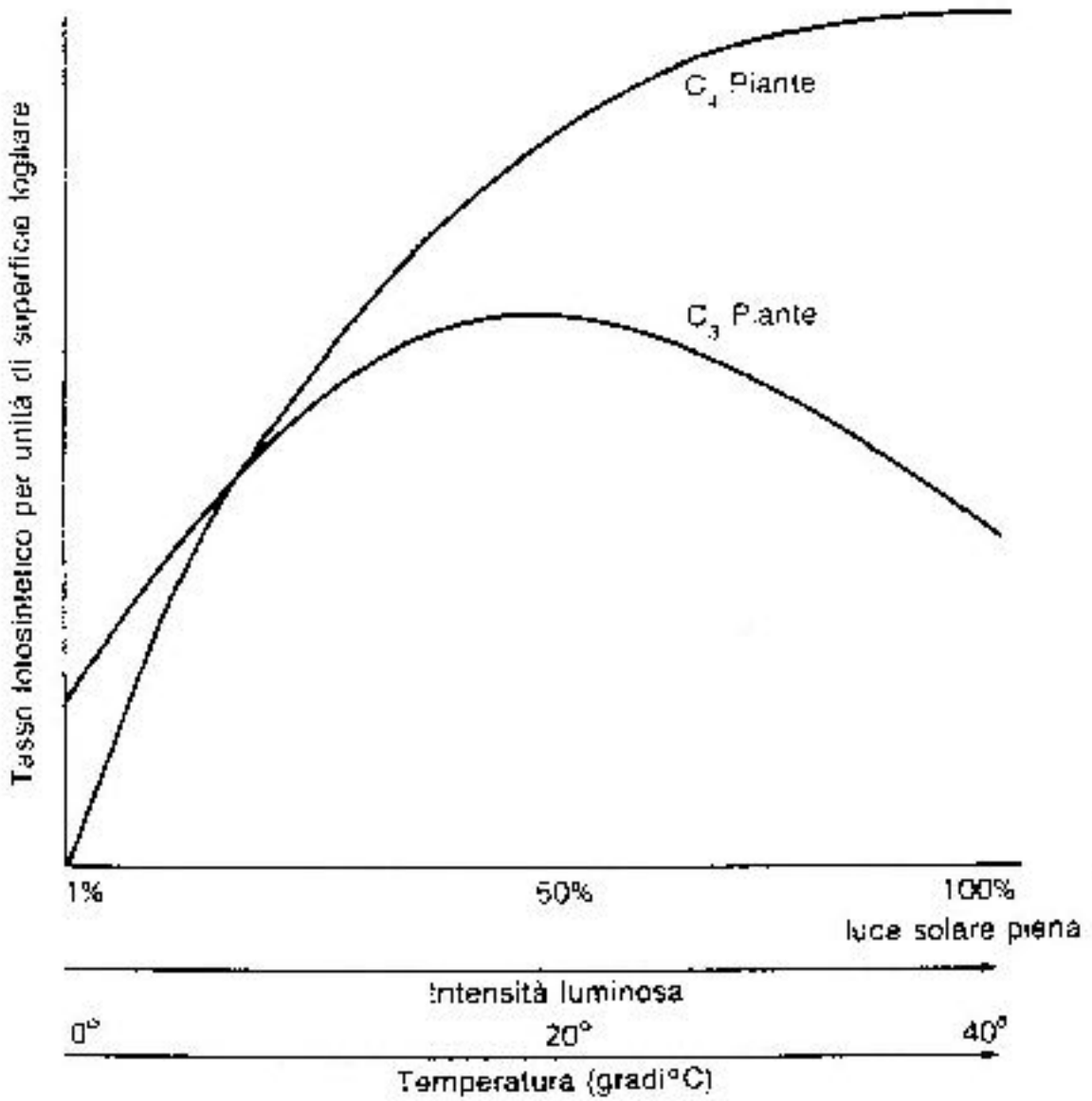
Questo processo, al completamento del ciclo che rigenera il PEP, consuma una molecola di ATP. Il NADPH viene speso nella conversione da ossalacetato a malato, ma viene rigenerato nella decarbossilazione del malato a piruvato.

**Di conseguenza, le piante C4 "spendono" un ATP in più rispetto alle piante C3 per ciascun atomo di carbonio fissato.**

Ne vale la pena? Nelle condizioni in cui la "spesa" energetica per rigenerare il RuDP è elevata, si.

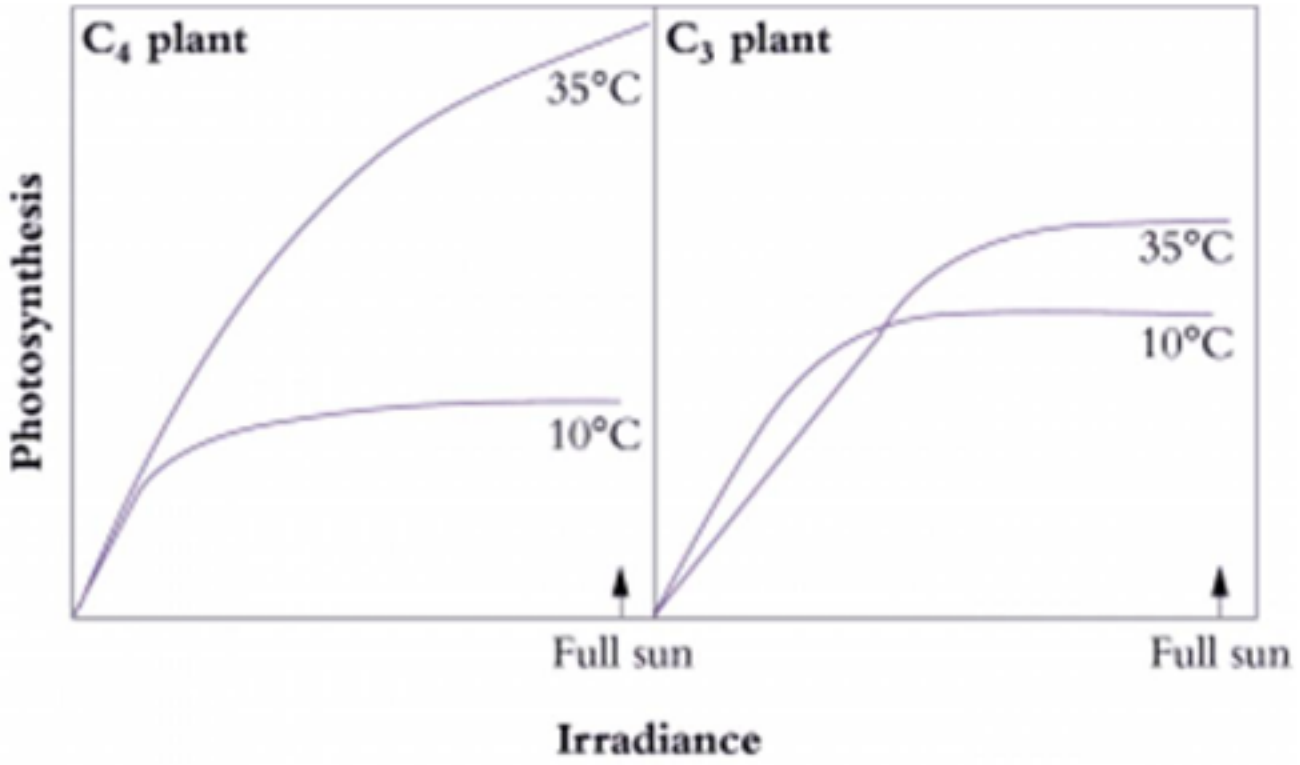
Infatti, le piante C4 cominciano a essere performanti quanto le C3 quanto le temperature superano i 10°C, e stravincono la competizione a temperature superiori ai 20°C.




