

Biologia vegetale (3 cfu)

Laurea specialistica in Farmacia

21. FOTOSINTESI

generalità

fase luminosa

fase oscura

altre vie fotosintetiche

FOTOSINTESI

A. Fotosintesi: generalità

E' un processo che utilizza l'energia luminosa per fare una sintesi.

La sintesi è quella dei carboidrati a partire da acqua e anidride carbonica.

I carboidrati sono molecole che costituiscono un buon deposito di energia infatti si scindono in reazioni ampiamente esoergoniche.

La loro sintesi chiede grandi quantità di CO_2 e H_2O che sono disponibili nell'ambiente, non risultano tossiche e sono quindi gestibili facilmente dalle cellule vegetali.

Nella CO_2 il carbonio è nello stato di ossidazione +4 mentre nei carboidrati ha stato di ossidazione 0.

Il carbonio quindi deve essere ridotto con l'impiego di 4 elettroni e 2 protoni.

Il carbonio è più stabile nella forma ossidata +4 per cui ci vuole energia per trasformarlo nella forma ridotta.

E' quindi necessaria una fonte di elettroni e protoni (potenziale riducente): **l'acqua**.

E' inoltre necessaria una sorgente di energia: **la luce solare**.

L'azione di acqua e energia sull'anidride carbonica non è diretta ma è mediata da molecole che sono rispettivamente NADPH (potenziale riducente) e ATP (energia).

Tali molecole sono semistabili e assai mobili.

Esse sono capaci di caricarsi per poi spendere la propria capacità di reazione interagendo con la CO_2 e in seguito vengono ricaricate per tornare a reagire con l'anidride carbonica.

E' anche fondamentale la presenza di molecole capaci di accettare e donare elettroni e che, disposte e assortite opportunamente in funzione della loro facilità ad acquistare e cedere elettroni, possono delle vere e proprie catene di trasporto degli stessi.

Questi trasportatori elettronici sono i citocromi (proteine con eme in cui il ferro oscilla tra gli stati di ossidazione +2 e +3), plastochinoni e plastocianina (proteina con un atomo di rame che oscilla tra gli stati di ossidazione +1 e +2).

Il processo in cui NADPH e ATP vengono ricaricati avviene nella fase della fotosintesi in cui la luce interviene direttamente (fase luminosa).

L'interazione con la CO_2 e la sintesi dei carboidrati avviene in una serie separata di reazioni in cui la luce non interviene più direttamente (fase oscura).

B. Fotosintesi: la fase luminosa

Le piante utilizzano per la fotosintesi luce con lunghezza d'onda compresa tra i 390 nm (violetto) e i 760 nm (rosso).

Le radiazioni con diversa lunghezza d'onda interagiscono con pigmenti chimicamente diversi capaci di trasmettere l'energia luminosa a elettroni capaci di partecipare alle reazioni chimiche.

In altri termini il pigmento assorbe un quanto di luce e permette a un elettrone nello stato fondamentale di saltare in un orbitale con livello energetico più elevato (stato eccitato).

Il pigmento fotosintetico principale è la clorofilla a che assorbe luce rossa (660 nm) e blu (440 nm); è costituita da una coda di fitolo (agganciata nella membrana tilacoidale) e da un anello porfirinico (giacente alla superficie della membrana del tilacoide) che funge da antenna.

La luce visibile ha un range di energie adatto a eccitare elettroni perché possano partecipare alle reazioni chimiche; se ciò non avviene gli elettroni allo stato eccitato ritornano allo stato fondamentale emettendo energia sottoforma di luce con lunghezza d'onda maggiore di quella assorbita (fluorescenza).

La radiazione ultravioletta è anche troppo energetica e gli elettroni eccitati verrebbero allontanati in modo permanente dalla molecola di clorofilla; le radiazioni infrarosse e le microonde sono troppo poco energetiche e un loro assorbimento specifico implicherebbe un forte riscaldamento delle parti vegetali.

I pigmenti accessori permettono di sfruttare le lunghezze d'onda che non sono direttamente captate dalla clorofilla a.

Nelle piante terrestri tra i pigmenti accessori è importante la clorofilla b, con struttura simile alla clorofilla a, che può trasmettere per risonanza l'energia captata dal proprio anello porfirinico agli anelli porfirinici delle molecole di clorofilla a circostanti; queste destinano poi l'energia alla effettuazione di reazioni chimiche.

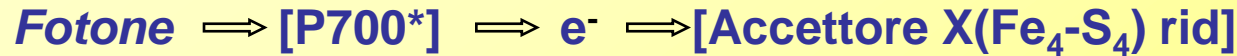
Altri pigmenti accessori, meno efficienti della precedente nel trasmettere energia, sono i carotenoidi; questi però esercitano una funzione protettiva importante assorbendo l'energia in eccesso.

I pigmenti fotosintetici sulla membrana del tilacoide sono organizzati in unità fotosintetiche; la loro organizzazione fa sì che la cattura di un fotone da parte della molecola di clorofilla, cui consegue l'eccitazione di un e-, non implichi semplicemente nel ritorno dell' e- al suo stato fondamentale con l'emissione di luce di fluorescenza ma che lo stesso e- possa essere trasferito ad altre molecole e possa quindi partecipare a reazioni chimiche.

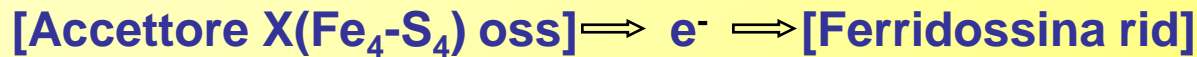
La prima unità fotosintetica è il fotosistema 1 in cui vi sono molecole di clorofilla a e clorofilla b (in rapporto 4/1) oltre a carotenoidi. La seconda unità fotosintetica è il fotosistema 2 in cui vi sono molecole di clorofilla a e clorofilla b (in rapporto circa 1/1) oltre a carotenoidi.

All'interno del fotosistema 1 l'energia luminosa viene captata dalle clorofille e dai pigmenti accessori e trasferita per risonanza al centro di reazione costituito da 2 molecole di clorofilla a, capaci di assorbire luce di 700 nm e per questo dette P700.

