

I Lincei per una nuova didattica nella scuola: una rete nazionale

Lezione 4 – 30 Gennaio 2018 – ore 15.00-18.00

Aspetti evolutivi ed ecologici dei processi
fotosintetici nelle piante

Piero Bruschi



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
FIRENZE

“What is Life ?” (1944)



resistenza alle leggi della
Termodinamica

Erwin Schrödinger

La vita rappresenta una violazione del II° principio perché è un fatto di per sé altamente improbabile

«Al pari di un salmone che nuota controcorrente, anche la vita combatte la sua stenuante battaglia contro le tendenze caotiche dell'universo»



ma, al tempo stesso, è riconducibile al II° principio in quanto la vita non è possibile
IN UN SISTEMA ISOLATO!

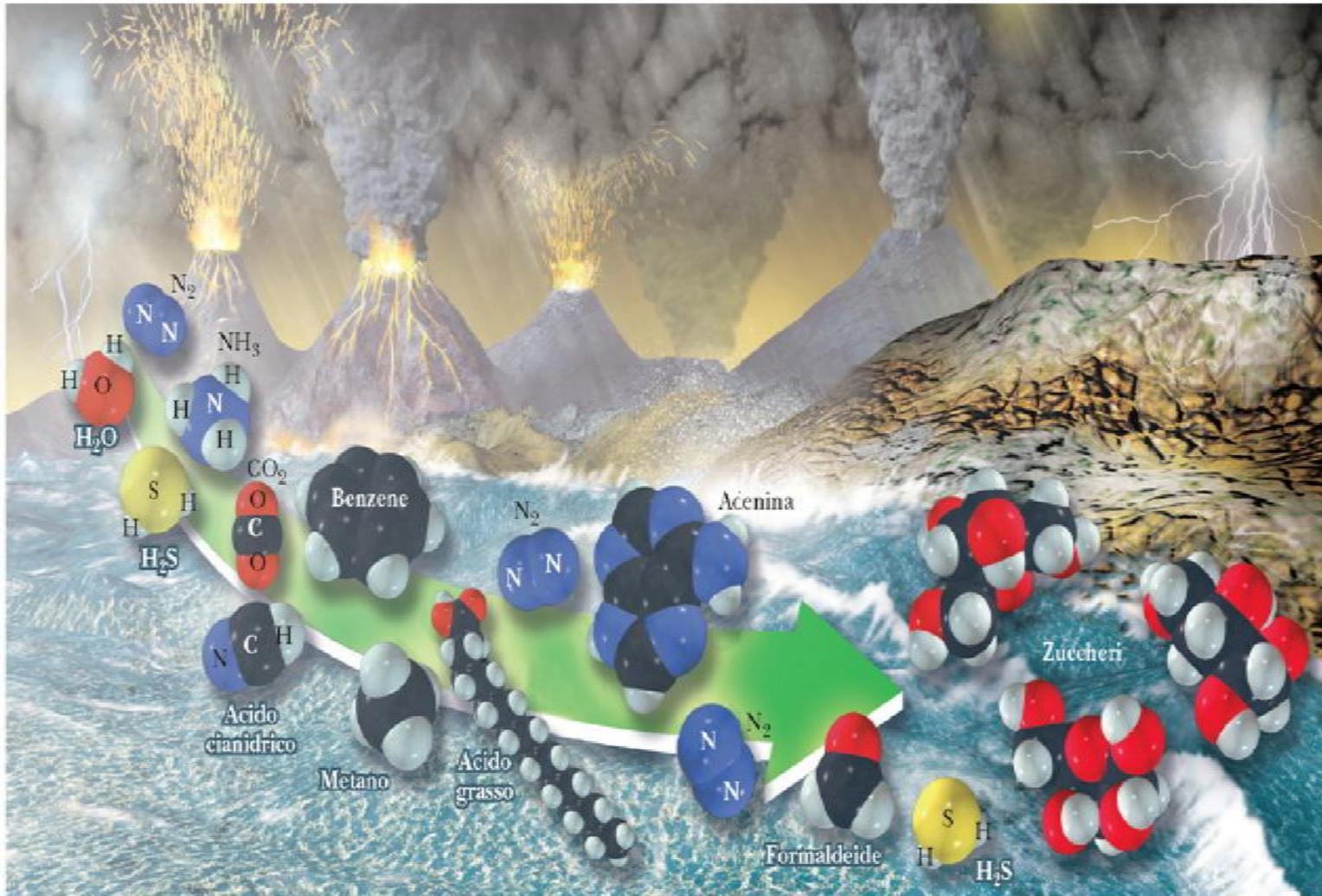
Caratteristica peculiare dei viventi

Ciascun organismo vivente è dal punto di vista termodinamico un *sistema aperto* attraversato da un flusso di energia libera in via di degradazione, che lo mantiene sempre lontano dallo stato di equilibrio termodinamico rispetto all'ambiente.

**Un sistema vivente
all'equilibrio**



Terra Primordiale: sistema isolato



▲ FIGURA 1.3 Le condizioni sulla Terra primordiale sarebbero state in gran parte inadatte per la vita come è oggi. Esisteva molto poco, quasi niente, ossigeno (O_2). I vulcani eruttavano emettendo gas e violenti temporali causavano piogge torrenziali che ricoprivano la Terra. La freccia verde indica la formazione di biomolecole da precursori semplici.

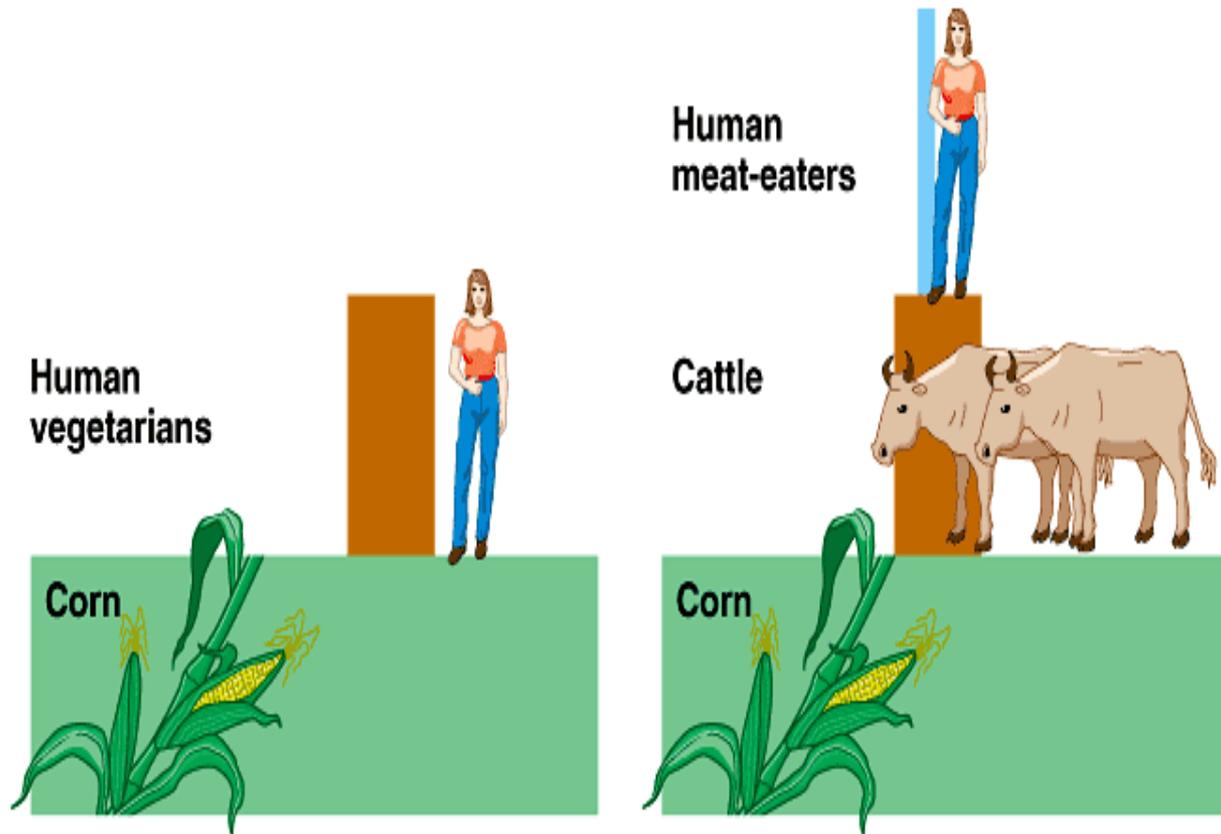
La comparsa dei primi organismi autotrofi ha trasformato il “sistema terra” da isolato a chiuso e gli organismi viventi da sistemi isolati a sistemi aperti

Trophic level

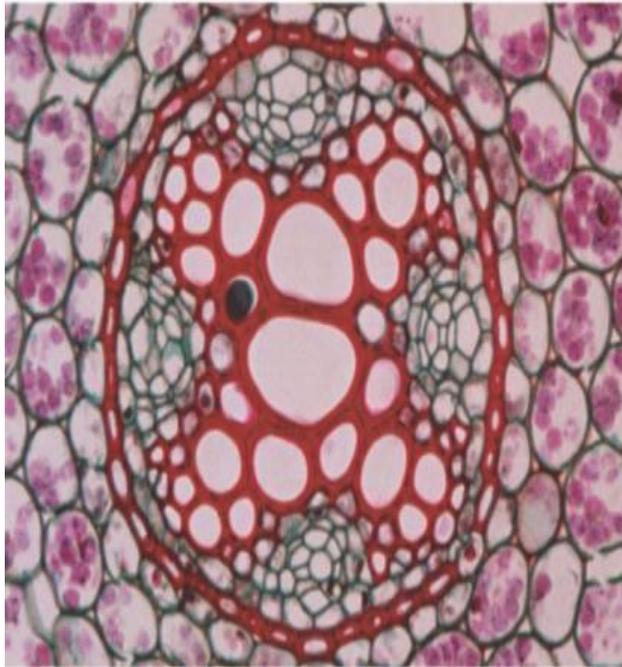
Secondary consumers

Primary consumers

Primary producers



Gli organismi sono strutture dissipative che vivono a spese dell'energia libera

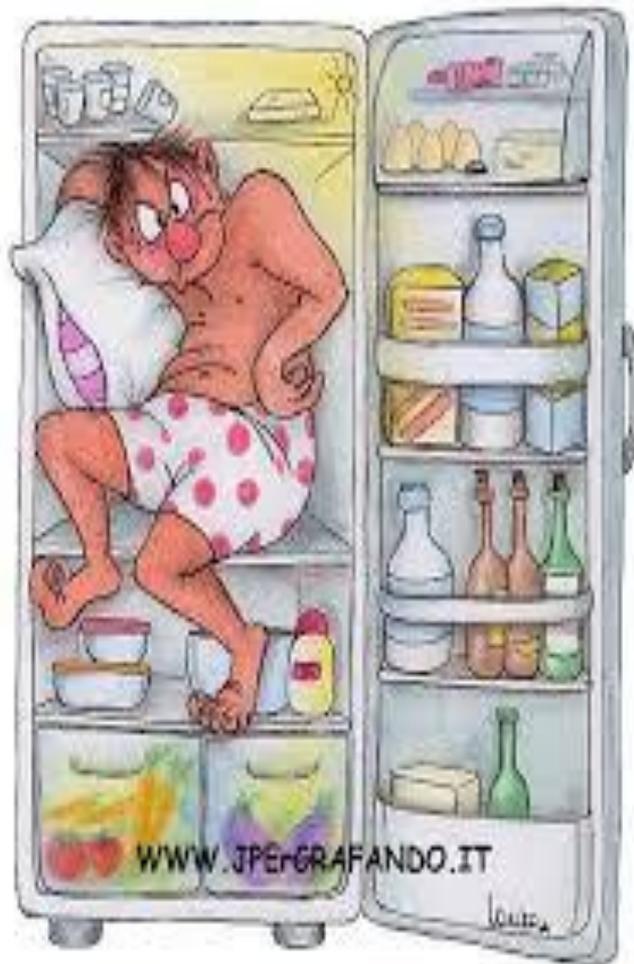


L'ordine è una caratteristica della vita: gli esseri viventi, pur producendo entropia, sono in grado di autostrutturarsi acquisendo una qualche forma di organizzazione

Per mantenere l'ordine (cioè per combattere la tendenza inteluttabile verso l'**entropia**), tutti i sistemi biologici devono "nutrirsi" di continui input di energia.