Tasso fotosintetico per unità di superficie fogliare
C4 Piante
C3 Piante
1%
50%
100%
luce solare piena
Intensità luminosa
0°
20°
40°
Temperatura (gradi°C)

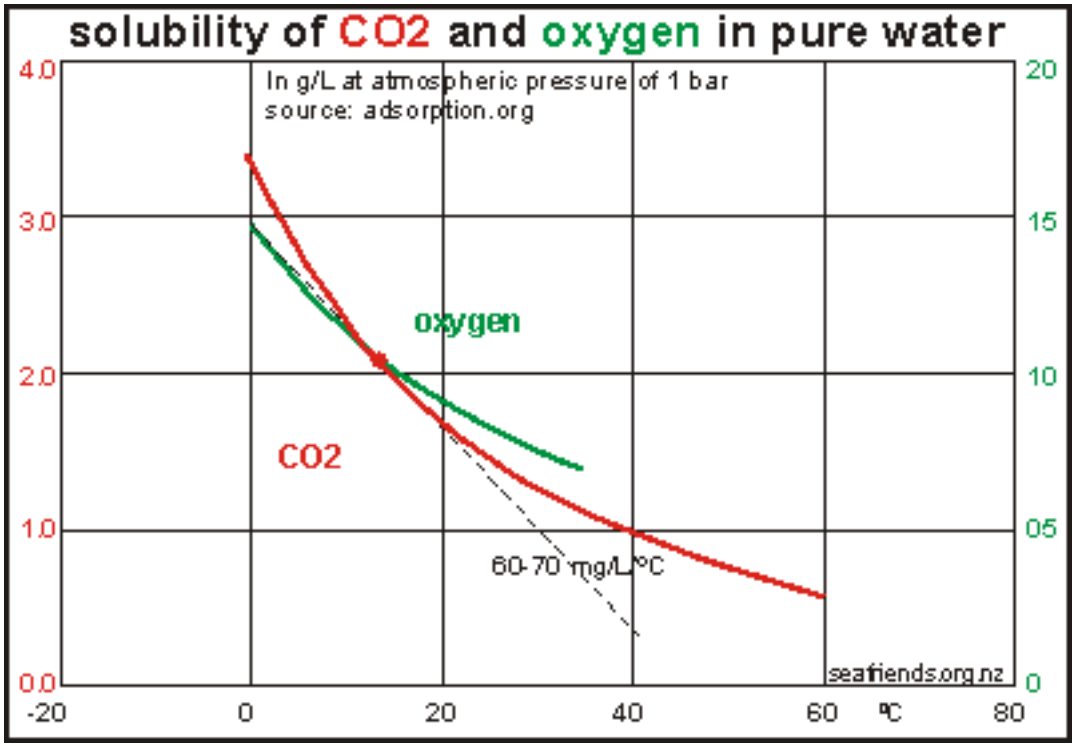


A temperature elevate le piante C4 sono molto più performanti delle C3. Queste sono invece più efficienti a basse temperature.





Questo a causa della ridotta solubilità dell'anidride carbonica, che decresce più rapidamente di quella dell'ossigeno, causando quindi un incremento della concentrazione relativa di quest'ultimo.
Questa è anche incrementata dalla aumentata velocità della fase luminosa della fotosintesi con la temperatura.





In conclusione, nelle piante $C_4$ la formazione di sostanze organiche da $CO_2$ avviene esattamente come nelle altre piante: essa è però preceduta da una fissazione provvisoria di $CO_2$ sotto forma di acidi organici, che vengono scambiati tra due tipi cellulari diversi: le cellule del mesofillo e le cellule della guaina.

Le piante C4 hanno il problema del costo di rigenerare l'acido fosfoenolpiruvico partendo dall'acido piruvico. Questo le fa consumare più ATP delle C3 a parità di numero di carboidrati sintetizzati. Come risultato, la fotosintesi C4 è competitiva solo in ambienti caldi e luminosi o nelle stagioni caratterizzate da questa combinazione di condizioni (per es. la nostra estate).



L’acido malico è praticamente un veicolo per trasportare la $CO_2$ nelle cellule della guaina del fascio concentrandola in quest’ultime.

Questo trasporto è facilitato dai numerosissimi plasmodesmi che collegano le due tipologie di cellule. Una volta liberata dal suo veicolo in seguito alla decarbossilazione la $CO_2$ non può più tornare indietro in quanto le cellule della guaina del fascio sono pochissimo permeabili alla $CO_2$ grazie alla parete suberificata.

In questo modo si crea all’interno della cellula della guaina un ambiente ad alta concentrazione di $CO_2$, **favorendo l’attività carbossilasica della RuBisCO e inibendo quella ossigenasica**. In altre parole si crea un microambiente ideale per favorire la fotosintesi e inibire la fotorespirazione.



Le condizioni di “**paradiso fotosintetico**” delle cellule della guaina del fascio vengono ulteriormente esaltate dall’assenza del fotosistema II nei loro cloroplasti. Inoltre la presenza di perossisomi fa si che l’anidride carbonica persa per fotorespirazione possa essere subito ricatturata prima che raggiunga gli stomi.

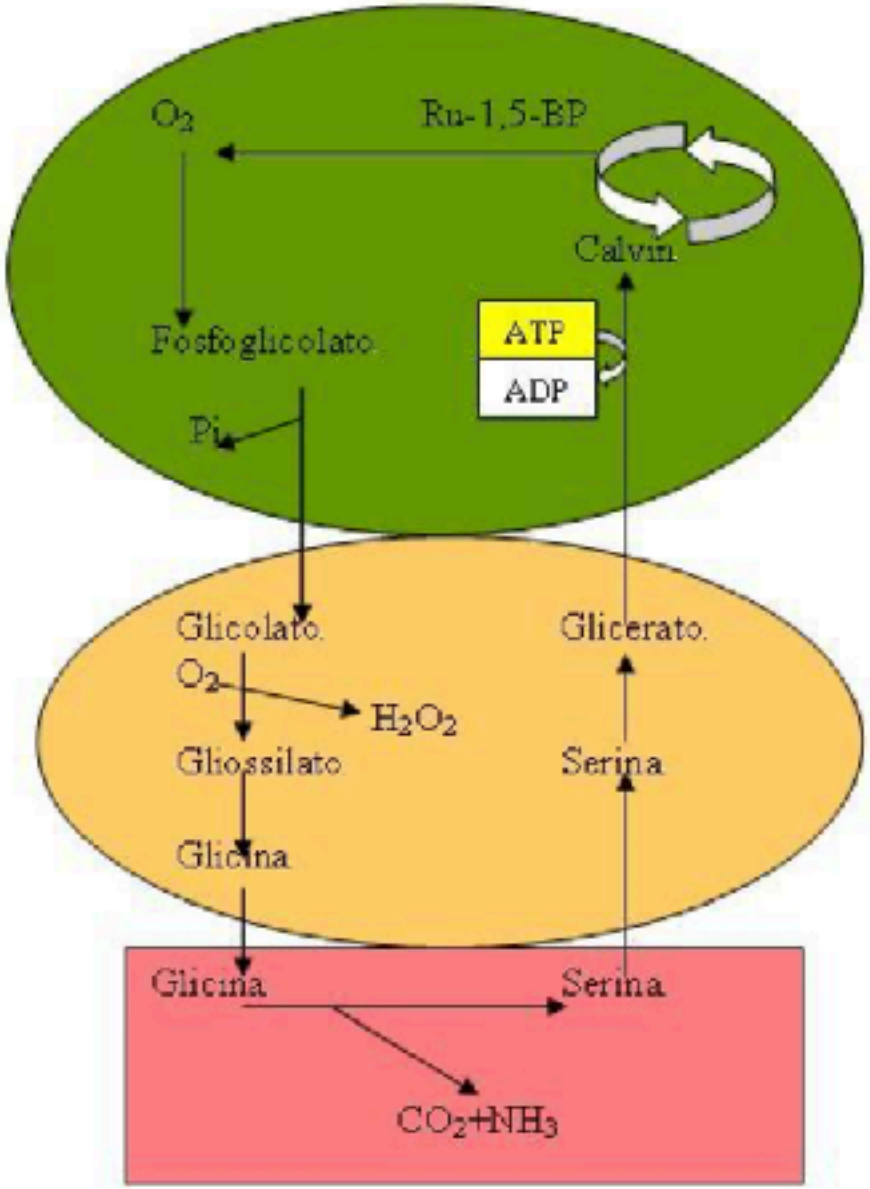
Questo grazie all’enzima PEP carbossilasi che lavora efficientemente anche a basse concentrazioni di substrato.



CLOROPLASTO

PEROSSISOMA

MITOCONDRIO





Le $C_4$ permettono anche un discreto risparmio di acqua. Questo perchè **l'enzima PEP carbossilasi è molto efficiente, e mantiene la concentrazione della $CO_2$ molto bassa negli spazi intercellulari** durante il giorno – più bassa che nelle piante $C_3$.

**Si crea così un gradiente di concentrazione della $CO_2$ tra aria esterna e spazi intercellulari della foglia particolarmente ripido**, che consente una più rapida entrata della $CO_2$ negli stomi. Una pianta $C_4$ con stomi parzialmente chiusi può fotosintetizzare alla stessa velocità di una $C_3$ con stomi completamente aperti ed evitare perdite eccessive di $H_2O$.

L'uso altamente economico della $CO_2$ fatto dalle piante $C_4$ è dimostrato anche dal punto di compensazione per la $CO_2$ che in queste piante si avvicina a zero. Invece nelle $C_3$ la fotosintesi netta si annulla quando la concentrazione per la $CO_2$ è scesa al 10-20% rispetto a quella normale dell'atmosfera.