L'energia eccita 1' elettrone del P700 che passa ad un primo accettore X (o $\text{Fe}_4\text{-S}_4$) che contiene ferro e zolfo:



L'Accettore X diviene fortemente riducente (-0.73 V) e passa l'elettrone alla ferridossina:



Anche la ferridossina viene ridotta acquistando proprietà molto riducenti (-0,43 V) che le permettono di passare l'elettrone alla Ferridossina-NADP⁺ riduttasi;

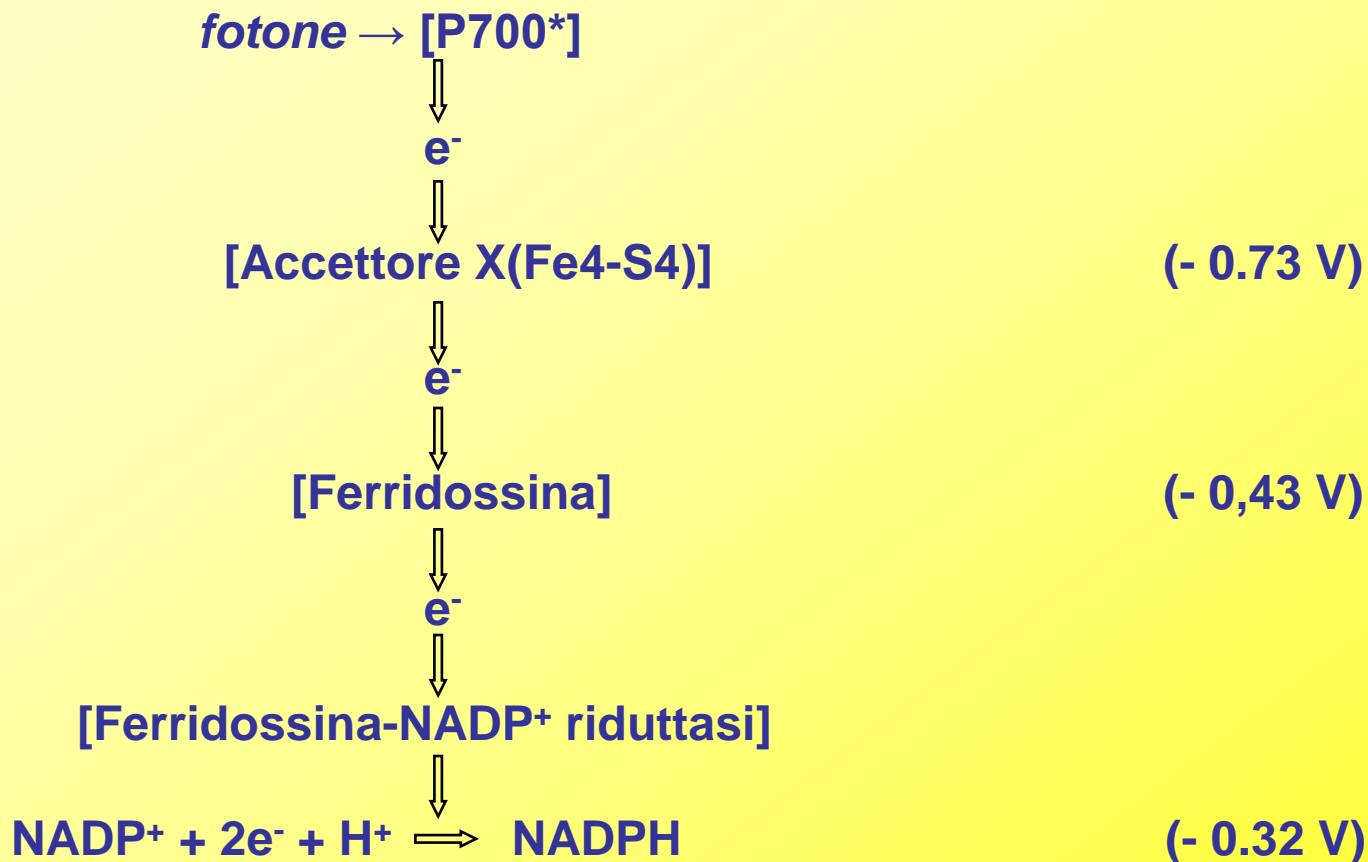


Questa è un enzima capace di ridurre NADP⁺ e convertirlo a NADPH e per questo ha necessità di 2 elettroni e 1 protone:



NADPH rimane un attivo agente riducente (-0.32 V) ma è abbastanza stabile da potersi spostare per andare a interagire ove questo è necessario senza interferire con altri processi.

In sintesi ciò che avviene nel fotosistema 1 è questo:



Il risultato netto dell'azione del fotosistema 1 è quindi la creazione di forza riducente nella forma di NADPH.

Ma fino a questo punto ciò che si ingenera è una perdita netta di elettroni nel P700 che potrebbe portare a una destabilizzazione delle molecole di clorofilla.

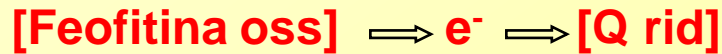
Tale carenza elettronica deve essere ripianata.

La disponibilità di elettroni che ripianano tale mancanza deriva dall'attività del fotosistema 2.

Il centro di reazione del fotosistema 2 è chiamato P680 (anche in questo caso in funzione del tipo di radiazioni assorbite) che colpito da un fotone rilascia un elettrone a una molecola di feofitina; questa è simile a una molecola di clorofilla a ma è priva dell'atomo di Mg:



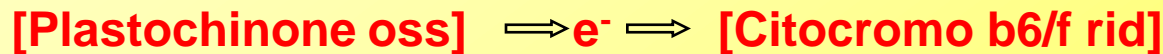
La feofitina rilascia l'elettrone a un chinone, l'accettore Q che diviene un energico agente riducente (-0.43 V):



Questo a sua volta lo cede al plastochinone riducendolo:



L'elettrone passa poi al citocromo b6/f il cui potenziale redox è di -0,00 V:



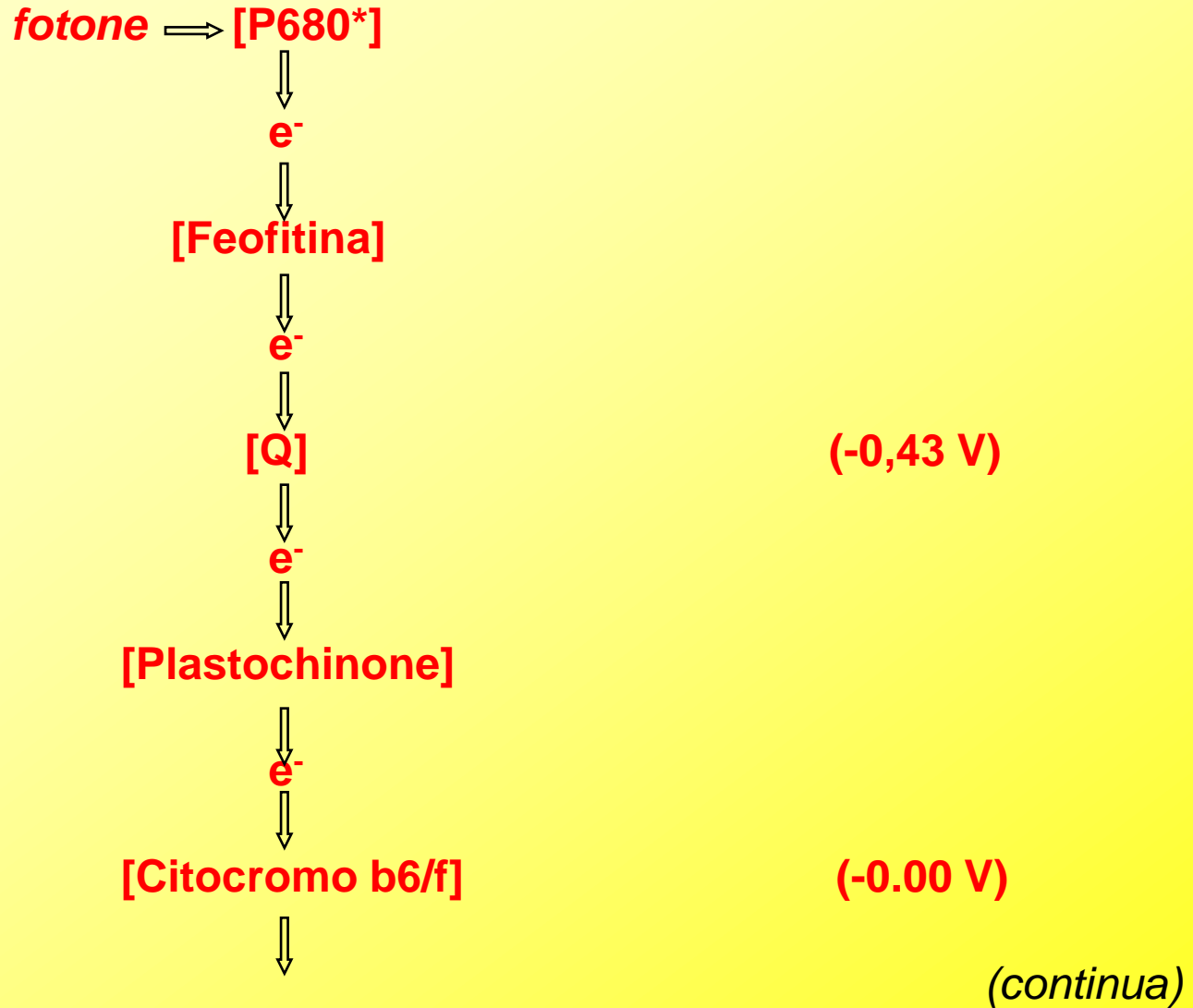
E questo infine lo conferisce alla plastocianina il cui potenziale redox è positivo + 0.37 V:



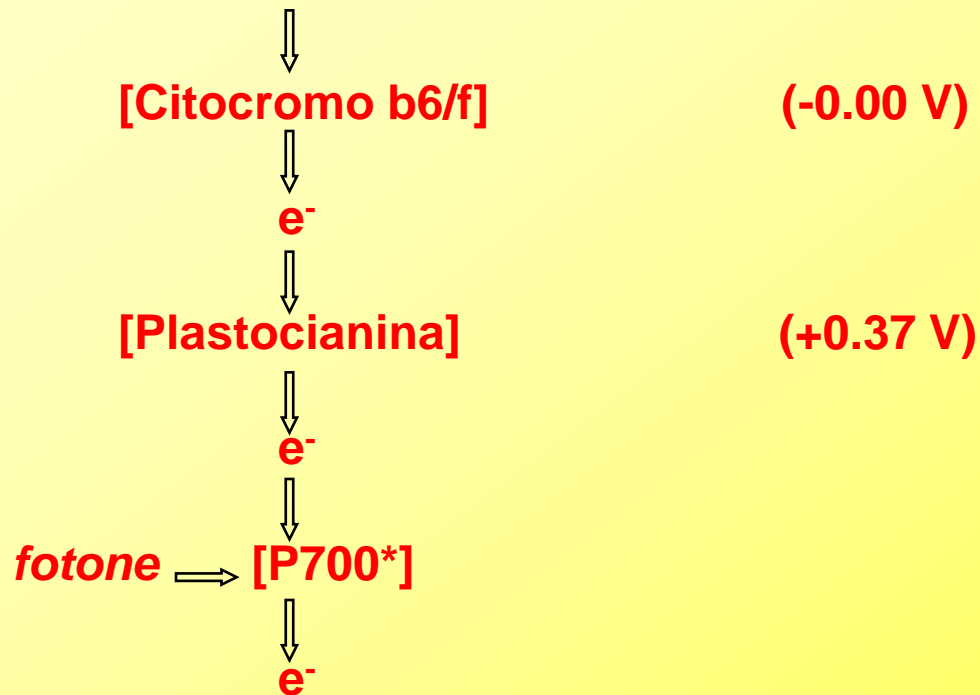
La plastocianina, piccola proteina contenente Cu, fornisce un elettrone al P700 che viene quindi ridotto.