Ed il disordine?

La vita è come un frigorifero: una macchina che riduce localmente l'entropia



«Come il frigorifero la vita sfrutta una fonte di energia a bassa entropia (il cibo o la luce del sole) e riduce l'entropia localmente (creando ordine attraverso la crescita) ma per far questo gli esseri viventi devono pompare il disordine (calore, rifiuti chimici) nell'ambiente circostante»

Fotosintesi e Respirazione

Energia



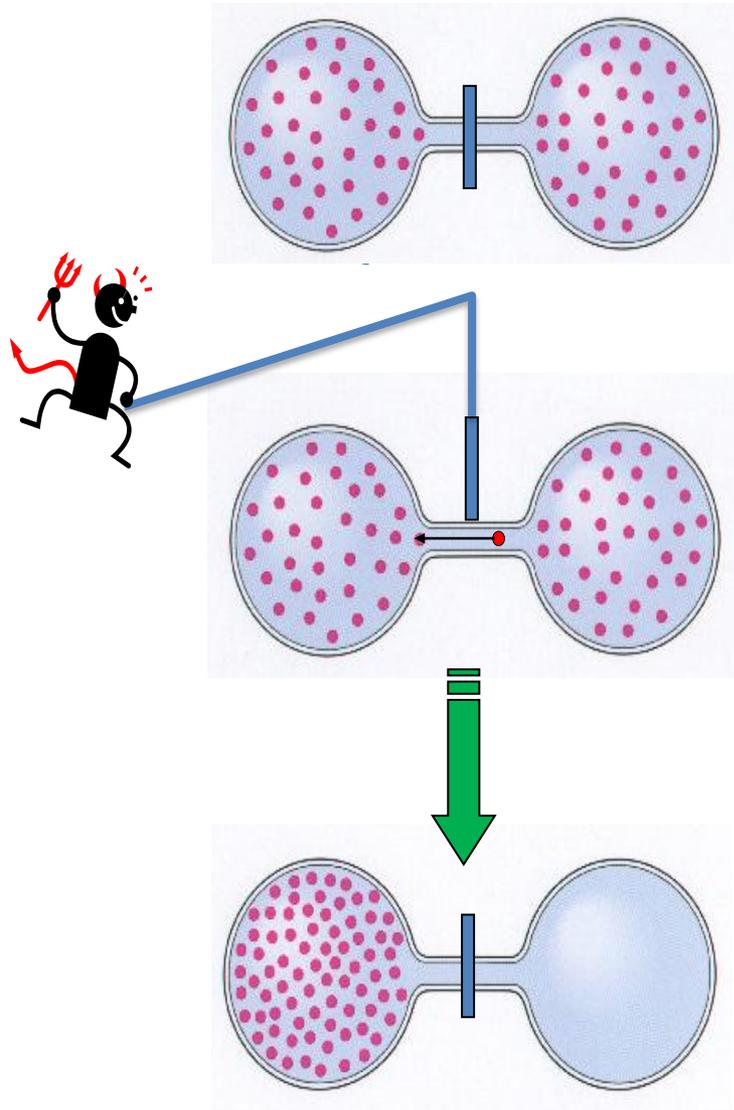
Formazione di struttura “ordinata” e “improbabile”
Produzione di energia più concentrata e più utilizzabile
Diminuzione dell'entropia



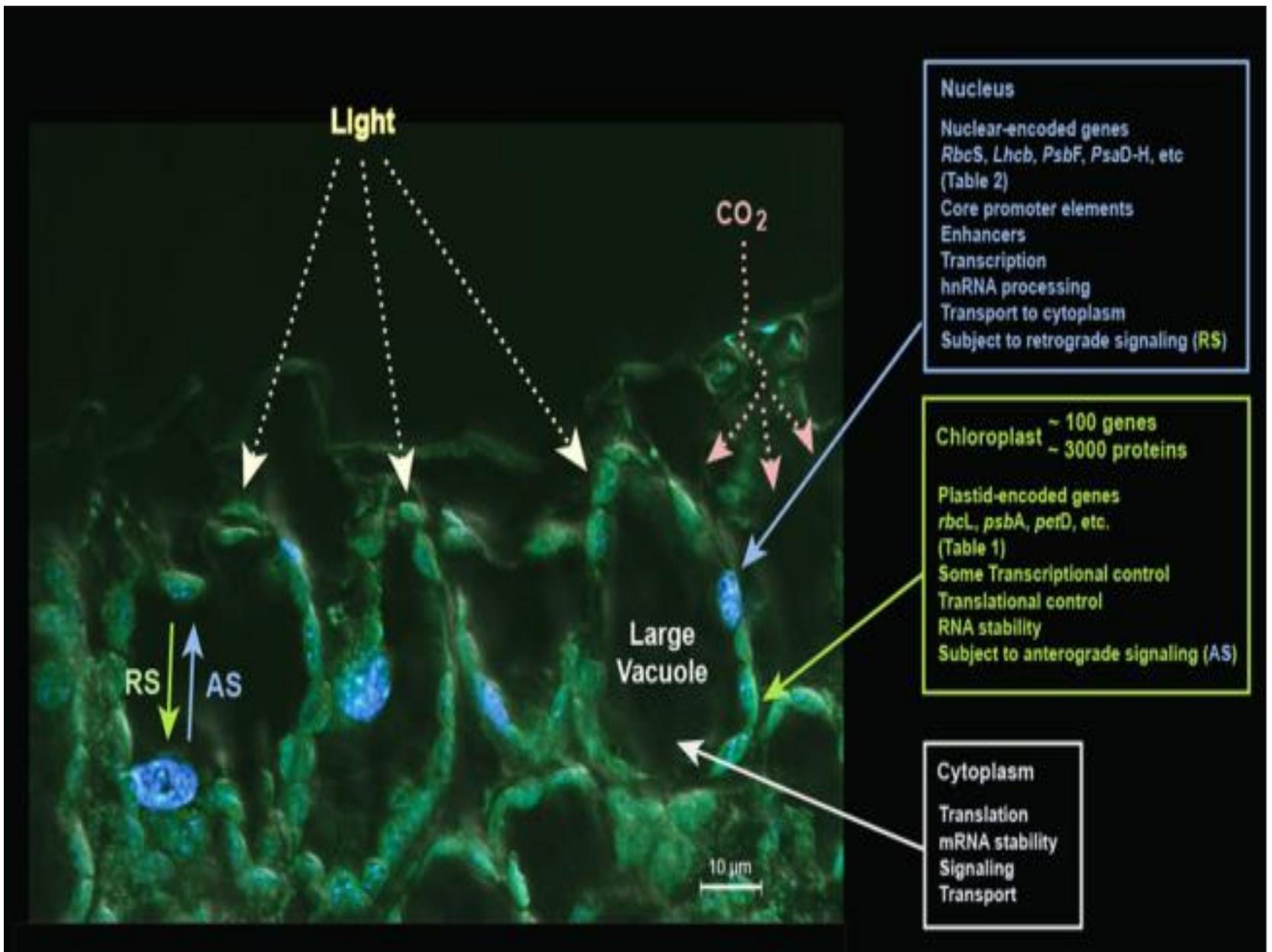
Energia

Formazione di struttura “disordinata” e “probabile”
Produzione di energia più dispersa e meno utilizzabile
Aumento dell'entropia

Il paradosso del diavoletto di Maxwell: entropia ed informazione



$$\Delta S < 0 \quad ?$$



Berry et al, 2013.
Photosynthesis research

Gene	Protein/enzyme	Function	References
Chloroplast-encoded photosynthetic genes			
<i>rbcL</i>	Rubisco (large subunit)	Photosynthetic carbon fixation	Patel and Berry (2008)
<i>psaA-C, I, J</i>	Photosystem I components	Electron transport	Obokata et al. (1993)
<i>psbA-N, Tc, Z</i>	Photosystem II components	Electron transport	Westhoff et al. (1991) and Barbrook et al. (2010)
<i>petA</i>	Cytochrome <i>f</i>	Electron transport	Bruce and Malkin (1991)
<i>petB</i>	Cytochrome <i>b₆</i>		
<i>petD</i>	Subunit IV of cytochrome <i>b₆f</i> complex		
<i>petG, L</i>	~4kDa subunits of cytochrome <i>b₆f</i> complex		Barbrook et al. (2010)
<i>atpF, H, I</i>	CF ₀ ATPase subunits (I, III, and IV) (transmembrane domain)	ATP synthesis	Green and Hollingsworth (1992)
<i>atpA, B, E</i>	CF ₁ ATPase subunits (α , β , ϵ) (stromal domain)	ATP synthesis	Hennig and Herrmann (1986)
<i>rpl, rps</i>	Large and small subunits of ribosomal proteins	Protein synthesis	Yamaguchi and Subramanian (2000)

Alcuni geni codificati nel cloroplasto, loro proteine associate e funzioni

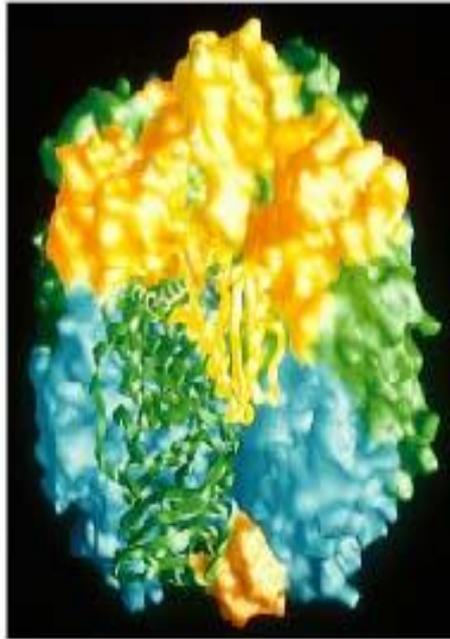
Berry et al, 2013.
Photosynthesis research