Il fatto che il metabolismo C4 si sia evoluto più volte nella storia delle angiosperme ha fatto si che si sviluppassero diverse varianti, che differiscono principalmente per:

A) La natura del composto a 4 atomi di carbonio che fa da *carrier* per la CO2 (**acido malico o aspartico**), e del composto a 3 atomi di carbonio che torna alle cellule del mesofillo (**piruvato o alanina**)

B) L'enzima che catalizza la decarbossilazione nelle cellule della guaina del fascio.

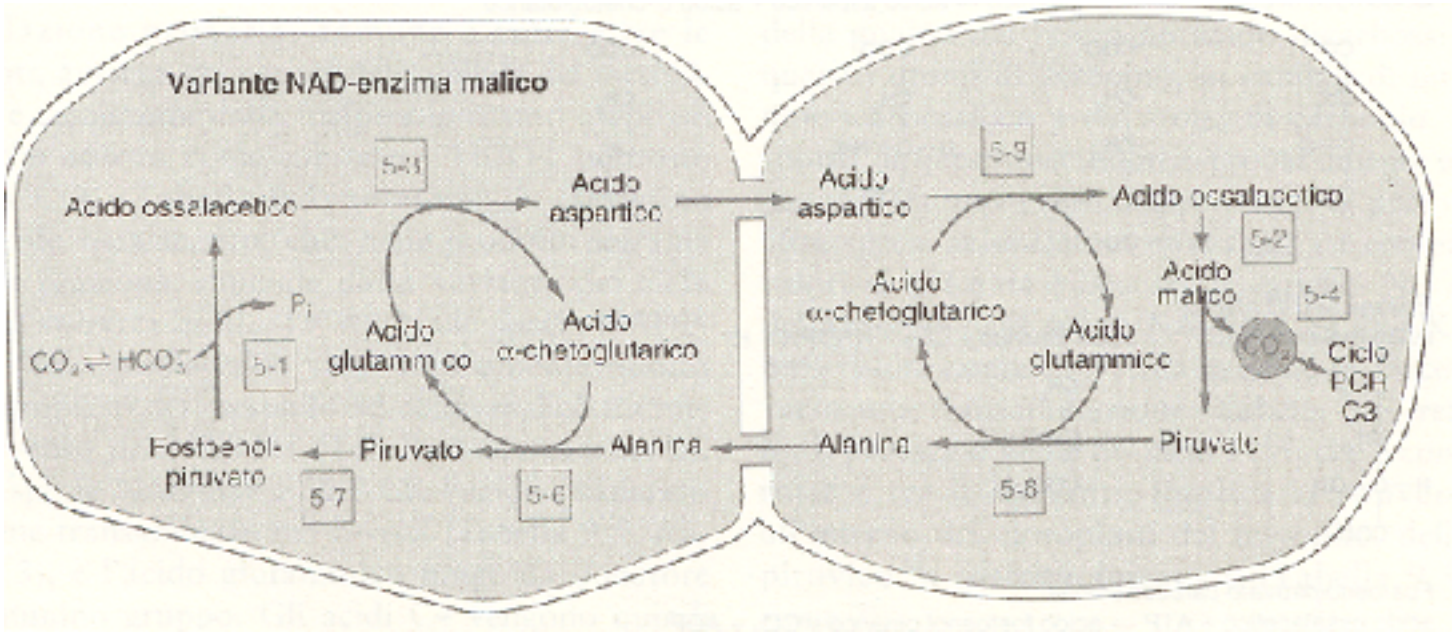
Inoltre, vi sono delle varianti intermedie.

La tipologia di metabolismo C4 fino a ora vista è quella probabilmente più diffusa, in cui il carrier è l'acido malico, e l'enzima che catalizza la reazione di decarbossilazione è una **malato deidrogenasi** (**enzima NADP-malico**).



**Tipo NAD-ME**

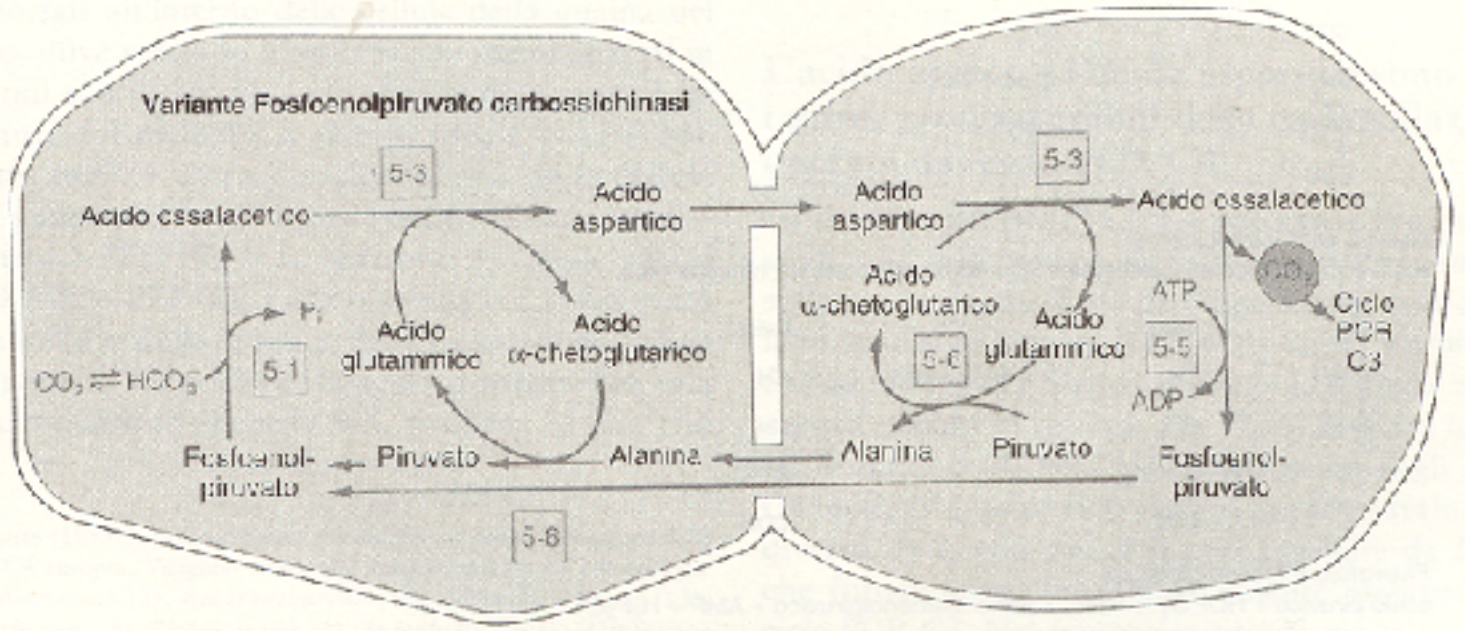
In questo caso l'enzima coinvolto è un'altra malato deidrogenasi, l'enzima NAD-malico. Il substrato in questo caso non è il NADP, ma il NAD.





**Tipo PEPCK**

In questo caso l'enzima coinvolto è la **fosfoenolpiruvato carbossichinasi**. Il carrier è l'acido aspartico, che viene convertito in ossalacetato, poi decarbossilato nel citosol delle cellule della guaina del fascio con consumo di ATP.





Tuttavia, come spesso in natura, la cose non sono coì "semplici".
Recenti studi hanno posto l'ipotesi che la terza "via", quella che è contraddistinta dalla PEPCK, non sia mai presente come unica via metabolica C4, ma sia sempre accoppiata a una delle altre due, quale via supplementare per la decarbossilazione del'ossalacetato nelle cellule della guaina del fascio.
In diverse specie, questa via supplementare può essere completamente assente, o presente a vario grado.

Di fatto quindi, le classiche tre vie metaboliche C4 dovrebbero essere ridotte a due, con un ulteriore metabolismo supplementare che può andare a supportarle a vario grado in diverse specie.