In sintesi quindi questa catena di trasporto elettronico può essere riassunta così:



(continuazione)



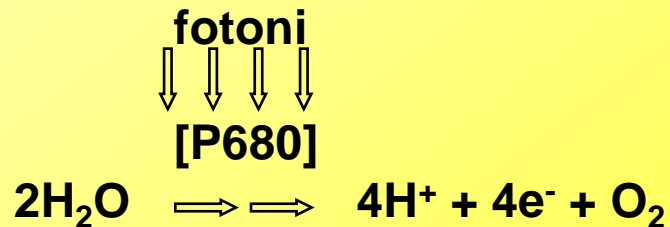
Le due catene di trasporto elettronico associate ai fotosistemi 1 e 2 operano quindi in serie l'una rispetto all'altra:

[P680] e catena fotosist. 2 \Rightarrow **[P700]** e catena fotosist. 1 \Rightarrow **NADPH**

Tra esse però intercorrono anche altre relazioni che sono fondamentali nell'economia del processo fotosintetico e che possono essere delineate considerando non solo il trasporto elettronico, ma anche i prodotti che vengono resi disponibili dalle reazioni chimiche associate a esso e la disposizione delle varie componenti sulla membrana dei tilacoidi.

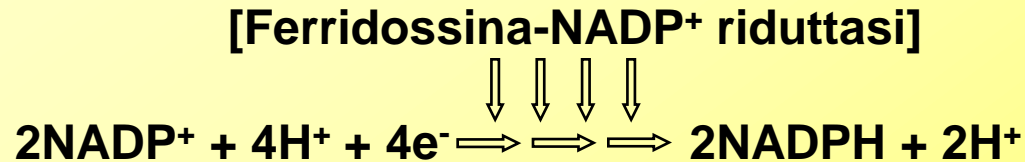
Cominciamo a considerare cosa avviene nel fotosistema 2: il problema che si poneva per il fotosistema 1 (carenza elettronica e destabilizzazione del P700) si pone tale e quale per il fotosistema 2 a carico del P680.

Qui la situazione viene risolta in modo del tutto diverso, il P680 infatti riesce a sfruttare un donatore di elettroni rinnovabile: l'acqua. In particolare grazie all'energia dei fotoni incidenti il P680 opera la fotolisi dell'acqua in cui vengono resi disponibili protoni, elettroni e ossigeno molecolare:



L'ossigeno viene sviluppato come gas di cui la pianta si libera.

I 4 elettroni possono essere trasportati dalle catene dei fotosistemi e essere utilizzati, insieme a 2 protoni, per ridurre NADP⁺ al termine della catena di trasporto del fotosistema 1:



E' in sostanza la stessa reazione vista in precedenza ma adeguata in funzione del numero di elettroni e protoni resi disponibili in corrispondenza della liberazione di una molecola di ossigeno.

Il problema è che mentre la fotolisi dell'acqua avviene all'interno del lume dei tilacoidi granali la sintesi di NADPH si realizza nello stroma del cloroplasto, quindi all'esterno dei tilacoidi, dove l'energia riducente serve per le reazioni di organicazione della CO₂. In altri termini protoni vengono prodotti all'interno del lume dei tilacoidi e spesi nello stroma.

La membrana tilacoidale non è permeabile a buona parte dei soluti e proprio questa compartimentazione gioca un ruolo importante in particolare in riferimento alla necessità di procurarsi molecole di ATP che sostengano le reazioni endoenergoniche di organicazione della CO₂.

La sintesi di ATP avviene per fotofosforilazione chemiosmotica: l'energia per farla avvenire è ancora fornita dalla luce ma in via indiretta.

Le condizioni viste ora favoriscono l'accumulo di protoni nel lume dei tilacoidi e la loro asportazione dallo stroma, il che genera una forte differenza di concentrazione degli stessi.

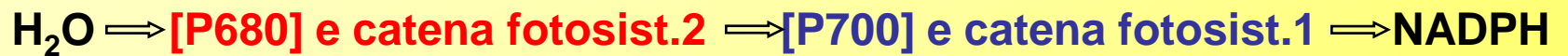
Ovviamente tende a stabilirsi un flusso protonico in uscita dal lume dei tilacoidi ma questo avviene obbligatoriamente attraverso i canali presenti in una proteina (il complesso CF_0 - CF_1): l'unità CF_0 è il canale che attraversa la membrana tilacoidale e l'unità CF_1 , che sporge nello stroma, funge da ATP sintetasi.

Questo enzima è presente nei tilacoidi intergrana e permette la sintesi di ATP a partire da ADP e gruppi fosfato sfruttando l'energia che deriva dal passaggio dei protoni secondo il gradiente di concentrazione che esiste tra interno del tilacoide e stroma.

Il gradiente protonico è quindi fondamentale e alla sua conservazione collabora anche una delle molecole già viste nella catena di trasporto elettronico del fotosistema 2, il Plastochinone.

Tutte le volte che il Plastochinone trasporta dall'acceptore Q al Citcromo b6/f un elettrone, contemporaneamente sposta un protone dallo stroma al lume tilacoidale contribuendo così al mantenimento del gradiente protonico.