Gene	Protein/enzyme	Function	References
Nuclear-encoded genes			
<i>RbcS</i>	Rubisco (small subunit)*	Photosynthetic carbon fixation	Patel and Berry (2008)
<i>Rca</i>	Rubisco activase*	Dissociates sugar phosphates from the active site of Rubisco, facilitating carbamylation of a lysine residue/activation	Salvucci and Ogren (1996)
<i>PsaD-H, K, L, N, O</i>	Photosystem I components*	Electron transport	Obokata et al. (1993)
<i>Lhca1(Cabl)-6</i>	Antenna pigment proteins of PSI*	Light harvesting	Tyagi and Guar (2003)
<i>PsbO-Tn, U, W-Y</i>	Photosystem II components*	Electron transport	Lorković et al. (1995)
<i>Lhcb1(Cabl)-6</i>	Antenna pigment proteins of PSII*	Light harvesting	Tyagi and Guar (2003)
<i>PetC</i>	Rieske iron-sulfur protein subunit of cytochrome <i>b₆f</i> complex*	Electron transport	deVitry (1994)
<i>PetM</i>	~4 kDa subunit of cytochrome <i>b₆f</i> complex*		deVitry et al. (1996)
<i>PetE</i>	Plastocyanin*	Electron transport	Tyagi and Guar (2003)
<i>PetF</i>	Plastid ferredoxin*		
<i>PetH</i>	Ferredoxin-NADPH-oxidoreductase*		
<i>AtpC, D</i>	CF ₁ subunits (γ , δ) (stromal domain)*	ATP synthesis	Green and

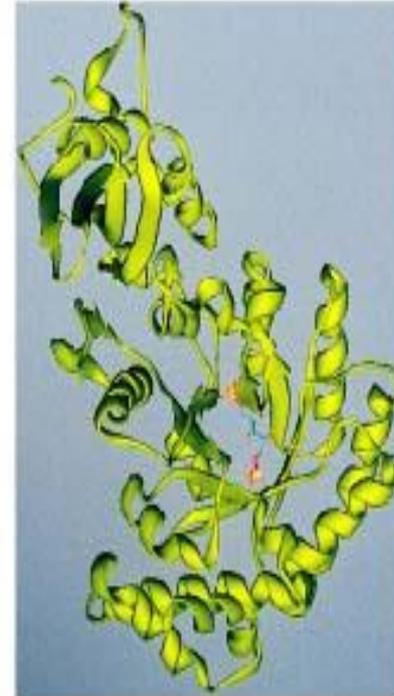
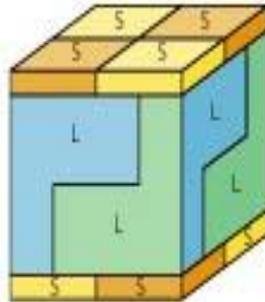
Alcuni geni codificati nel nucleo, loro proteine associate e funzioni

RubisCO

ribulosio 1,5 bisfosfato carbossilasi/ossigenasi



(a)



(b)

- 8 subunità maggiori nella parte centrale e 8 subunità minori organizzate in 2 tetrameri posti alla base e alla sommità della molecola
- ogni molecola di RuBisCO possiede 8 siti attivi, dato che ogni subunità maggiore ne ha uno

Alcuni numeri

- Più del 90% del carbonio organico che è convertito in biomassa è fissato dalla RubisCO
- La RubisCO è presente in tutti e tre domini della vita: Bacteria, Archaea e Eukarya
- La RubisCO rappresenta circa il 30-50% della frazione proteica solubile nella foglia
- 5 Kg di RubisCO per persona sulla terra

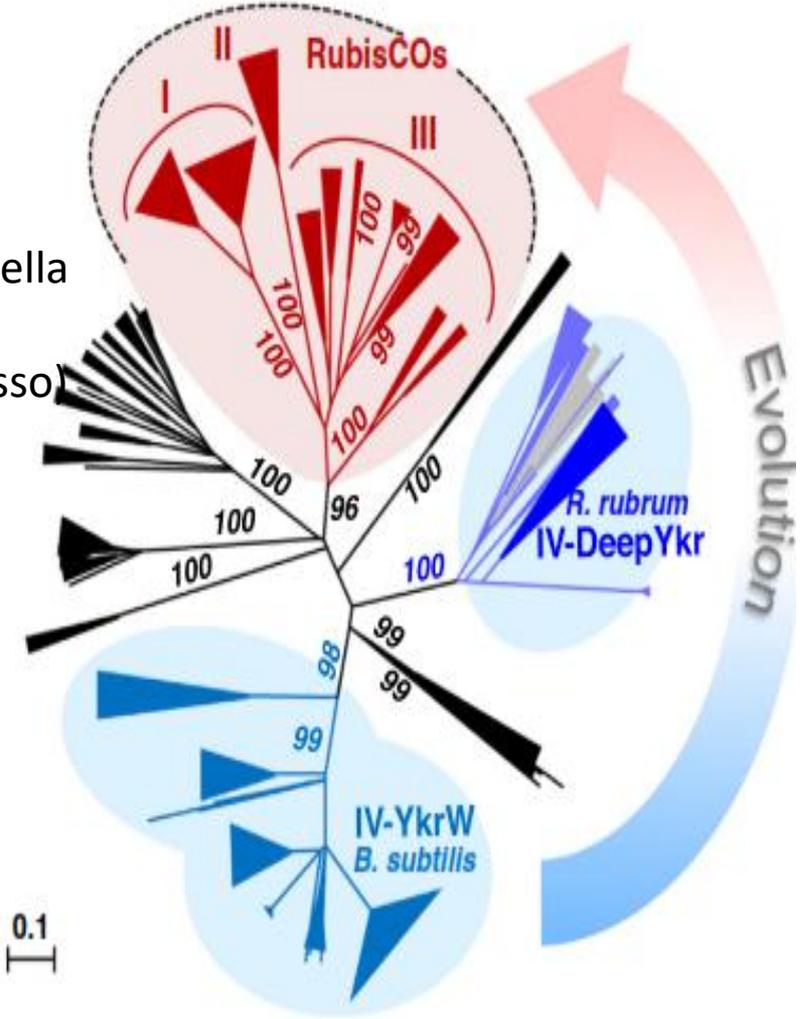
La RubisCO è uno degli enzimi più abbondanti nel ciclo globale del C, letteralmente nutre la vita sulla terra

Alcune peculiarità

- La RubisCO è un catalizzatore piuttosto lento. La sua frequenza media di turnover è di 1-10 molecole rilasciate s^{-1} . Per questo è così abbondante!
- La RubisCO è un enzima «difettoso» funziona da carbossilasi e da ossigenasi. In media una pianta a metabolismo C3 ha un tasso di errore del 20%, quota che può superare il 40% ad alte temperature e/o bassi livelli di CO_2 intracellulare, con elevata produzione di 2PG (2 –fosfoglicolato).

La RubisCO si è evoluta in un contesto non-autotrofo

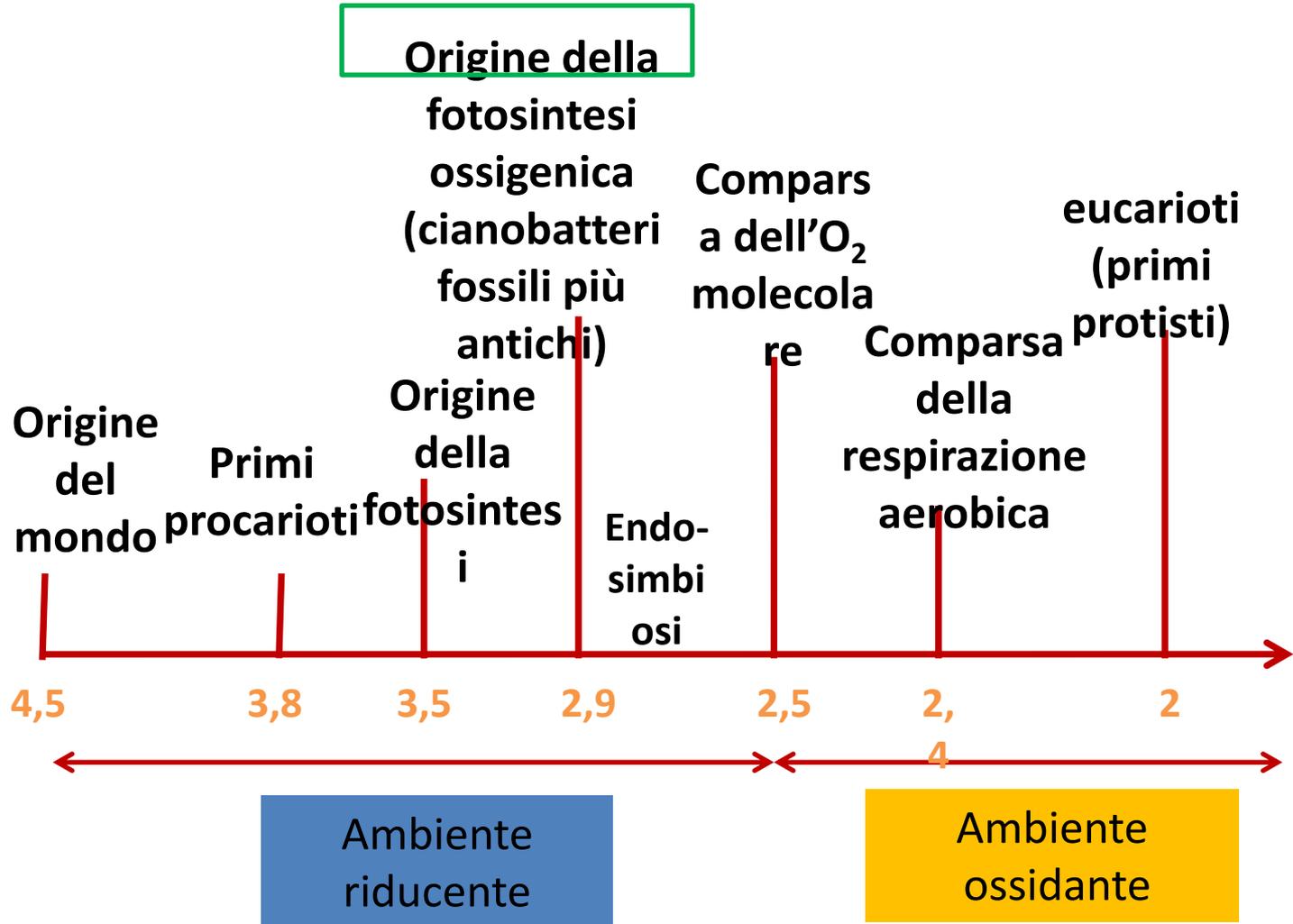
Albero filogenetico della superfamiglia RLP (in blue)/RubisCO (in rosso)



Erb e Zarzycki, 2017
Current opinion in
Biotechnology

- è un cluster manganese-calcio ($\text{Mn}_4\text{CaO}_5(\text{H}_2\text{O})_4$), legato alla parte terminale del PSII
- è una sorta di condensatore redox che consente di ossidare due molecole di H_2O per produrre ossigeno attraverso quattro successive reazioni di fotoossidazione del PSII
- ha un turnover di 50 molecole di O_2 rilasciate s^{-1}
- ha la stessa struttura nelle piante, nelle alghe e nei cianobatteri
- è molto sensibile agli stress abiotici (ad esempio alte temperature e fotoinibizione generata sia da UV che da luce visibile)

Metabolismo energetico: scala temporale (miliardi di anni)



Due tipi di fotosintesi

	Fotosintesi ossigenica	Fotosintesi anossigenica
Organismi	Piante, alghe, cianobatteri	Batteri rossi e batteri verdi
Pigmenti (λ_{max})	Clorofille (420-450nm, 650-720 nm) Ficobiline (tra 460 e 650 nm) Carotenoidi (420-450 nm, 470-480 nm)	Batterioclorofille (assorbe a 800-950 nm)
Donatore di e- per la fotosintesi	H ₂ O	H ₂ , H ₂ S
Produzione di ossigeno	si	no

Quando la fotosintesi fece la sua comparsa circa 3,5 – 3,7 milioni di anni fa cominciò ad usare ciò che era disponibile nell'ambiente circostante e soprattutto più facile da “maneggiare”