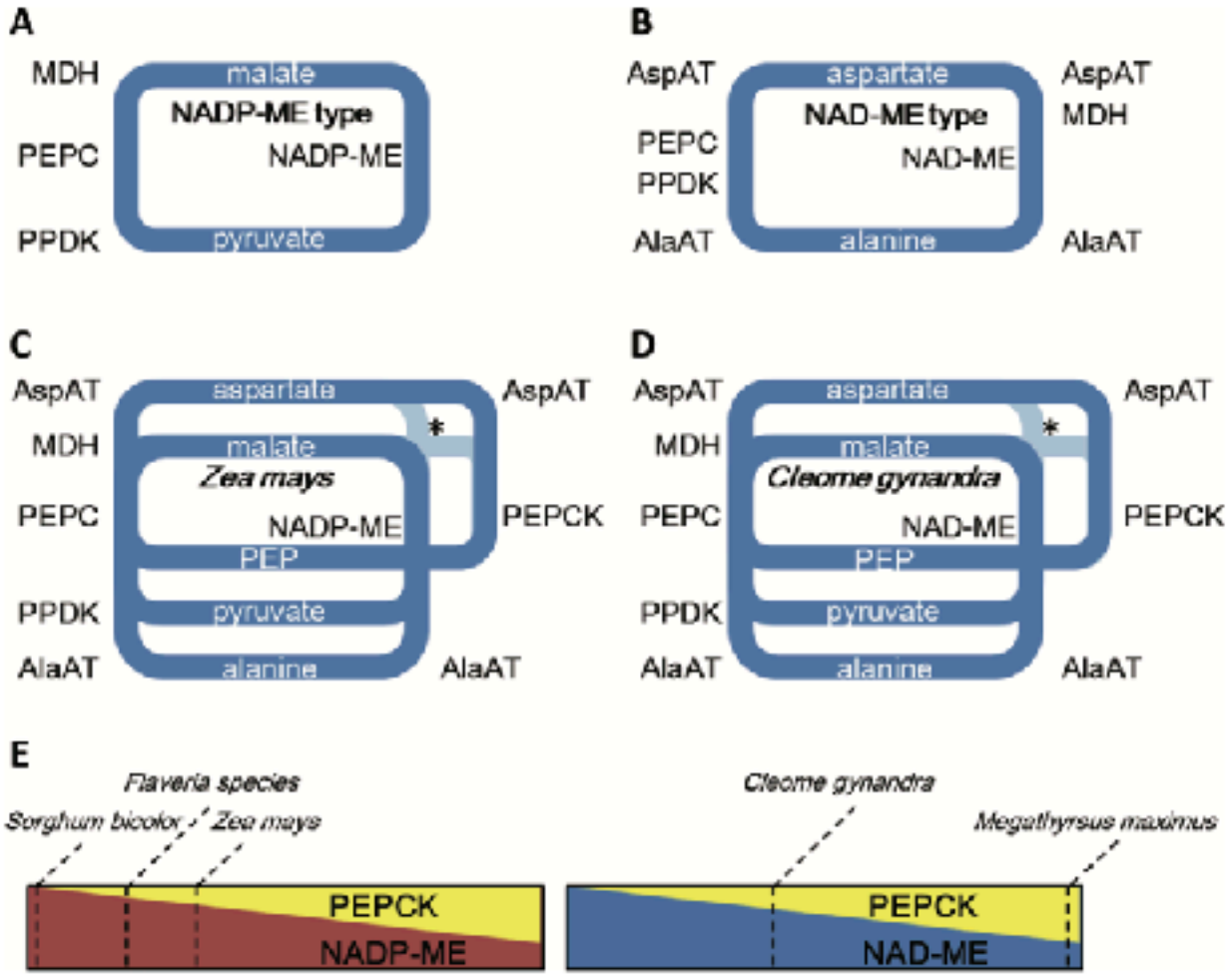



**Fig. 8.** Textbook pathways (A, B) in comparison with the situation in the plant (C, D) for the NADP-ME type (A, C) and the NAD-ME type (B, D). Asterisks indicate where it is not clear whether the circles are also connected at this point by Asp aminotransferase and MDH. The $C_4$ cycles have to be rewritten as branched cycles that split at the position of $C_4$ transfer acid into aspartate and malate and at the position of $C_3$ transfer acid into pyruvate, alanine, and (for PEPCK-using species) PEP. The proportions of different transfer acids probably vary with changing environmental conditions: for example, light for malate reduction or nitrogen availability for amino acids as transfer acids. (E) Contribution of PEPCK to malic enzyme activity in five different $C_4$ species. AlaAT, alanine aminotransferase; AspAT, aspartate aminotransferase; MAL, malate; MDH, malate dehydrogenase; NADP-ME, NADP-malic enzyme; PEP, phosphoenolpyruvate; PEPC, phosphoenolpyruvate carboxylase; PEPCK, phosphoenolpyruvate carboxykinase; PPDK, pyruvate phosphate dikinase.



*Sorgum bicolor* (L.) Moench
Poaceae

Coltivato anche in Italia come alimento per il bestiame. Nei paesi in via di sviluppo usato per l'alimentazione umana