Lo schema base del trasporto elettronico descritto



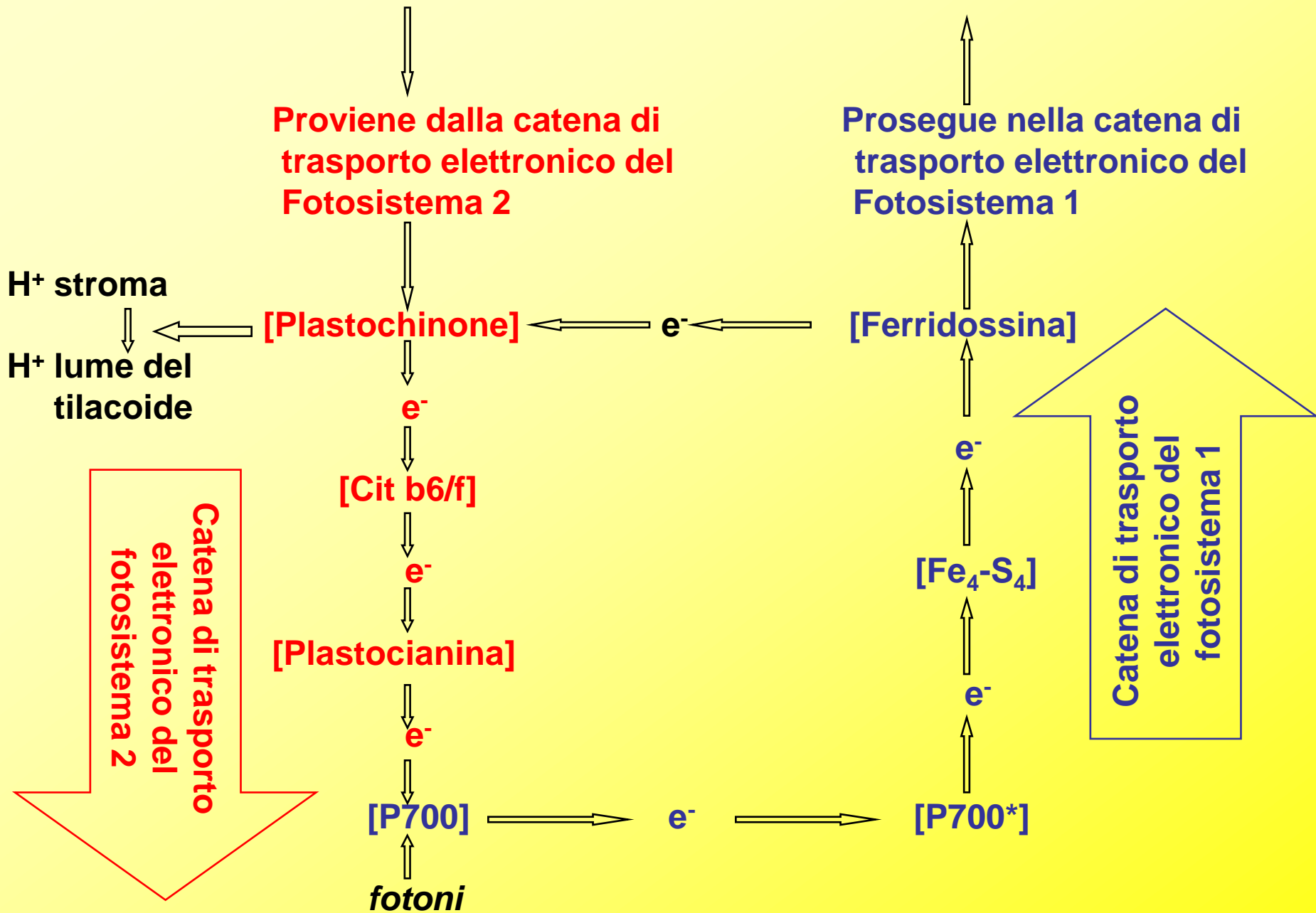
per cui gli elettroni provengono dall'acqua e finiscono con il ridurre NADP^+ a NADPH rappresenta un processo direzionale aperto e viene definito "trasporto non ciclico di elettroni".

Questa però non è l'unica modalità di trasporto degli elettroni: nel complesso delle reazioni luminose infatti tende a essere prodotta una quantità di NADPH (potere riducente) maggiore di quella che può essere effettivamente utilizzata nello stroma in base alla quantità ATP sintetizzata (energia chimica).

Esiste quindi un meccanismo di compensazione a carico della Ferridossina (catena di trasporto del fotosistema 1): questa invece di conferire l'elettrone alla Ferridossina NADP^+ riduttasi può trasferirlo al Plastochinone (catena di trasporto del fotosistema 2).

Questo passaggio ha due effetti: (i) evita la formazione di NADPH e (ii) impone al Plastochinone di trasportare un elettrone e quindi anche un protone dallo stroma al lume tilacoidale esaltandone quindi il ruolo di pompa protonica; questo aumenta la concentrazione di protoni nel tilacoide e quindi favorisce la sintesi di ATP.

In questo caso il trasporto elettronico non è più direzionale e aperto ma si chiude in un ciclo costituito dal tratto terminale della catena di trasporto del Fotosistema 2, dal P700 e dal tratto iniziale della catena di trasporto del fotosistema 1 (trasporto ciclico di elettroni).



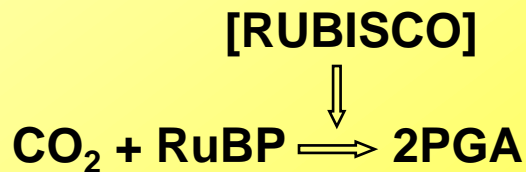
C. La fase oscura

L'organizzazione dell'anidride carbonica avviene nello stroma del cloroplasto.

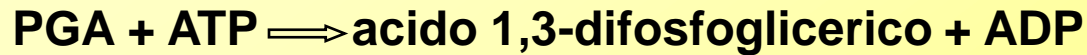
Non richiede l'intervento diretto della luce ma ha necessità di ATP e di NADPH che erano stati sintetizzati nella fase luminosa della fotosintesi.

L'anidride carbonica si lega ad un accettore, il Ribulosio 1,5 bifosfato (RuBP) e questa reazione è mediata da un enzima la Ribulosio bifosfato carbossilasi/ossigenasi (RUBISCO).

Il Ribulosio 1,5 bifosfato è uno zucchero a 5 atomi di carbonio e legandosi all'anidride carbonica da un intermedio instabile che si scinde in due molecole di acido 3-fosfoglicerico (PGA):



L'acido 3-fosfoglicerico reagisce con l'ATP producendo l'acido 1,3-difosfoglicerico:



L'acido 1,3-difosfoglicerico reagisce quindi con NADPH e viene ridotto a 3-fosfogliceraldeide (PGAL) perdendo anche un gruppo fosfato:



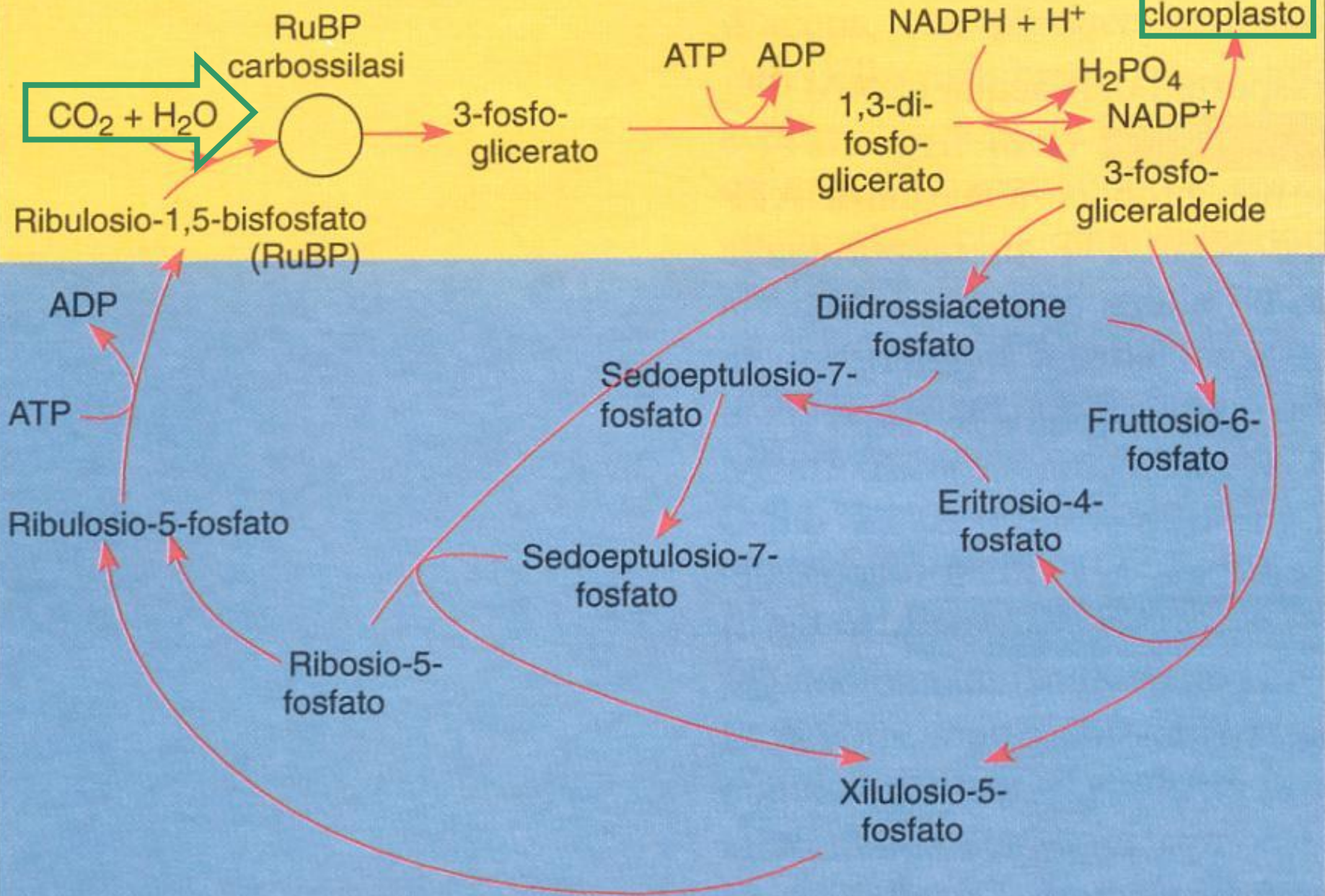
A questo punto il carbonio è ridotto e una parte della 3-fosfogliceraldeide può uscire dal cloroplasto e costituisce il punto di partenza per la costruzione di molte altre molecole organiche (zuccheri, grassi, aminoacidi, acidi nucleici ecc.).

Una parte della fosfogliceraldeide rimane però nel cloroplasto dove serve a rigenerare l'accettore da cui il processo è iniziato, cioè Ribulosio 1,5 bifosfato.

La rigenerazione del Ribulosio 1,5 bifosfato è di fatto piuttosto complesso perché non è costituito da una sola serie lineare di reazioni chimiche ma da una rete di processi che si intersecano in modo complesso per formare il Ribulosio 5 fosfato.

Nel complesso comunque le reazioni della fase oscura costituiscono un ciclo che prende il nome di **Ciclo di Calvin o Ciclo C₃**: che è in sintesi un insieme di processi in cui il materiale in entrata è costituito dall'**anidride carbonica**, quello in uscita dalla **3-fosfogliceraldeide** e dove viene costantemente rigenerato lo stock di Ribulosio 1,5 bifosfato che funge da primo accettore dell'anidride carbonica.

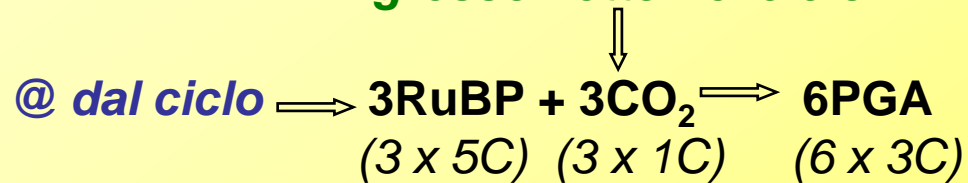
Il Ciclo di Calvin



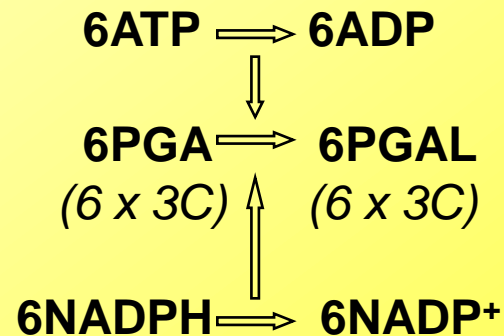
Senza entrare nei particolari inerenti le reazioni che costituiscono i passaggi reali del ciclo, il suo bilancio complessivo può essere così delineato:

1.