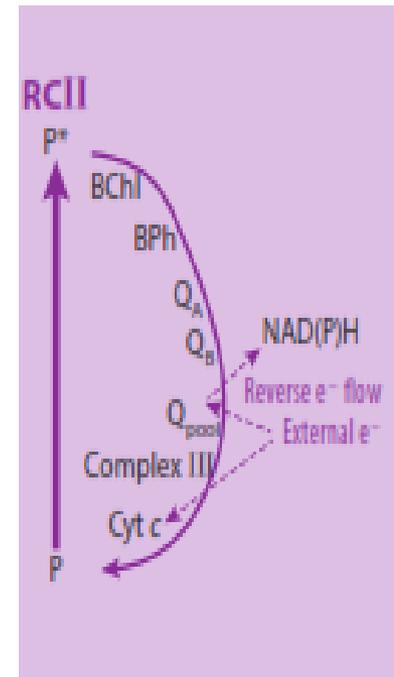
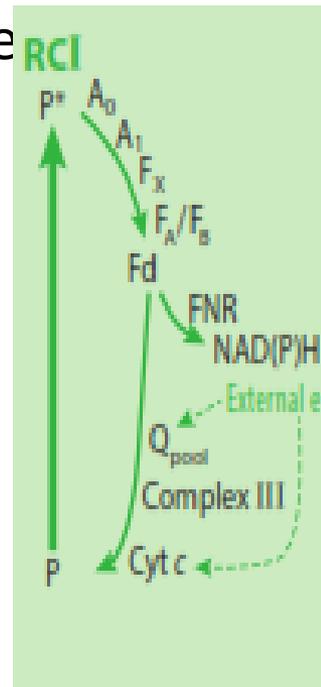


H_2O = richiede molta energia per rompere i legami

H_2S = richiede meno energia per rompere i legami

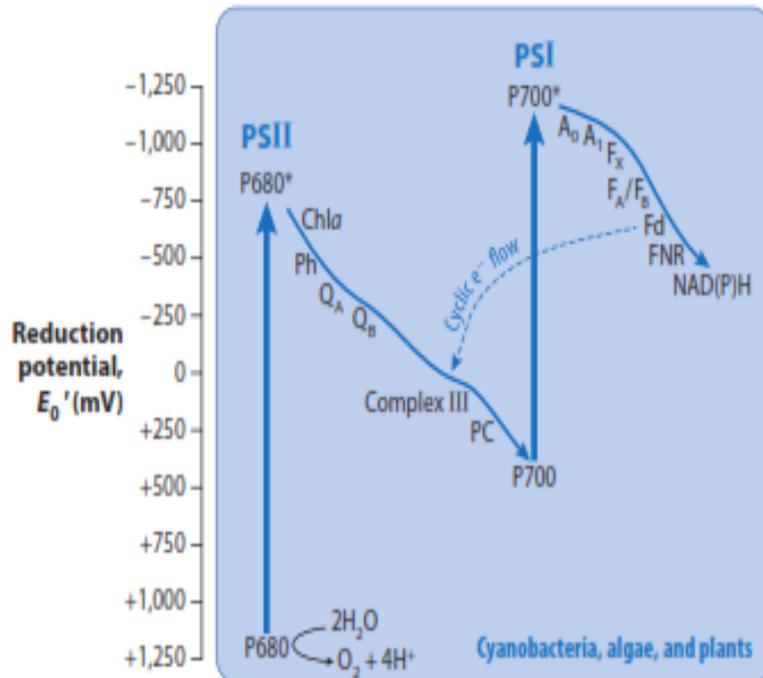
Fotosintesi anossigenica: senza liberazione di ossigeno. Prevalentemente fotofosforilazione ciclica

- batteri verdi solfurei: fotosistema somigliante al PSI dei cianobatteri, alghe e piante
- batteri rossi e batteri verdi non solfurei: fotosistema somigliante al PSII dei cianobatteri e piante

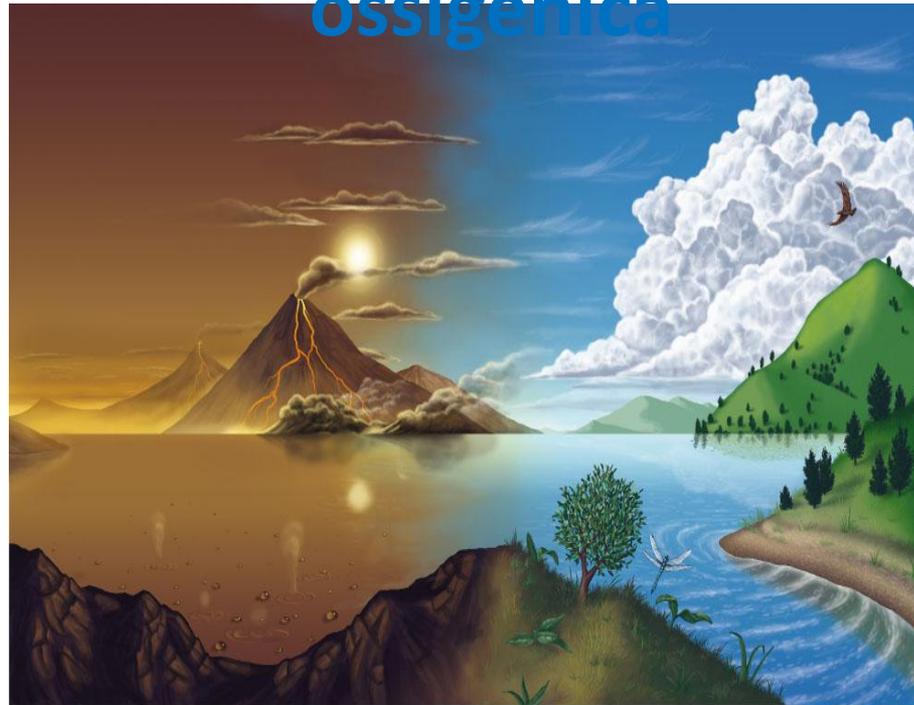


Da organismi con un solo fotosistema ai cianobatteri con due fotosistemi

Fotosintesi ossigenica: liberazione di ossigeno. Due fotosistemi (PSI e PSII) connessi in serie con produzione di O_2 (e, piante)



**L'atmosfera terrestre è stata
permanentemente alterata
dall'evoluzione della fotosintesi
ossigenica**



La fotosintesi ha permesso l'evoluzione della respirazione aerobica

- La terra è stata per lungo tempo **anossica**

- Il metabolismo è stato per lungo tempo

anaerobico

- O_2 inizia ad essere prodotto $\sim 2.5 \times 10^9$ anni fa

Metabolismo anerobico-glicolisi



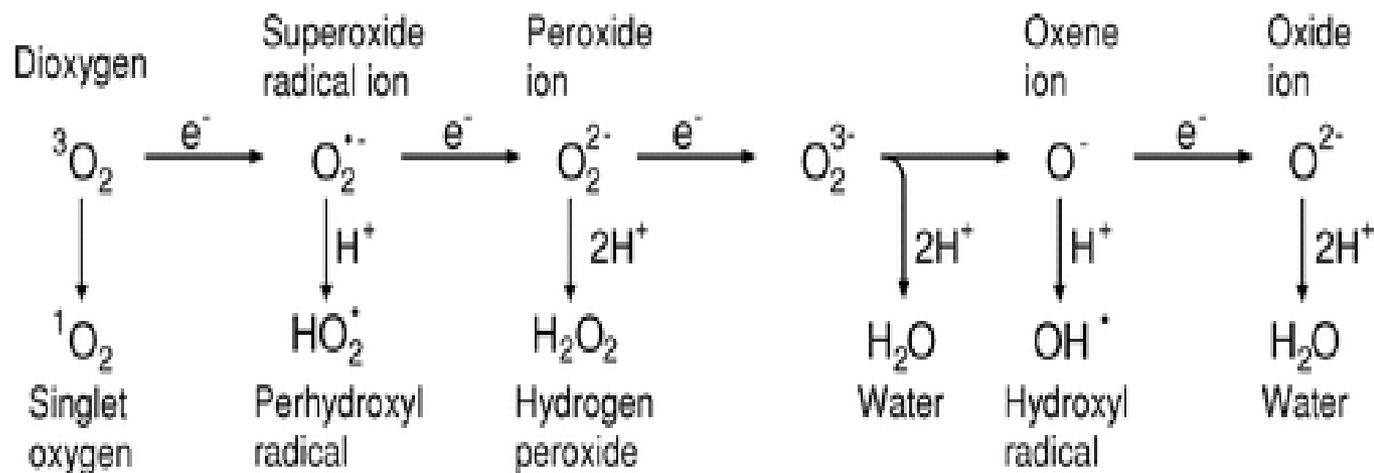
O_2 un accettore di e^- nel metabolismo aerobico

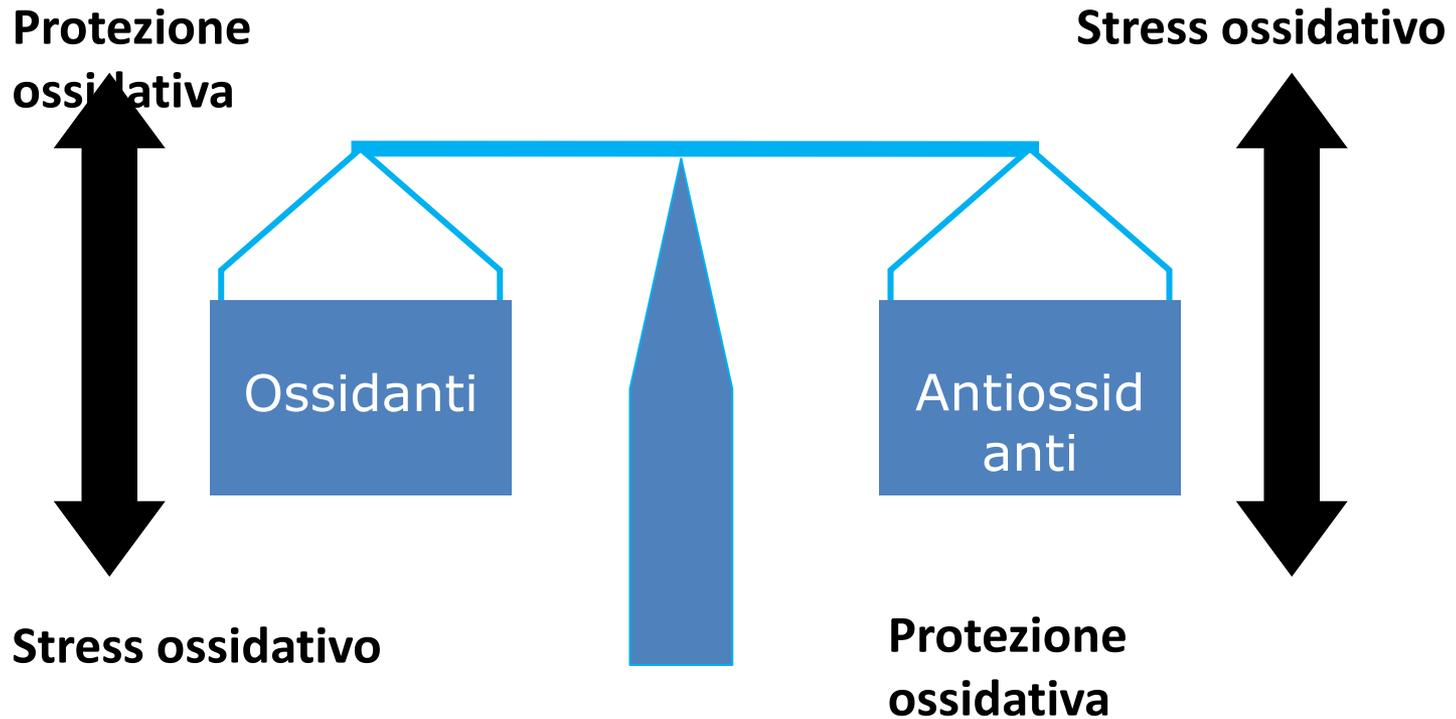


Il paradosso dell'ossigeno

Questo è l'ossigeno bellezza...e tu non puoi farci niente!