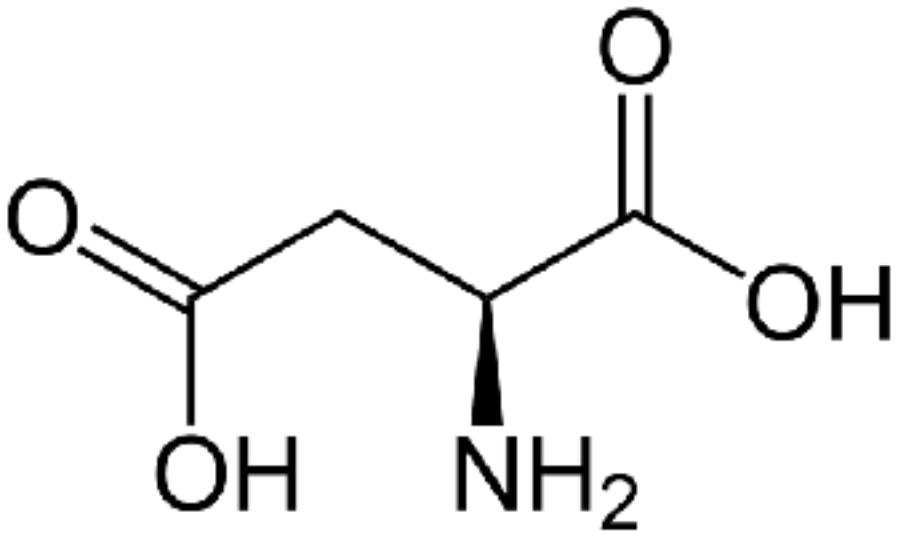


*Megathyrsus maximus* (Jacq.) B.K.Simon & S.W.L.Jacobs
Poaceae

Pianta erbacea perenne dei climi caldi e secchi, nativa del continente africano

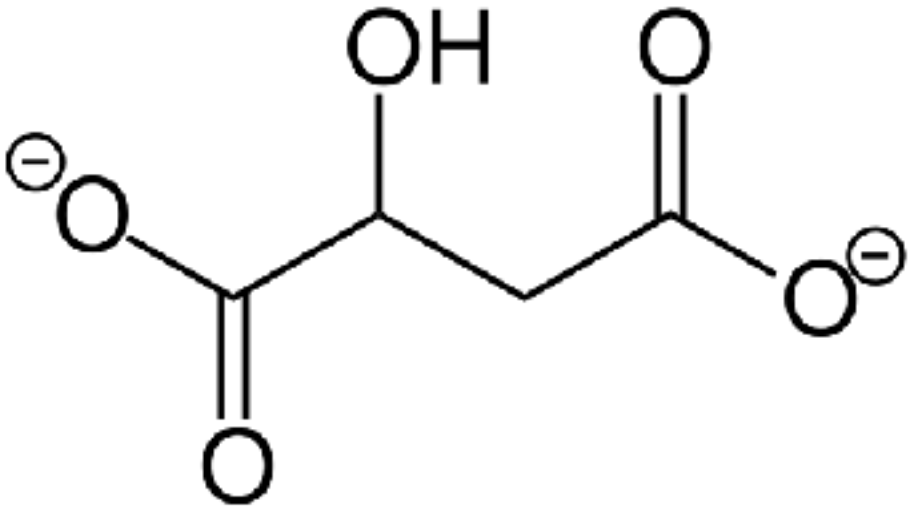







Acido aspartico

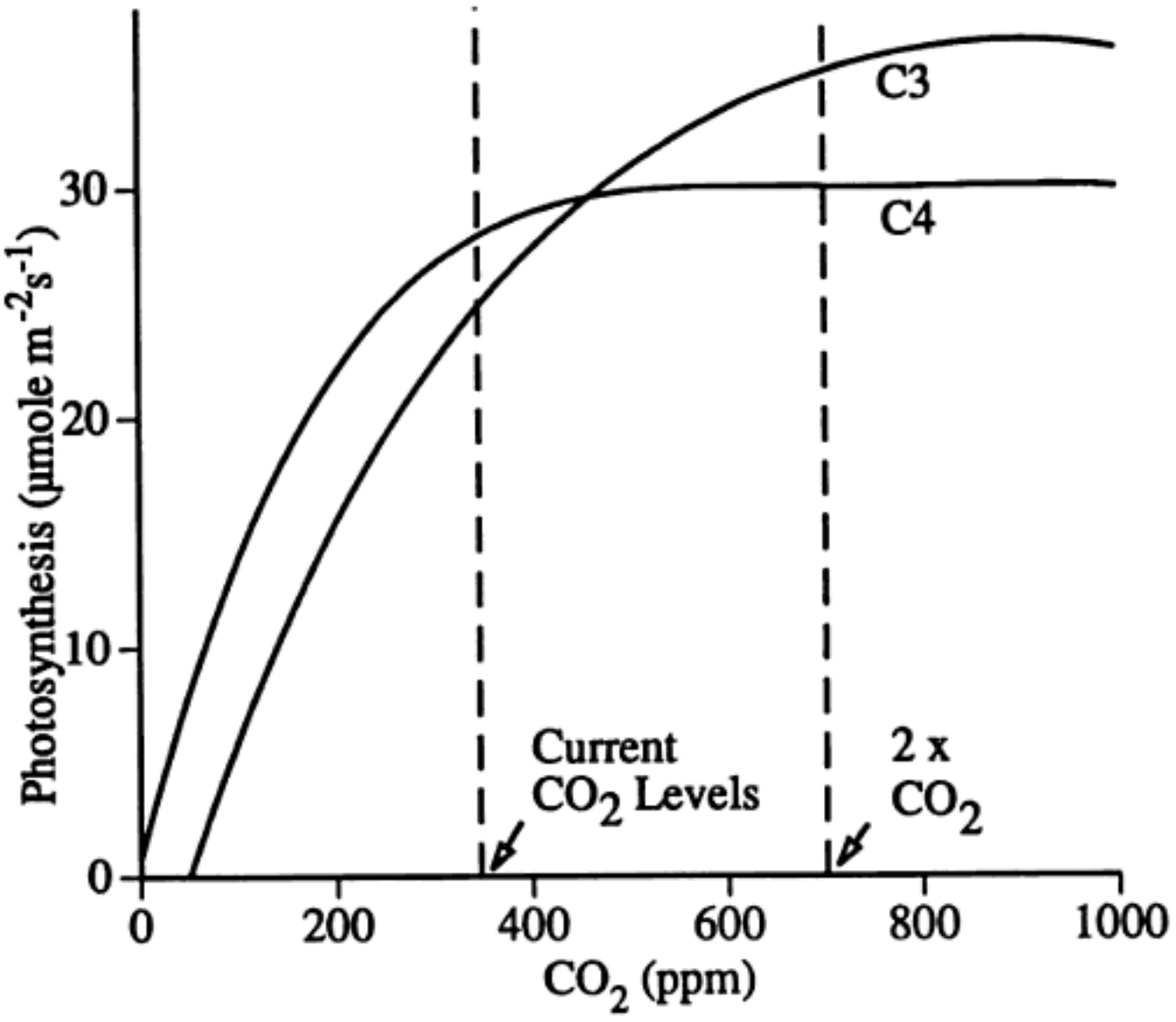
Malato





# Effetto del cambiamento climatico sulle piante C3 e C4




C3
C4
30
20
10
0
Photosynthesis (µmole m-2s-1)
Current
CO2 Levels
2 x
CO2
0
200
400
600
800
1000
CO2 (ppm)



Diversi studi hanno messo in evidenza che un aumento della concentrazione di anidride carbonica in atmosfera favorisce maggiormente le piante C3 rispetto alle C4. Questo avviene come conseguenza della presenza stessa dei metabolismi di trasporto della anidride carbonica, che oltre una certa soglia raggiungono una velocità massima, che non può essere superata.

Quindi, considerato che un aumento di temperatura favorisce le C4, e un aumento di $CO_2$ favorisce le C3, quale potrebbe essere lo scenario futuro?
Obiettivamente difficile fare ipotesi, anche se l'aumento della $CO_2$ in atmosfera è stato enorme, circa il 30% negli ultimi 50 anni.

Tuttavia, i ricercatori scommettono molto sull'efficienza del metabolismo C4….



## Riso…. C4?

Il riso (*Oryza sativa*, con tutte le sue variati coltivate) è una pianta C3.
Tuttavia, essendo il riso la principale fonte di calorie per una enorme fetta della popolazione mondiale, un aumento della produttività per ettaro conseguente a una aumentata efficienza fotosintetica sarebbe una panacea per la fame nel mondo. Attualmente in Asia circa 600 milioni di persone sono a rischio malnutrizione, e la popolazione totale dell'Asia è destinata a aumentare di circa 1,5 miliardi da qui al 2050.

Per questo motivo, i ricercatori stanno analizzando la possibilità di indurre in un cultivar di riso delle modificazioni che portino a una anatomia Krantz, e all'evoluzione di un metabolismo C4, che nelle condizioni ottimali rende le piante fotosinteticamente più efficienti di circa il 50% (un miglioramento della produttività per ettaro sufficiente a risolvere i problemi alimentari dell'Asia da qui al 2050).



*Oryza sativa* L.
Poaceae







# Fotosintesi nelle piante CAM



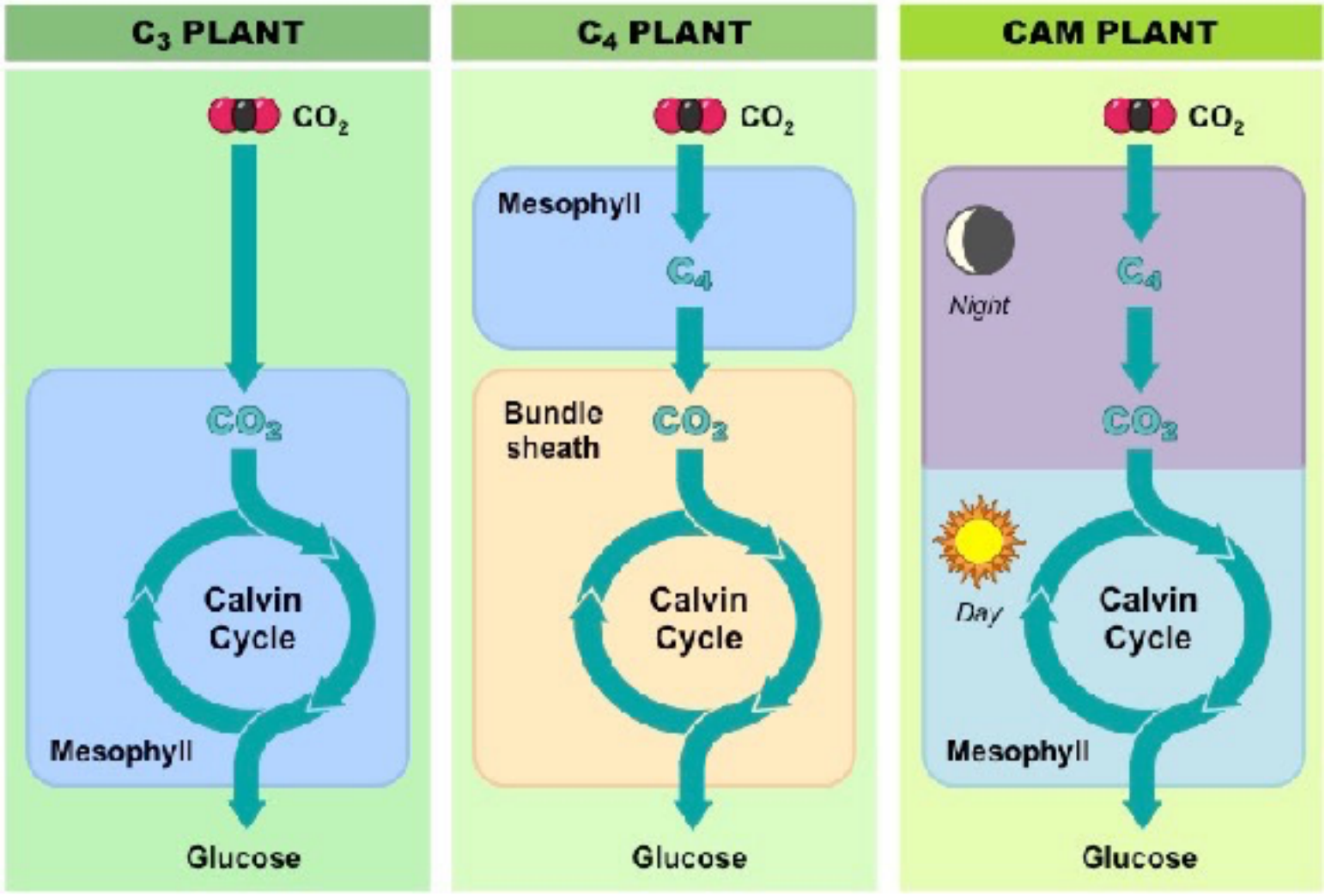
## Piante CAM

Un altro gruppo di specie che fissano $CO_2$ in modo provvisorio è costituito dalle piante CAM (**C**rassulacean **A**cid **M**etabolism = Metabolismo Acido delle Crassulacee).