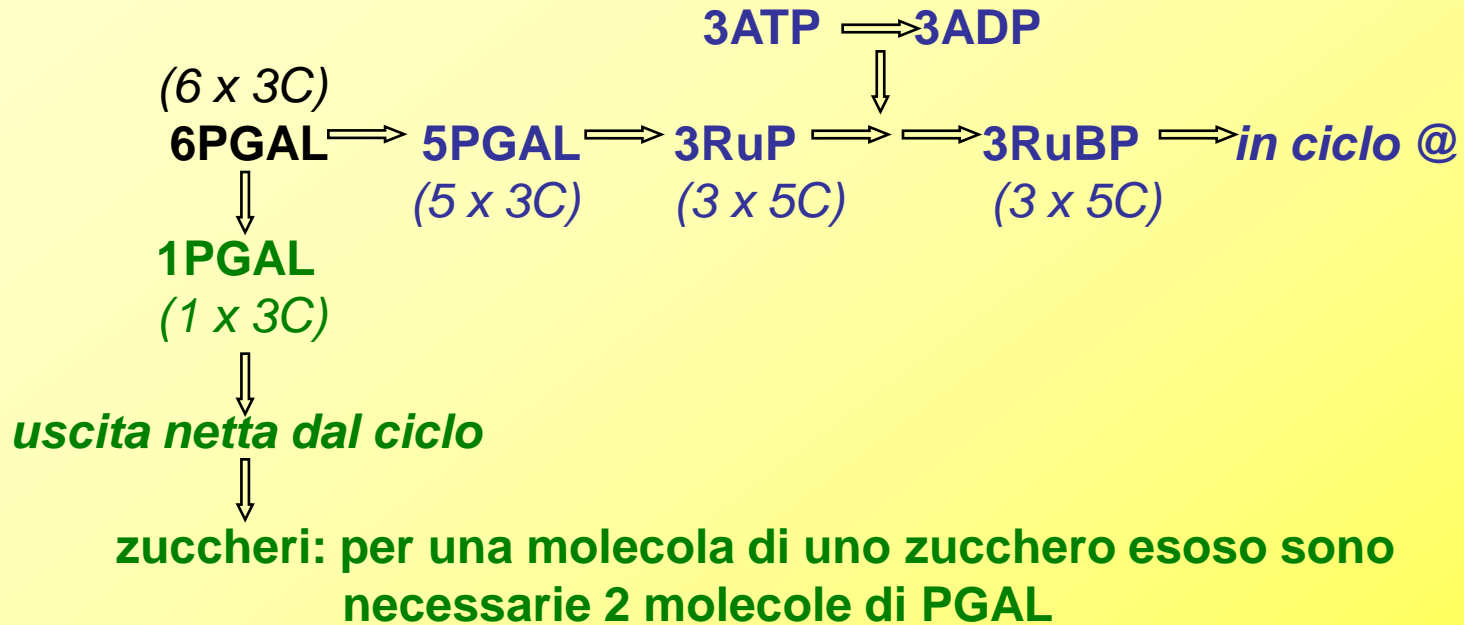
ingresso netto nel ciclo



2.



3.



Con questo abbiamo seguito un po' più nei particolari ciò che avviene nella fascia gialla dello schema precedente, cioè nella serie di reazioni del Ciclo di Calvin che conduce al guadagno netto di una molecola di PGAL su 6 molecole prodotte.

Per ogni molecola di zucchero prodotta (ad es. glucosio) il ciclo deve girare 2 volte.

D. Metabolismo anabolico a valle della fotosintesi

La 3-fosfogliceraldeide destinata alla costruzione di sostanze organiche insieme ad acqua e nitrati può avere molti destini differenti.

Queste implicano la costruzione di polisaccaridi e lipidi che si dimostrano molecole utili all'immagazzinamento dell'energia ottenuta dalla fotosintesi.

A medio termine possono essere impiegati i mono- e disaccaridi che si prestano al trasporto intercellulare ma che, essendo solubili, alterano le proprietà osmotiche delle cellule in cui vengono accumulati.

A lungo termine sono convenienti i polisaccaridi come l'amido o i lipidi che sono stabili e osmoticamente inattivi.

Una parte della 3-fosfogliceraldeide viene trasferita nel citoplasma dove viene convertita in diidrossiacetone fosfato; questo si lega a una molecola di 3-fosfogliceraldeide producendo fruttosio-1,6-bifosfato; questo perde un gruppo fosfato e diviene fruttosio-6-fosfato che in parte si trasforma in glucosio-6-fosfato. Entrambe le ultime due molecole citate sono monosaccaridi esosi che si prestano a svariati utilizzi. Il glucosio-6-fosfato in particolare può polimerizzare dando amilosio, amilopectina e cellulosa.

E. Efficienza del processo fotosintetico

Quale frazione dell'energia luminosa captata viene effettivamente stivata come energia chimica nei prodotti della fotosintesi?

Ci vogliono 8 quanti di luce (fotoni) per svolgere una molecola di ossigeno quindi ci vogliono 8 quanti di luce per organizzare una molecola di anidride carbonica.

Quindi ci vogliono 8 “moli” di fotoni per organizzare una mole di anidride carbonica.

L'energia contenuta in una mole di sostanza organica può essere valutata bruciando la sostanza organica e misurando il calore liberato (114 kcal/mole).

L'energia contenuta in una mole di fotoni per la luce visibile è variabile: 41 kcal/Einstein (luce rossa) e 72 kcal/Einstein (luce violetta).

Il rendimento può essere valutato come rapporto tra l'energia captata per costruire una mole di sostanza organica e quella che vi è rimasta contenuta:

$$\text{Rendimento} = (114 / 41 \times 8) \times 100 = 35\%$$

E' un rendimento teorico verificabile in esperienze di laboratorio; nell'ambiente reale i valori sono molto più bassi e variano da 0,1% a 1% in vegetazioni naturali e raggiungono il 2,5% in colture altamente produttive.

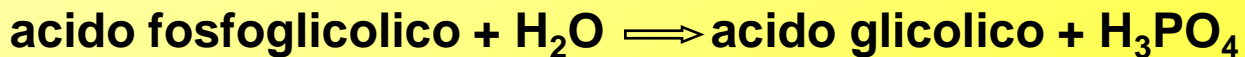
E. Fotorespirazione

Il meccanismo fotosintetico che implica il ciclo di Calvin ha un punto debole che incide pesantemente sul suo rendimento e che si identifica con un processo definito fotorespirazione.