- L'ossigeno è essenziale, ma tossico
- Le cellule aerobiche subiscono costantemente danni ad opera delle specie reattive dell'ossigeno (ROS).
- I ROS possono agire come mutageni e possono causare perossidazione dei lipidi e denaturare le proteine





Ossidanti

- *Superossido, perossido di idrogeno, idrossile, ossido nitrico*
- *Auto-ossidazione, scoppio respiratorio, organelli.....*
- *Danno ai lipidi, proteine, DNA*
- *Conseguenze → Riparo, adattamento o morte*

Antiossidanti???

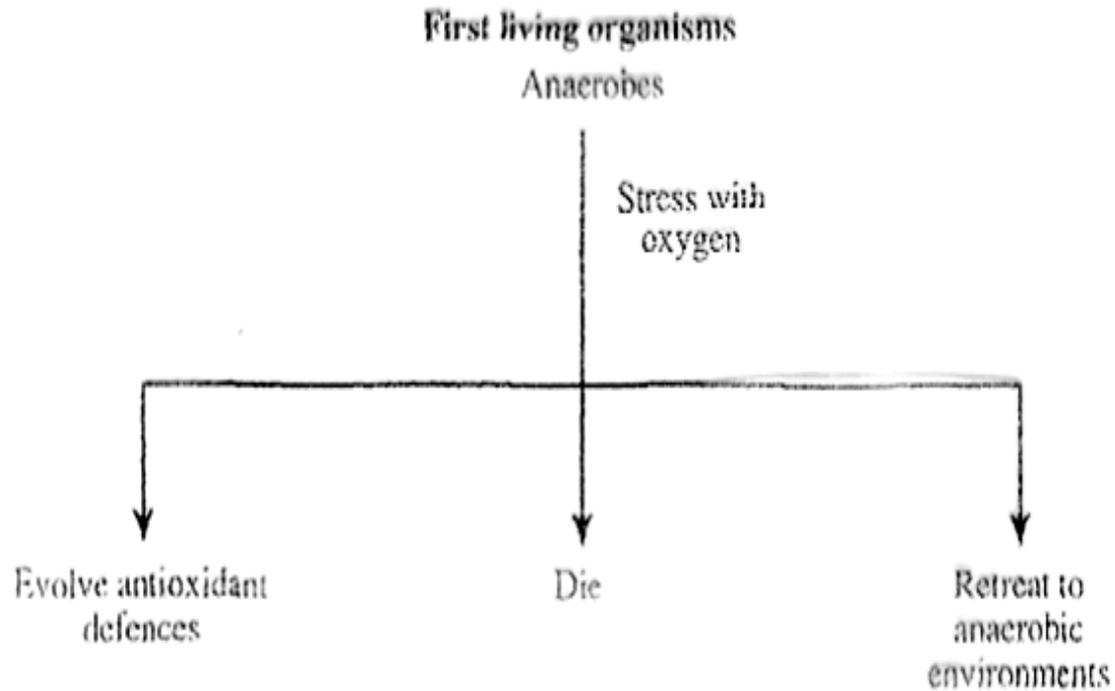
Lo stress ossidativo avviene quando la produzione dei ROS è superiore alla loro rimozione

Mamma mi si è arrossato il cactus!

- Nelle piante i ROS si possono formare durante la fotosintesi (in condizioni di stress c'è insufficiente rigenerazione di NADP^+ dal ciclo di Calvin, O_2 è un accettore di e^- e così si formano ROS), ma anche durante la respirazione e la fotorespirazione
- **Stress ossidativo:** perossidazione dei lipidi, danno alla membrana, mutazioni
Antiossidanti non enzimatici (acido ascorbico, glutazione, tocoferoli)
Enzimi antiossidanti (superossido dismutasi, ascorbato perossidasi, perossidasi, catalasi, glutazione riduttasi)

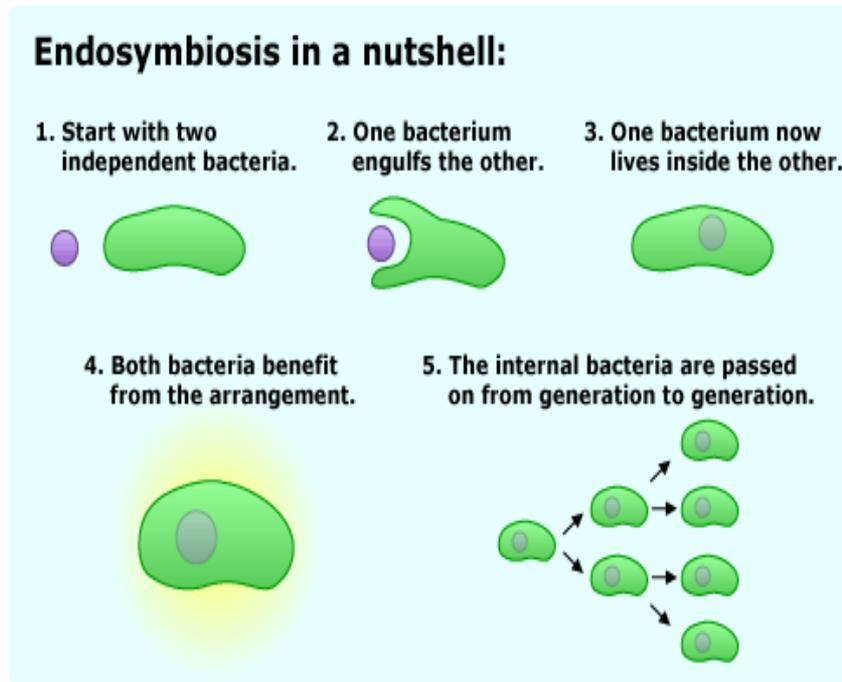


Il dilemma degli anaerobi



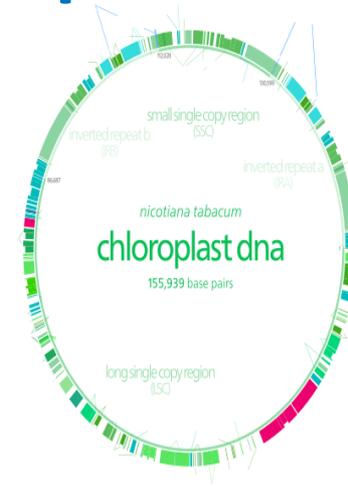
La nascita del cloroplasto

Tutti i cloroplasti sono derivati da un unico cloroplasto comparso quando un cianobatterio è stato inglobato da un'altra cellula (Teoria endosimbiontica)



Ci sono prove che possono confermare l'ipotesi di un'origine endosimbiontica del cloroplasto?

a. I cloroplasti hanno molecole di **DNA** che codificano per particolari proteine anche se la maggior parte delle proteine è codificata da geni nucleari



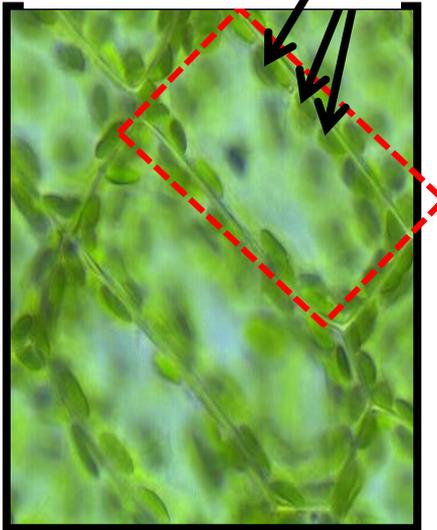
b. I cloroplasti hanno **ribosomi**

c. I cloroplasti hanno dimensioni paragonabili ai batteri

d. Si dividono secondo un meccanismo molto simile alla scissione binaria dei batteri