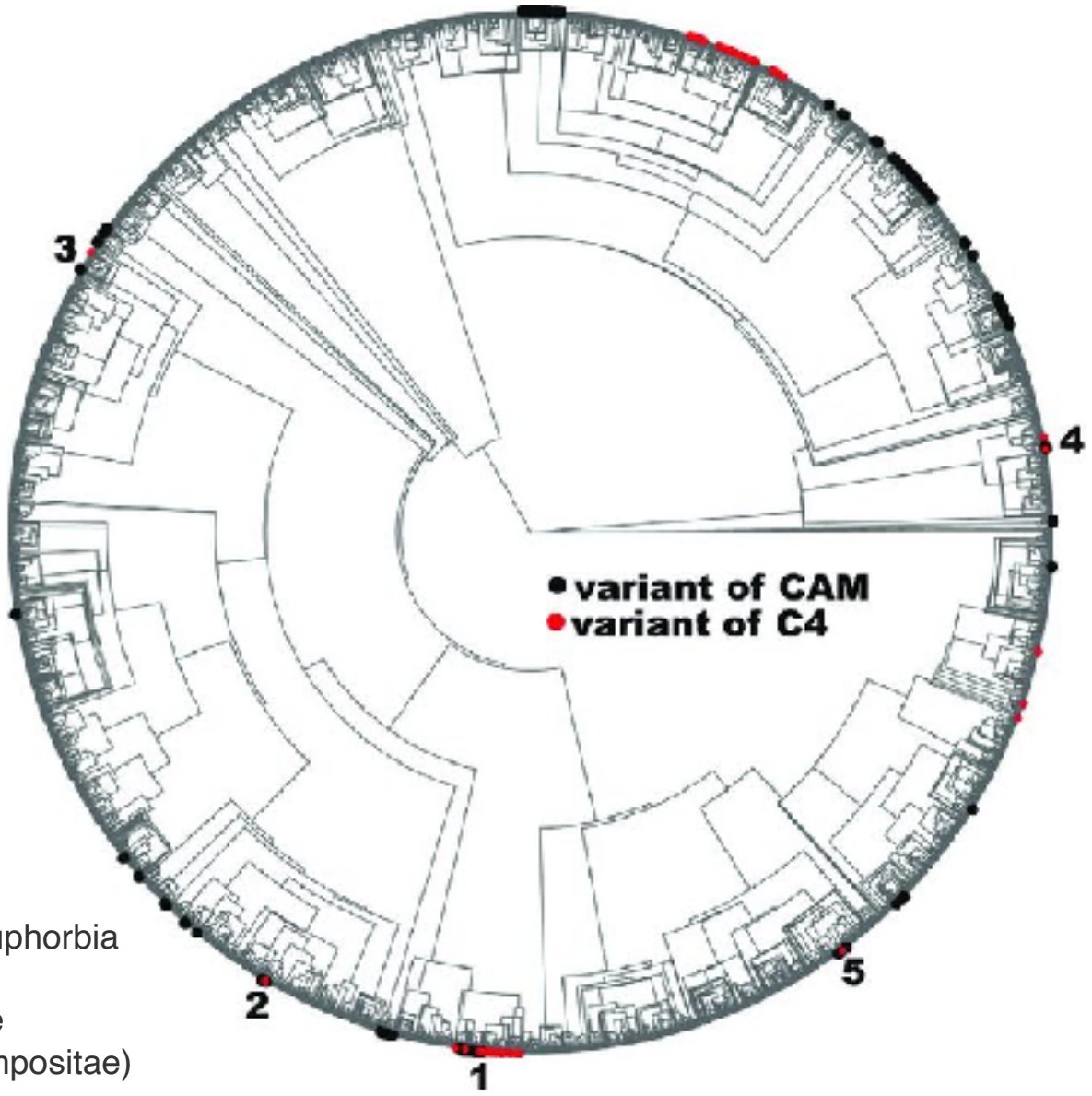
Mentre le piante C4 sono circa il 3% del totale delle piante vascolari, le CAM sono circa il 6%.

Sono praticamente delle C4 che “non ce l’hanno fatta”, perché hanno un metabolismo C4, ma non la separazione spaziale. Infatti, sia la cattura della CO2 in forma di malato che la sua decarbossilzione avvengono nelle cellule del mesofillo, e manca l’anatomia Krantz.




C3 PLANT
CO2
CO2
Calvin Cycle
Mesophyll
Glucose
C4 PLANT
CO2
Mesophyll
C4
Bundle sheath
CO2
Calvin Cycle
Glucose
CAM PLANT
CO2
Night
C4
CO2
Day
Calvin Cycle
Mesophyll
Glucose






(1) Caryophyllales
(2) Chamaesysce/Euphorbia
(3) Brassicales
(4) Hydrocharitaceae
(5) Asteroideae (Compositae)



Tra le piante CAM più note troviamo:

- le tipiche piante succulente della famiglia delle Crassulaceae, adattate a vivere in ambienti aridi, anche di casa nostra;

- le Cactacee;

- piante epifite (es. Bromeliaceae) delle foreste tropicali, tra cui qualche felce, e la mitica *Welwitschia*.

Si noti che mentre le C4 sono tutte angiosperme, le CAM sono anche gimnosperme, isoete e felci



*Sedum album* L.
Crassulaceae







*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.
Cactaceae







*Ananas comosus* (L.) Merr.
Bromeliaceae







*Welwitschia mirabilis* Hook.f.
Welwitschiaceae





Le piante CAM separano nettamente nel tempo il momento dell'entrata della $CO_2$ nella foglia da quello della sua fissazione nel ciclo di Calvin.

Il funzionamento è relativamente semplice:

**Di notte** esse aprono gli stomi, fanno entrare la $CO_2$ e la fissano in modo analogo alle $C_4$ formando acidi organici a 4 atomi di C (tipicamente acido malico).
**Di giorno** esse tengono gli stomi chiusi (tanto ormai la $CO_2$ è stata assorbita e immobilizzata negli acidi organici) e decarbossilano gli acidi generati durante la notte liberando nuovamente la $CO_2$. Questa viene ora fissata normalmente attraverso la RuBisCO nel ciclo di Calvin.



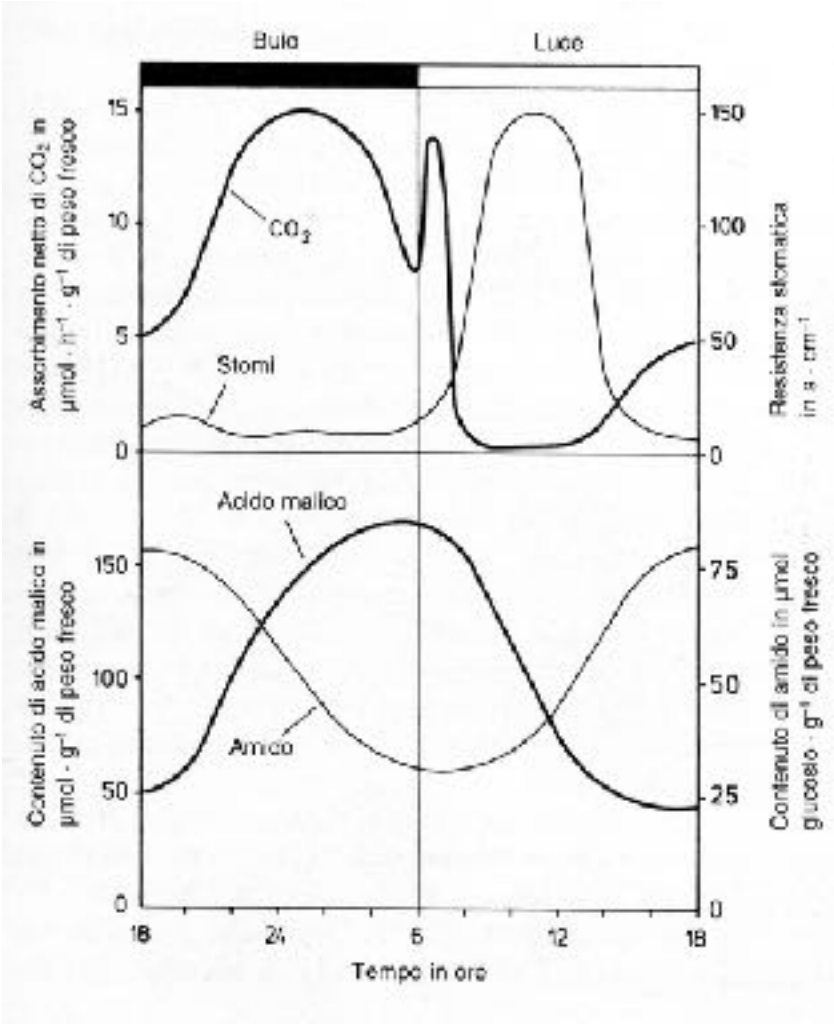
Nei periodi aridi, questa variante della fotosintesi normale consente alle piante CAM di tenere gli stomi aperti solo di notte quando la temperatura è più bassa e chiuderli di giorno quando il pericolo di andare in deficit d'acqua sarebbe maggiore.