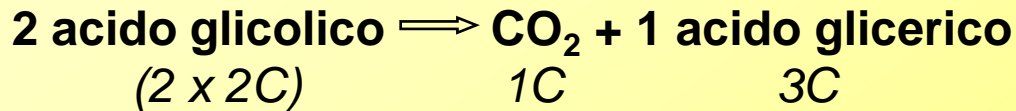
In presenza di abbondante ossigeno e basso tenore di anidride carbonica non si compie il primo passo della organicazione del carbonio ma la Ribulosio bifosfato carbossilasi/ossigenasi (RUBISCO) invece di promuovere la carbossilazione del Ribulosio 1,5 bifosfato (RuBP) funziona da ossigenasi su quest'ultimo:



Mentre l'acido 3-fosfoglicerico rientra nel normale ciclo delle reazioni della fase oscura l'acido fosfoglicolico ha un destino nettamente diverso. Innanzitutto viene idrolizzato liberando acido glicolico e un gruppo fosfato:



In seguito è soggetto a una serie di reazioni abbastanza complesse che ne comportano la trasformazione in acido glicerico e che avvengono anche nei perossisomi, nei mitocondri e di nuovo nei perossisomi il cui bilancio complessivo è:



Il processo è in realtà assai più articolato e dislocato in modo complesso fra i vari organuli citati, ma in totale implica la perdita di un atomo di carbonio organico sotto forma di anidride carbonica che si libera.

Nel citoplasma delle cellule del parenchima clorofilliano fogliare la proporzione tra le concentrazioni di anidride carbonica e ossigeno è tale che il rapporto tra le attività carbossilasica e ossigenasica della RUBISCO è circa 2,5/1.

Tenendo conto del fatto che una parte dell'anidride carbonica liberata viene nuovamente utilizzata per la fotosintesi la perdita di materia organica conseguente alla fotorespirazione è di circa il 30%.

G. Altre vie fotosintetiche

Il ciclo di Calvin (o ciclo C_3) che prevede la costruzione di una molecola a 3 atomi di carbonio come fase fondamentale della organizzazione dell'anidride carbonica è il più frequente ma non l'unico insieme di reazioni a della fase oscura della fotosintesi. Esistono almeno due alternative importanti: la via **C_4** e la via **CAM**.

La **via C_4** (il primo composto in cui viene fissata l'anidride carbonica organicata ha 4 atomi di carbonio) minimizza il problema della fotorespirazione perché riesce a confinare la la Ribulosio bifosfato carbossilasi/ossigenasi (RUBISCO) in cellule che non siano a diretto contatto con l'atmosfera e nelle quali quindi il rapporto tra le concentrazioni di andride carbonica e ossigeno sia molto più alto; qui la RUBISCO può esercitare la propria azione a tutto vantaggio della attività carbossilasica.

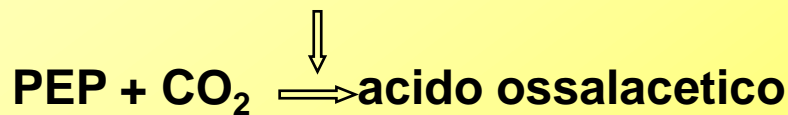
Le cellule in cui questo avviene sono le particolari cellule clorofilliane che circondano i fasci conduttori della foglia (guaina del fascio, anatomia di Kranz) e si frappongono tra fasci e mesofillo.

Le cellule di quest'ultimo sono effettivamente a contatto con l'atmosfera ma al loro interno il primo accettore di anidride carbonica non è più il Ribulosio-1,5-fosfato ma l'acido fosfoenolpiruvico (PEP).

La carbossilazione non è più gestita dalla RUBISCO ma da un nuovo enzima la Fosfoenolpiruvato-carbossilasi (PEP-carbossilasi); quest'ultima non ha alcuna affinità per l'ossigeno e quindi non incorre in problemi di fotorespirazione.

Il risultato della carbossilazione del l'acido fosfoenolpiruvico è l'acido ossalacetico che ha 4 atomi di carbonio:

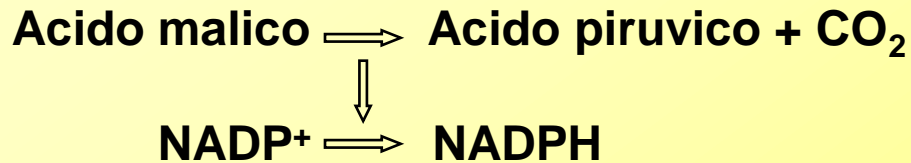
PEP-carbossilasi



Ancora nelle cellule del mesofillo l'acido ossalacetico viene ridotto dal NADPH ad acido malico:



E' l'acido malico che penetra nelle cellule della guaina del fascio dove viene decarbossilato liberando anidride carbonica e acido piruvico e in questo processo avviene anche la riduzione di NADP⁺ a NADPH.



L'anidride carbonica a questo punto entra, per azione della RUBISCO, nel ciclo di Calvin mentre l'Acido piruvico si sposta nelle cellule del mesofillo dove viene fosforilato dall'ATP ad acido fosfoenolpiruvico:



L'acido fosfoenolpiruvico rientra quindi in gioco quale trasportatore di anidride carbonica.

La fotosintesi C_4 è particolarmente vantaggiosa nelle condizioni che esaltano il fenomeno della fotorespirazione (alta temperatura, bassa concentrazione di anidride carbonica) ove consente produzioni maggiori della via C_4 mentre per il maggior consumo di ATP dovuto alla rigenerazione dell'acido fosfoenolpiruvico non è competitiva nei climi freddi.

La **via CAM** (metabolismo acido delle *Crassulaceae*) è sostanzialmente affine alla via C_4 in merito al tipo di reazioni e composti coinvolti. Risulta diversa la collocazione temporale e spaziale delle reazioni.

Nelle piante CAM la carbossilazione dell'acido fosfoenolpiruvico avviene durante la notte, quando la pianta ha gli stomi aperti, e ha come risultato finale l'acido malico che però non viene utilizzato immediatamente né trasferito in cellule diverse; l'acido malico è invece immagazzinato nel vacuolo.

Nel giorno successivo gli stomi si chiudono e l'acido malico ritrasferito nel citoplasma si decarbossila liberando anidride carbonica e che entra nel ciclo di Calvin nei cloroplasti permettendo la fotosintesi.

L'acido fosfoenolpiruvico non è immediatamente rigenerato ma viene trasformato in amido; solo durante la notte successiva questo verrà degradato nuovamente in acido fosfoenolpiruvico che potrà riprendere la sua funzione di accettore di anidride carbonica.

La via CAM garantisce sostanzialmente alle piante la possibilità di economizzare acqua (chiusura diurna degli stomi) e si presenta quindi competitiva in condizioni di aridità associata ad alte temperature; permette quindi la sopravvivenza delle piante in condizioni ambientali inospitali ma non garantisce produzioni elevate.