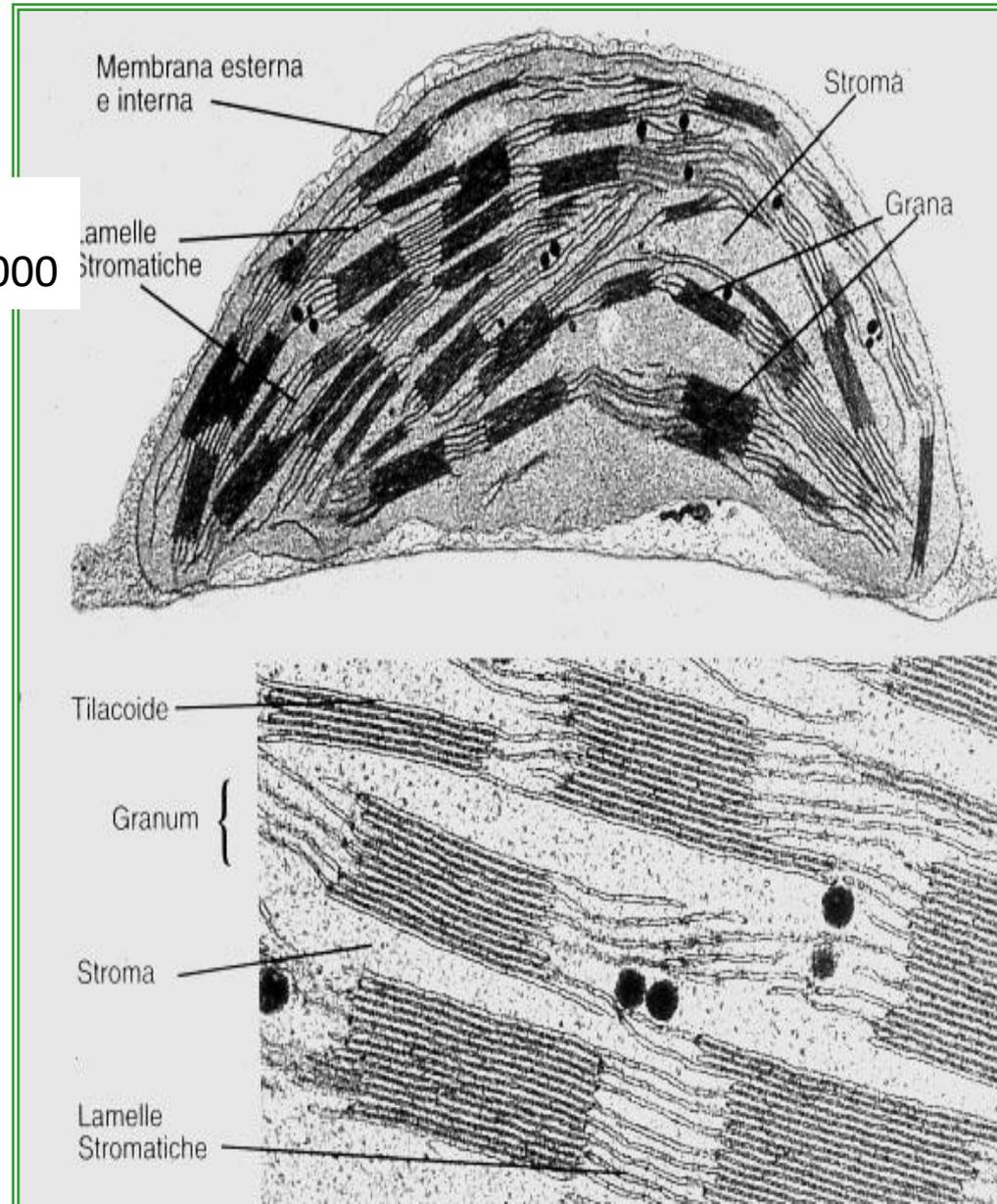


*Cellula vegetale
con molti
cloroplasti*

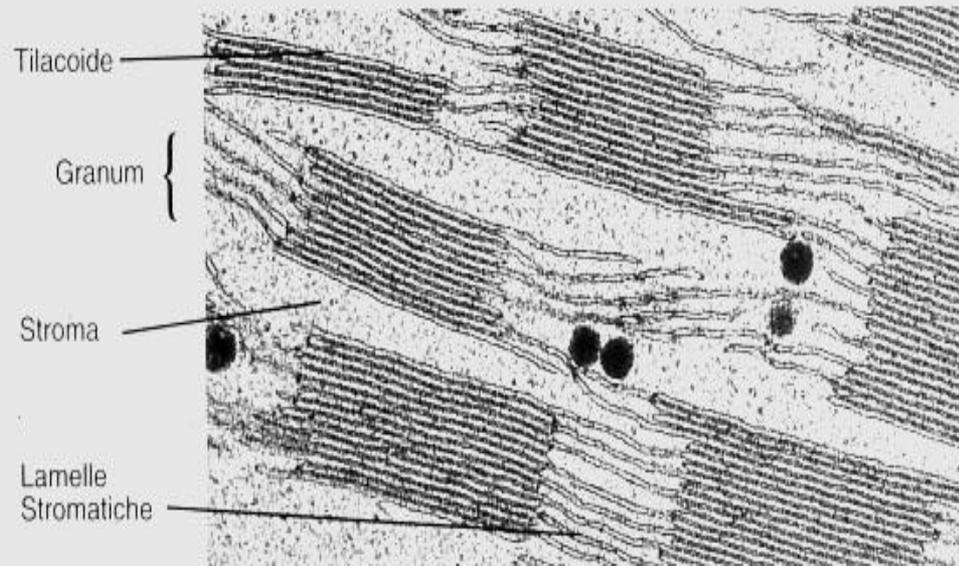


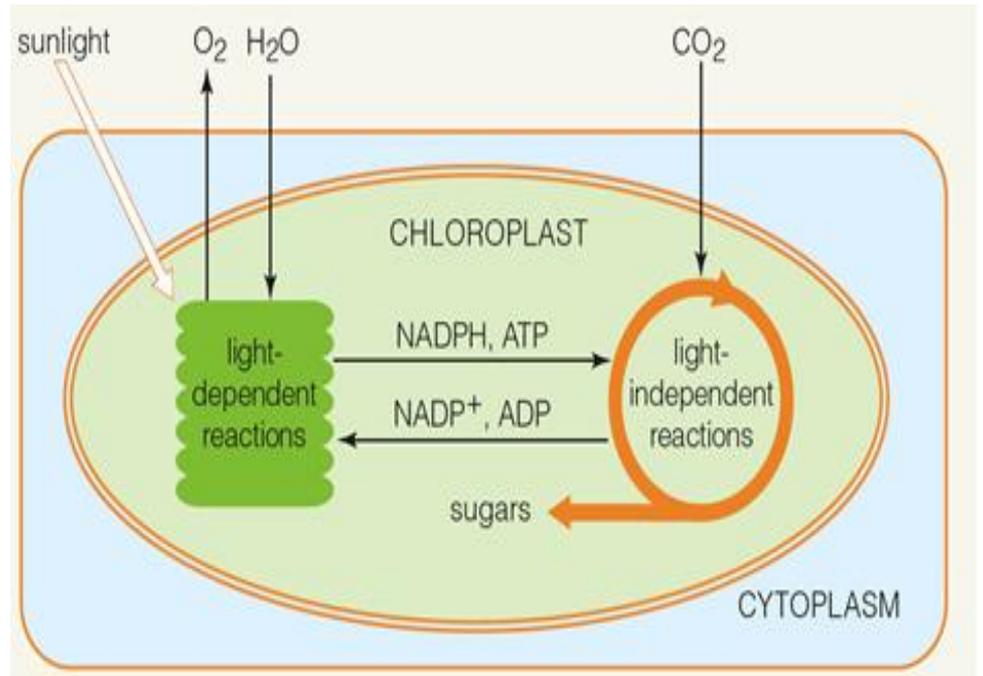
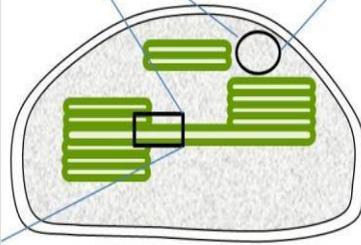
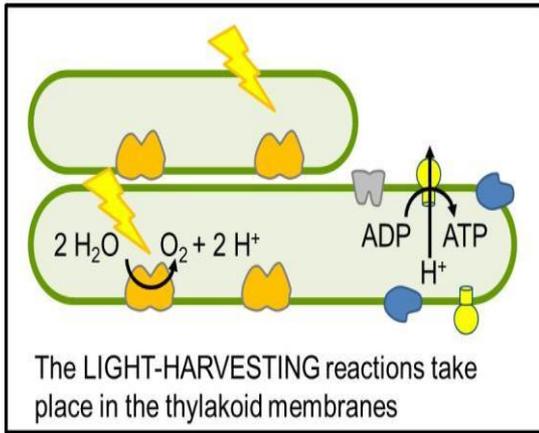
Non solo fotosintesi
ma anche molte
altre vie
metaboliche: ad
esempio,
assimilazione di N e
S, la sintesi di
metabolite
secondari, pigmenti

Cloroplasto
maturo x29000



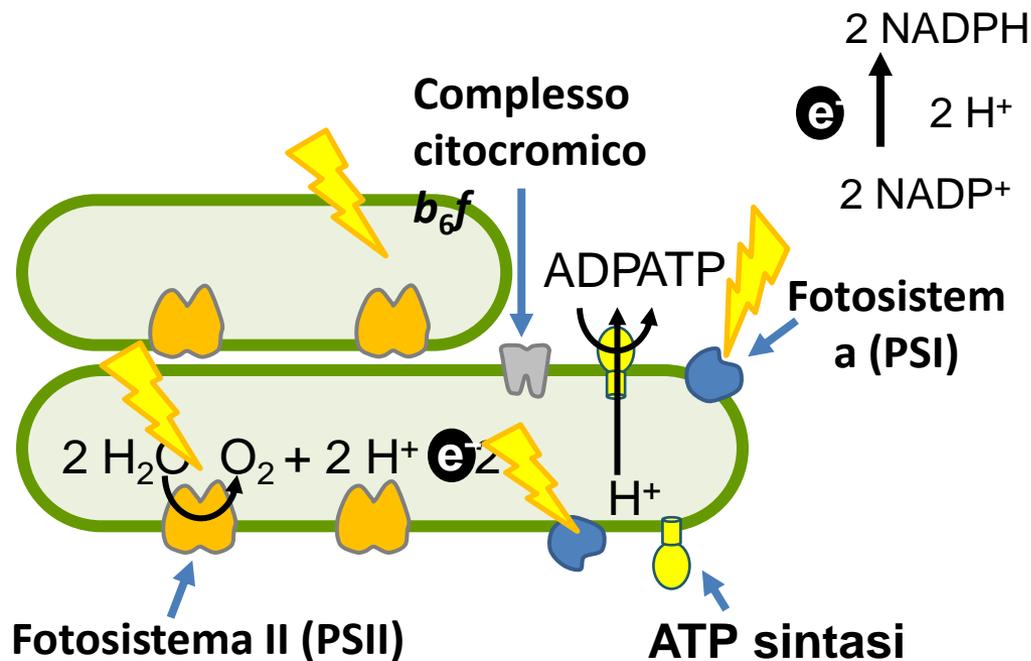
Particolar
e
x53.800





Le reazioni dipendenti dalla luce producono O₂, ATP e NADPH

Le reazioni richiedono molti complessi multi-proteici: due fotosistemi (PSI e PSII), il complesso citocromico *b₆f*, e l' ATP sintasi

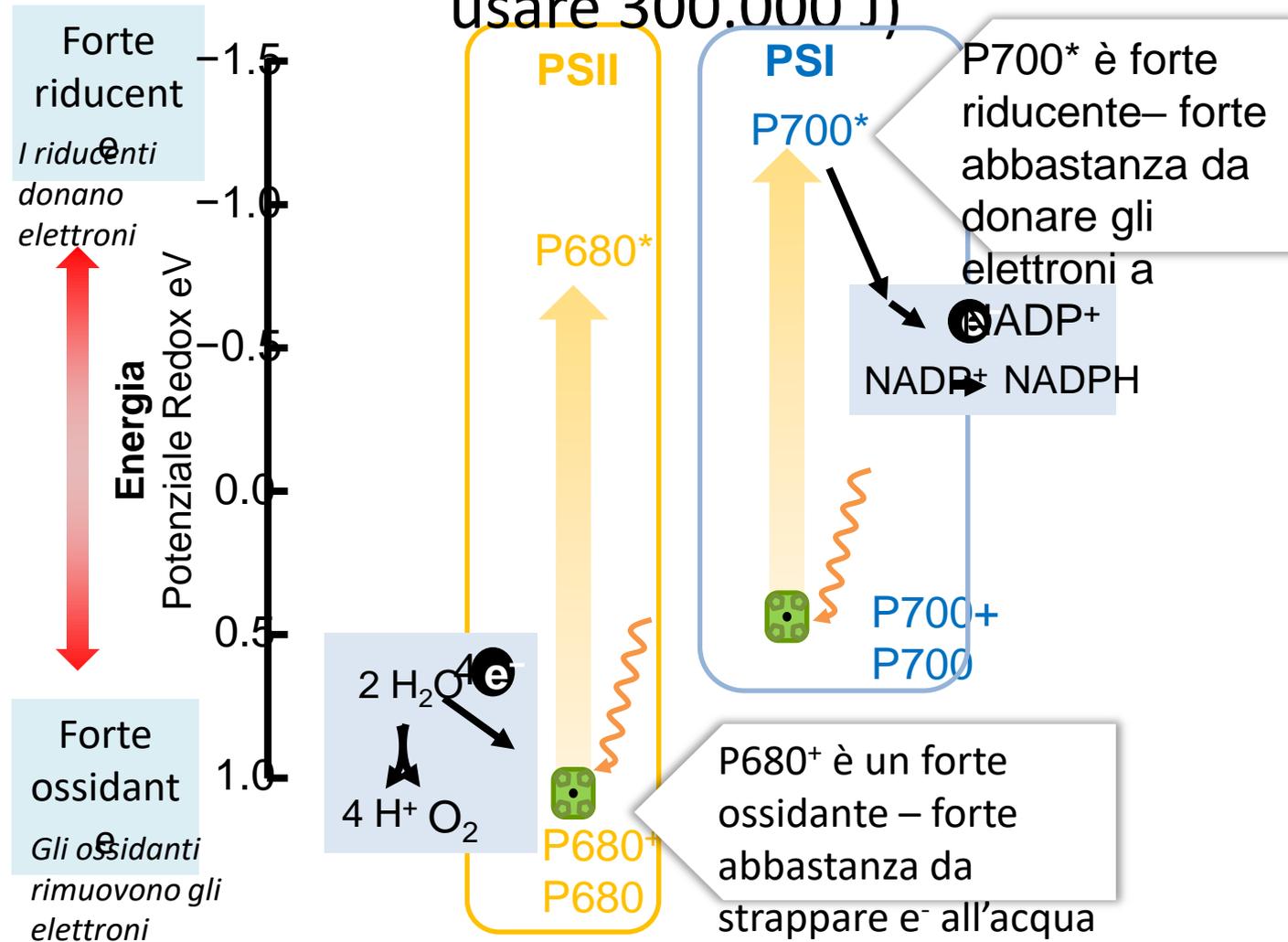


Adapted from Kramer, D.M., and Evans, J. R. (2010). The importance of energy balance in improving photosynthetic productivity. *Plant Physiol.* 155: [70-78](#).