La "politica" fotosintetica delle CAM cerca di ottenere un risparmio d'acqua attraverso una fissazione provvisoria della $CO_2$.

Nelle piante CAM la pre-fissazione e la fissazione vera e propria avvengono in un solo tipo cellulare, ma in due momenti diversi, la notte e il giorno.



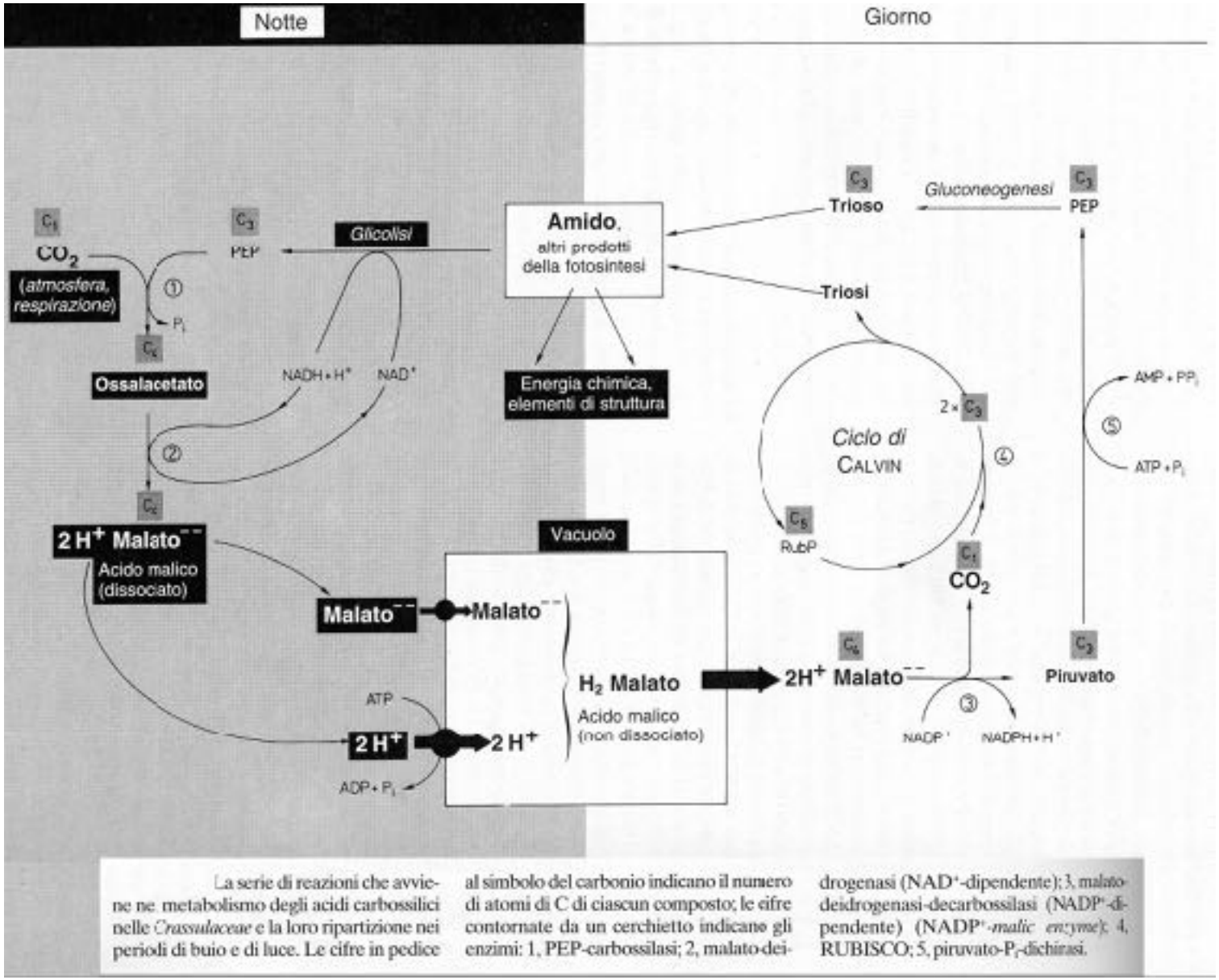







Andamento di alcuni tipici fenomeni del metabolismo degli acidi carbossilici nelle *Crassulaceae* durante il ciclo notte-giorno. In alto: assorbimento netto di $CO_2$ nelle foglie e resistenza stomatica alla diffusione. In basso: contenuto in acido malico e in amido nelle foglie. I valori indicati corrispondono a valori medi che possono variare molto secondo le specie e le condizioni esterne.






La serie di reazioni che avviene nel metabolismo degli acidi carbossilici nelle *Crassulaceae* e la loro ripartizione nei periodi di buio e di luce. Le cifre in pedice al simbolo del carbonio indicano il numero di atomi di C di ciascun composto; le cifre contornate da un cerchietto indicano gli enzimi: 1, PEP-carbossilasi; 2, malato-deidrogenasi (NAD+-dipendente); 3, malato-deidrogenasi-decarbossilasi (NADP+-dipendente) (NADP+-*malic enzyme*); 4, RUBISCO; 5, piruvato-$P_i$-dichirasi.

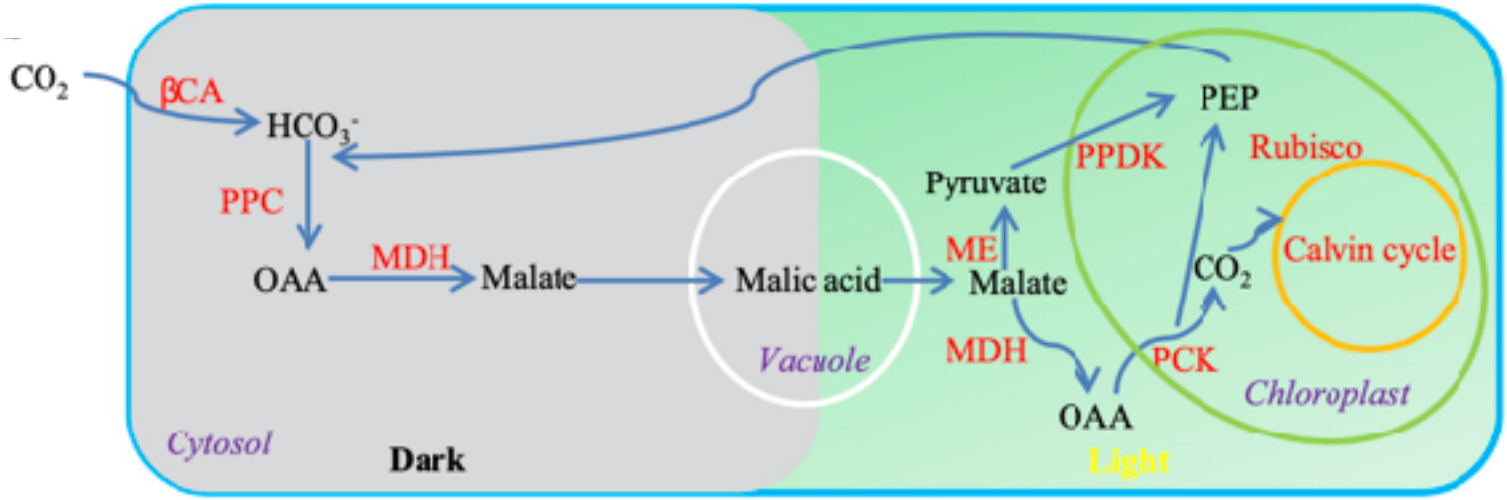


Distretto fondamentale dell'accumulo è **il grande vacuolo vegetativo**. L'ingresso di malato avviene progressivamente contro un gradiente sempre più pronunciato, quindi richiede consumo di energia (ATP). L'efflusso durante il giorno è ad opera di acido malico indissociato (per le alte concentrazioni intravacuolari), dal vacuolo verso il citoplasma, dove l'acido malico viene decarbossilato.