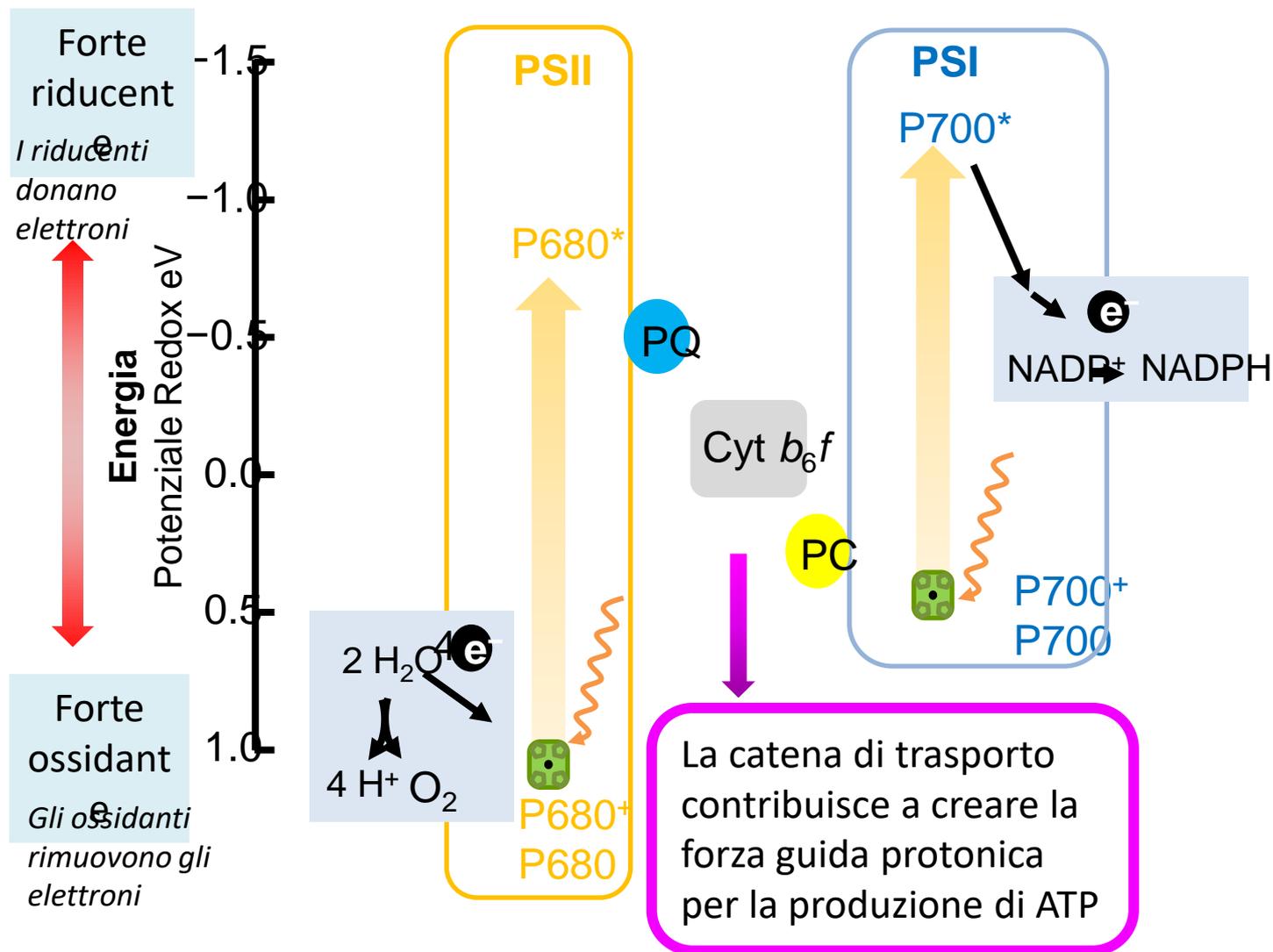
La fotosintesi ossigenica richiede due

fotosistemi

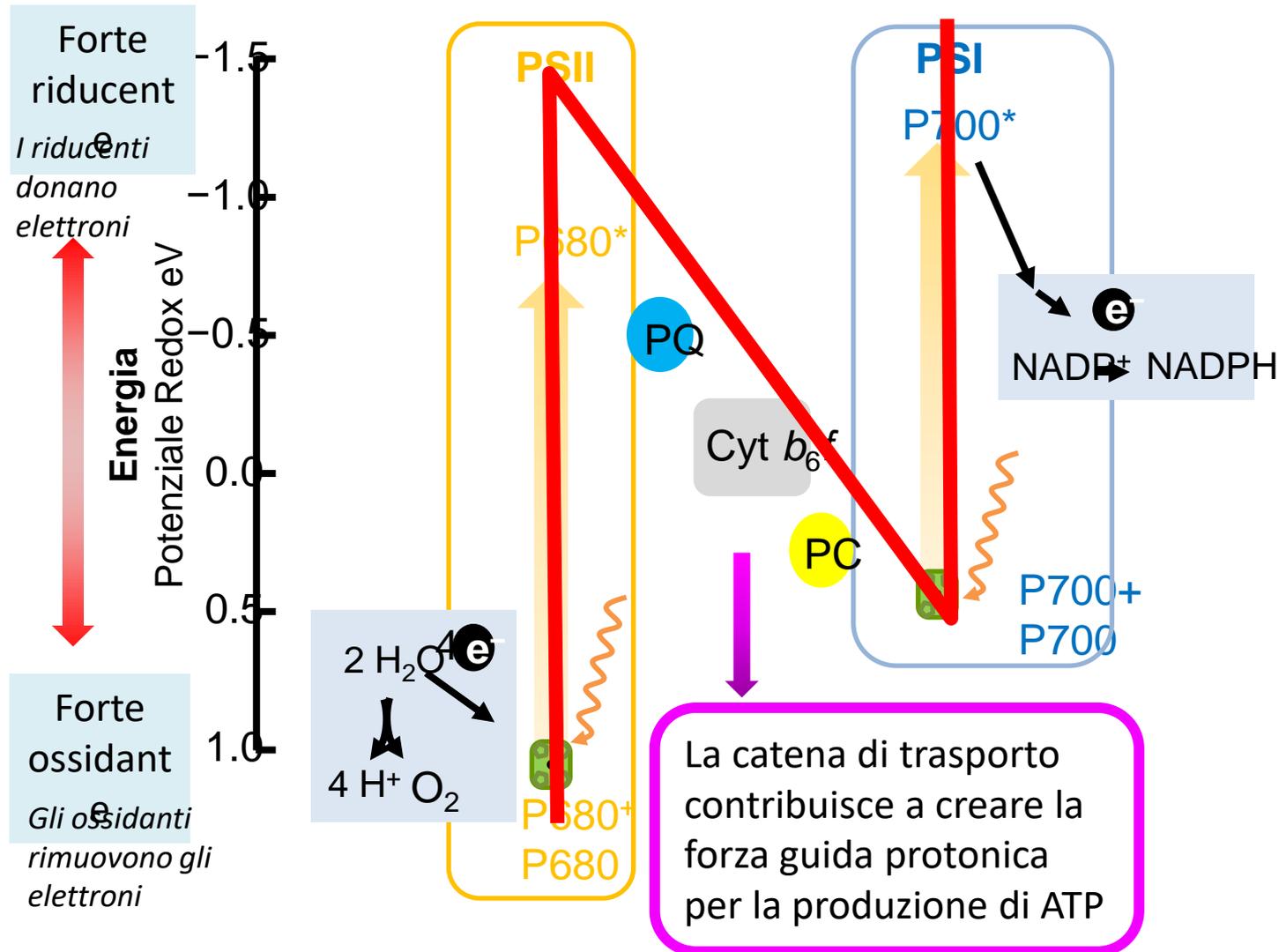
(per produrre 32 g di O₂ dall'acqua un organismo deve usare 300.000 J)



PSI e PSII sono connessi da una catena di trasporto degli elettroni



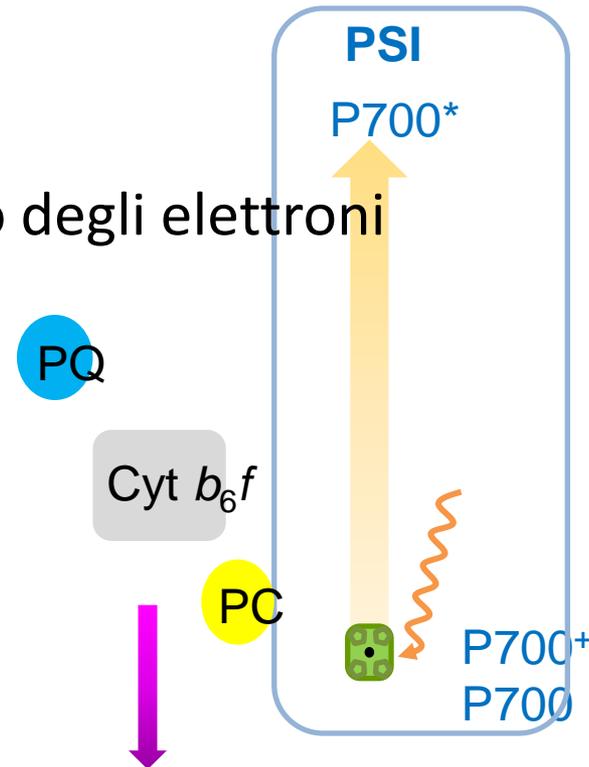
Questo diagramma è conosciuto come schema a Z