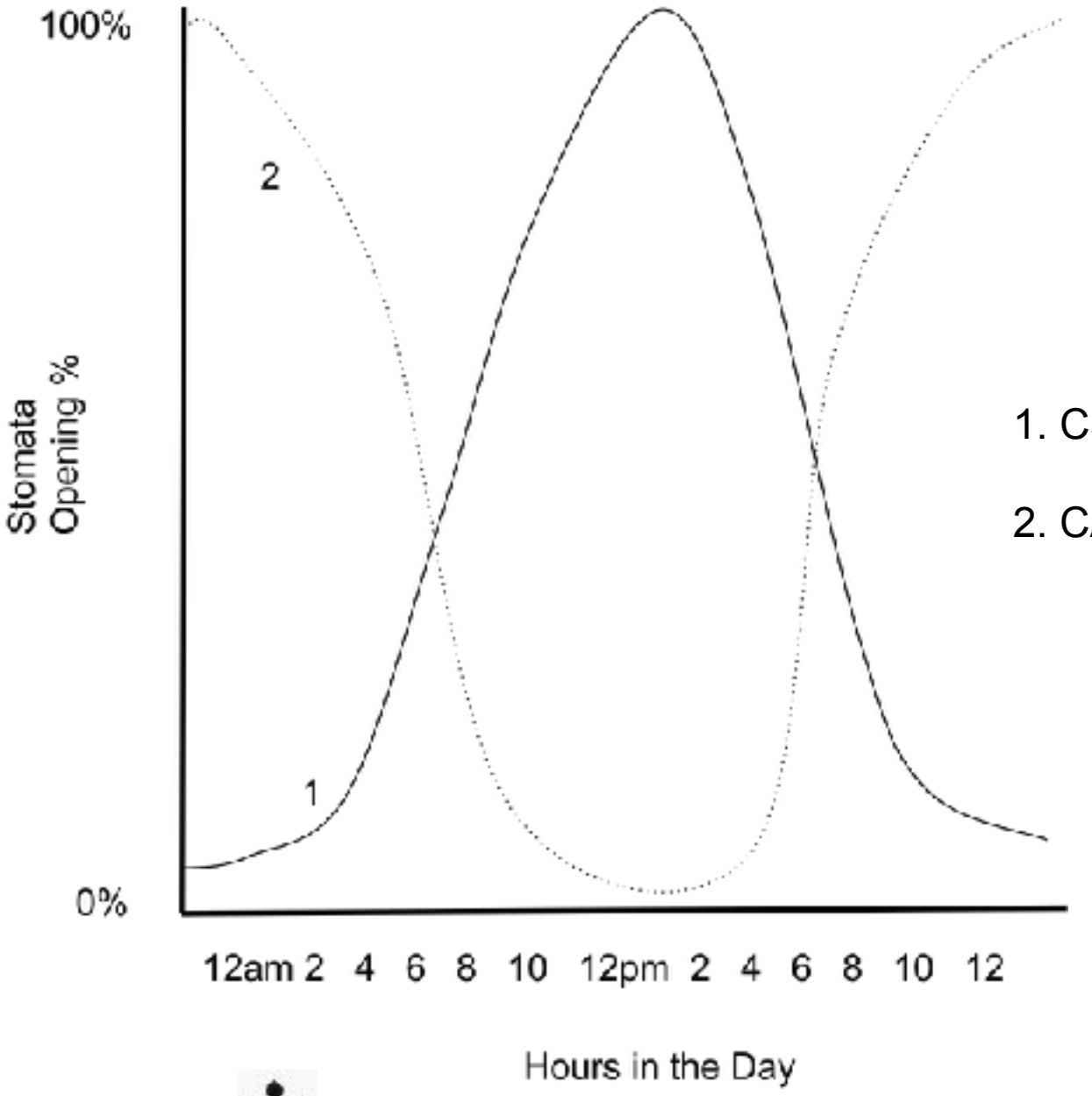
Il funzionamento del metabolismo CAM si basa su una regolazione negativa della PEP-carbossilasi, enzima che viene inibito (=*non riesce a lavorare*) dall'acido malico, una molecola del quale si lega alla catena proteica, modificandone la struttura terziaria. Questo inibisce la fissazione della $CO_2$ da parte della PEP-carbossilasi, eliminando la possibilità che la PEP-carbossilasi citoplasmatica leghi la $CO_2$ al posto della RUBISCO plastidiale.



Il rilascio della CO2 dal malato può avvenire o tramite la malato deidrogenasi (enzima NADP-malico), o tramite le fosfoenol-piruvato carbossichinasi (PEPCK).
Inoltre, a seconda dello stato di idratazione, sembra che la regolazione dell'azione del PEPCK vari durante il giorno.
Di certo, i due meccanismi di decarbossilazione possono lavorare contemporaneamente nelle piante CAM.






100%
2
Stomata
Opening %
1
0%
12am 2 4 6 8 10 12pm 2 4 6 8 10 12
Hours in the Day

1. C3, C4

2. CAM



Due aspetti chiave del metabolismo CAM:

(i) L'apertura degli stomi è regolata (anche) dalla concentrazione parziale interna della $CO_2$, che dipende da questa attività enzimatica particolare. Di notte gli stomi stanno aperti per il forte consumo della $CO_2$ interna per opera della PEP-carbossilasi, di giorno stanno chiusi perché c'è $CO_2$ a sufficienza.

(ii) L'elevata concentrazione di malato a livello vacuolare di notte determina un incremento della pressione osmotica, che si accompagna di conseguenza ad una aumentata efficienza di assorbimento radicale: la pianta riesce a recuperare più acqua, proprio quando l'ambiente offre eventuali fenomeni di condensa sulla superficie del terreno.



# Metabolismo fotosintetico e consumo d'acqua.

Alcuni dati riguardanti l'economia dell'acqua e del carbonio nel corso della fotosintesi delle piante $C_3$, $C_4$ e CAM (da C. BLACK). Il quoziente di traspirazione indica quanti g d'acqua vengono perduti quando viene assorbito dall'atmosfera e assimilato mediante la fotosintesi 1 g di carbonio.

| | $C_3$ | $C_4$ | CAM |
|---|---|---|---|
| Quoziente di traspirazione in g $H_2O \cdot g^{-1}$ di C | Da 450 a 950 | Da 250 a 350 | Da 18 a 100 (per la fissazione di $CO_2$ durante la notte)<br>Da 150 a 600 (per la fissazione di $CO_2$ durante il giorno) |
| Velocità massima della fotosintesi netta in mg $CO_2 \cdot m^{-2}$ di sup. fogliare $\cdot s^{-1}$ | Da 0,41 a 1,10 | Da 1,1 a 2,2 | Da 0,027 a 0,360 |
| Velocità massima dell'aumento di sostanza secca in g $\cdot m^{-2}$ di sup. fogliare $\cdot d^{-1}$ | Da 50 a 200 | Da 400 a 500 | Da 1,5 a 1,8 |



Le specie con metabolismo CAM sono specie adattate a condizioni di forte stress idrico, sia esso permanente, come nei deserti, o periodi, come in tutti quegli ambienti ove a periodi di relativa abbondanza d'acqua si alternano periodi di aridità intensa.
Si pensi anche a molte specie epilitiche, dove l'acqua non permane nel substrato.

Queste specie sono contraddistinte anche da adattamenti morfologici per resistere alle condizioni spesso estreme in cui si trovano a crescere. In particolare, spesso esibiscono un basso rapporto superficie/volume, riducendo così la superficie attraverso la quale può avvenire l'evapo-traspirazione. Spesso hanno anche stomi infossati, e spesse cuticole.



Esistono anche piante che non sono CAM obbligate, ma che usano questo metabolismo quando le condizioni lo rendono utile.

Si tratta di piante C3 o C4 in cui il metabolismo CAM può essere indotto da condizioni di elevato stress idrico prolungato. Queste sono in grado di cambiare completamente la strategia fotosintetica durante l'anno.

Un altro caso sono le specie che hanno un metabolismo CAM pur non aprendo, o aprendo molto poco gli stomi di notte. Queste accumulano (e usano) CO2 durante il giorno, e al contempo riciclano la CO2 prodotta dalla fotorespirazione.

Si tratta probabilmente di casi intermedi di passaggio da metabolismi C3 o C4 e CAM vere e proprie



# Ricapitolando, quindi….