PSI può funzionare senza PSII, ma senza produrre ossigeno o NADPH

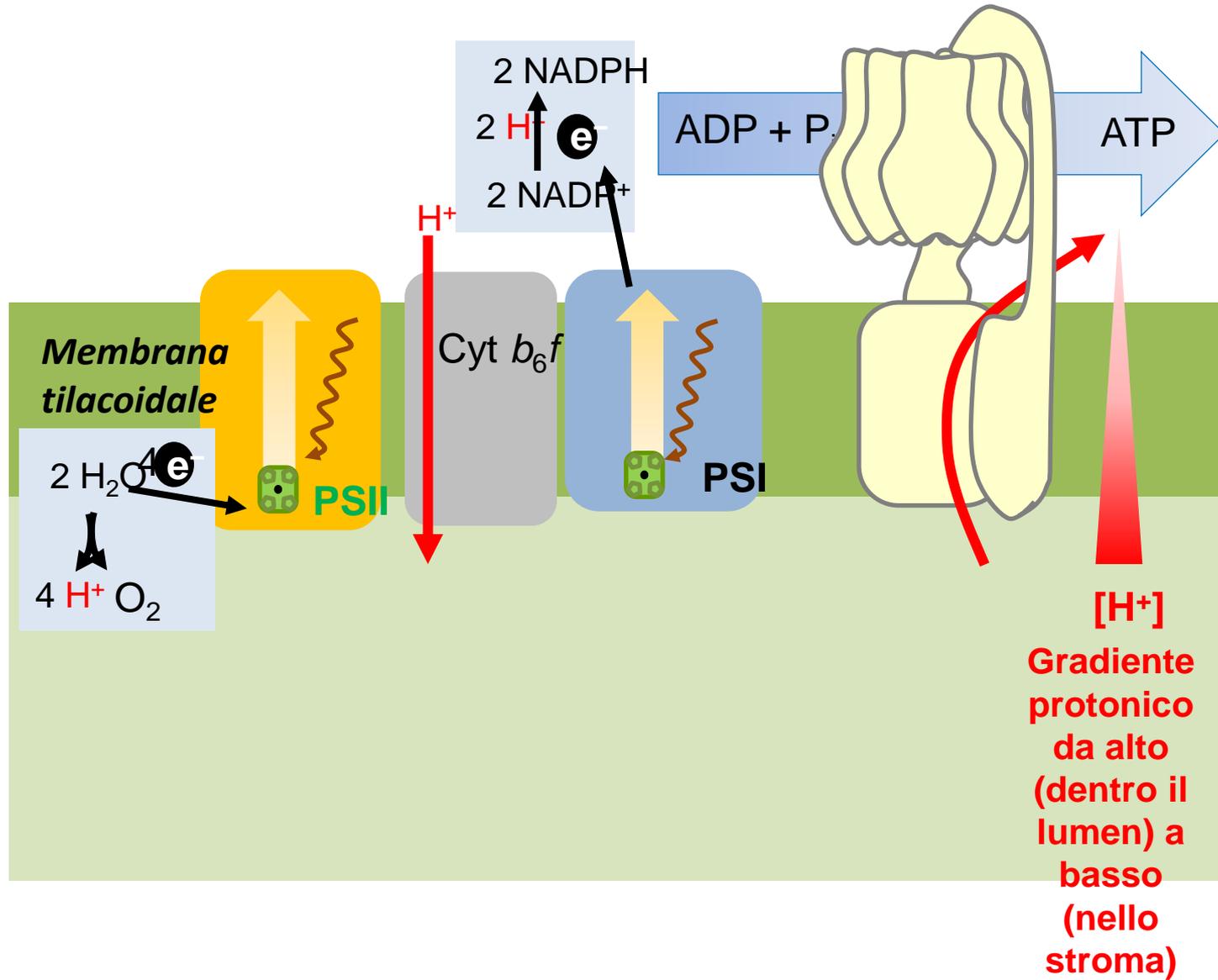
Trasporto ciclico di elettroni:

- solo PSI
- coinvolge la catena di trasporto degli elettroni
- produzione di ATP
- non libera O_2
- non produce NADPH

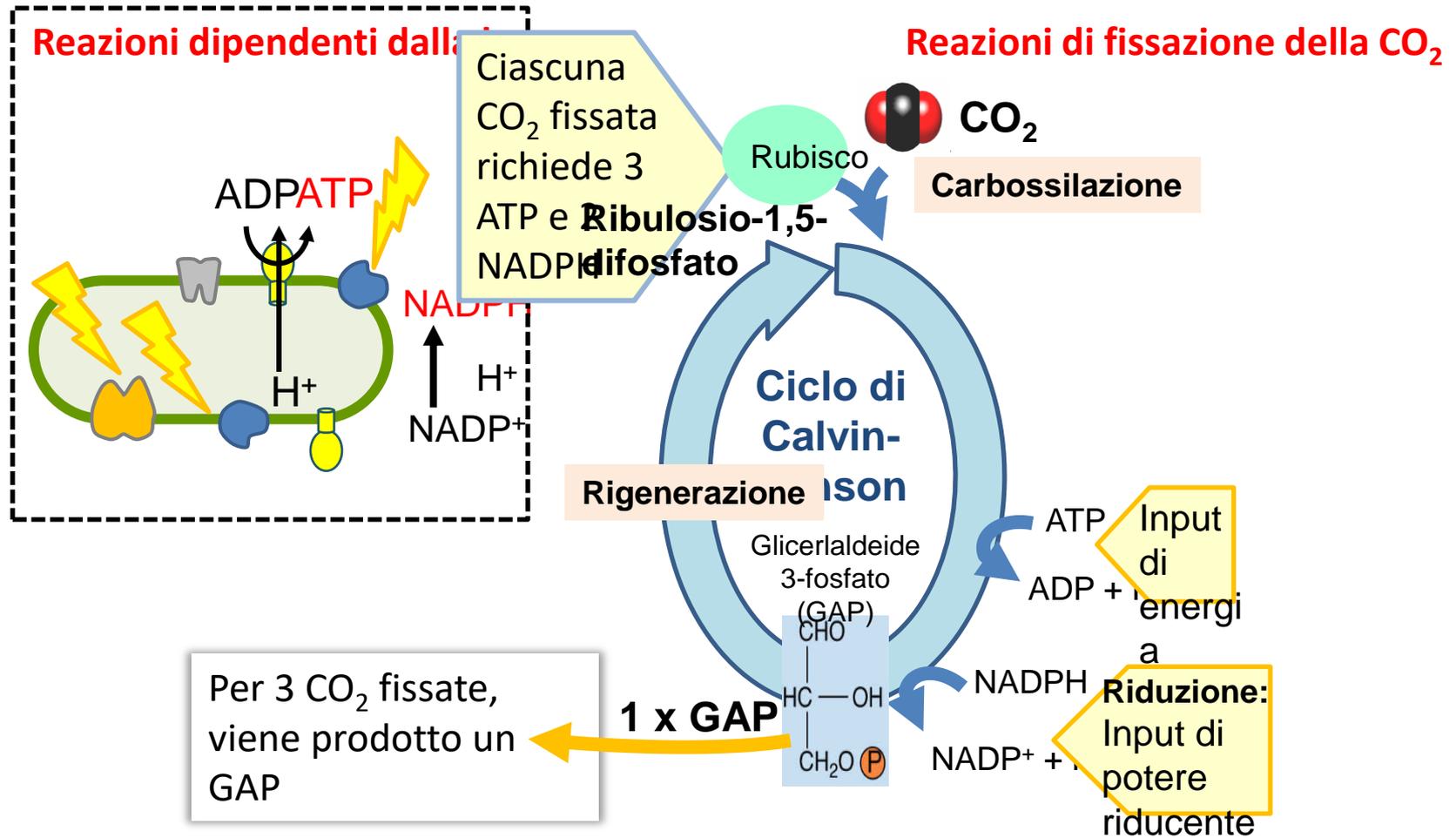


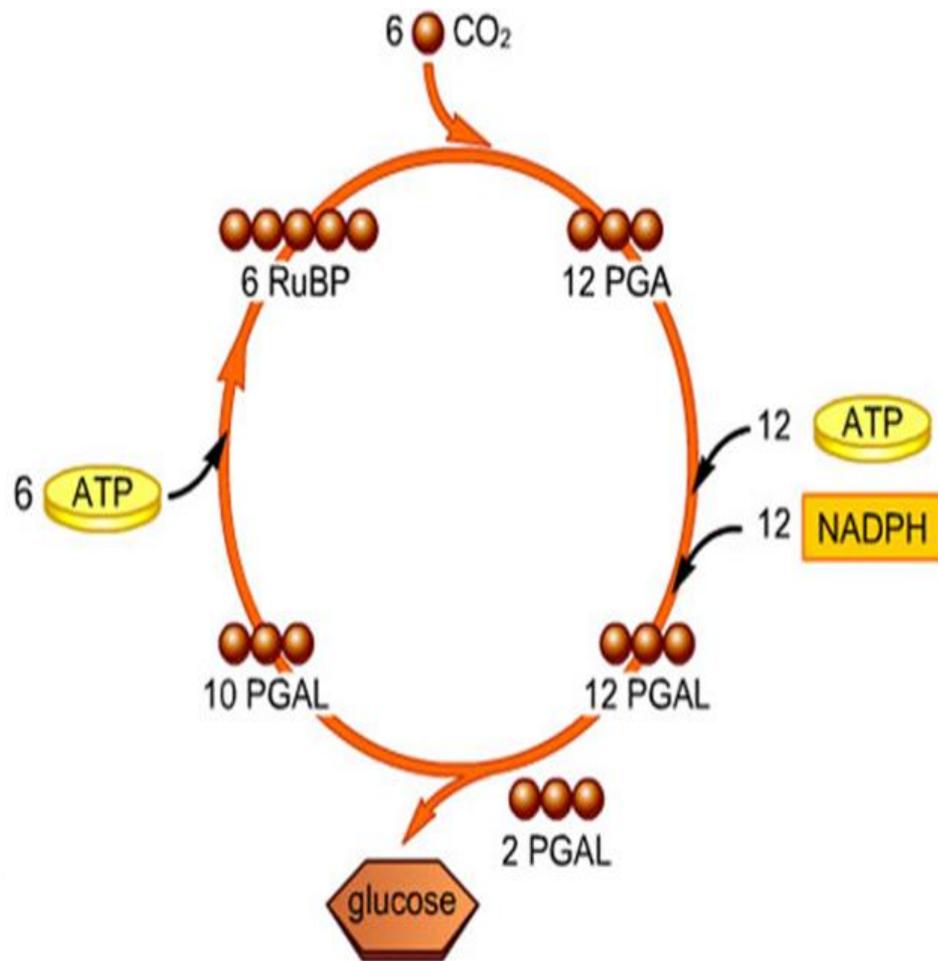
La catena di trasporto contribuisce a creare la forza guida protonica per la produzione di ATP

Il gradiente H^+ guida la sintesi di ATP



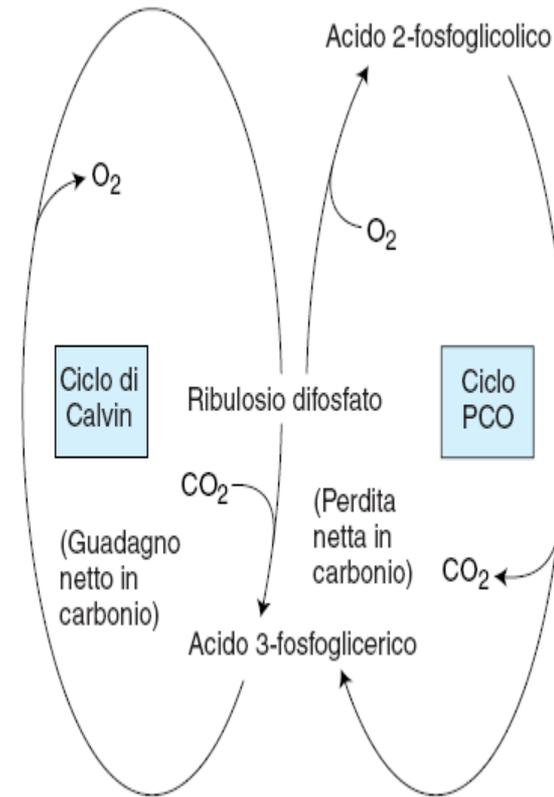
I prodotti della fase luminosa vengono utilizzati per fissare la CO₂





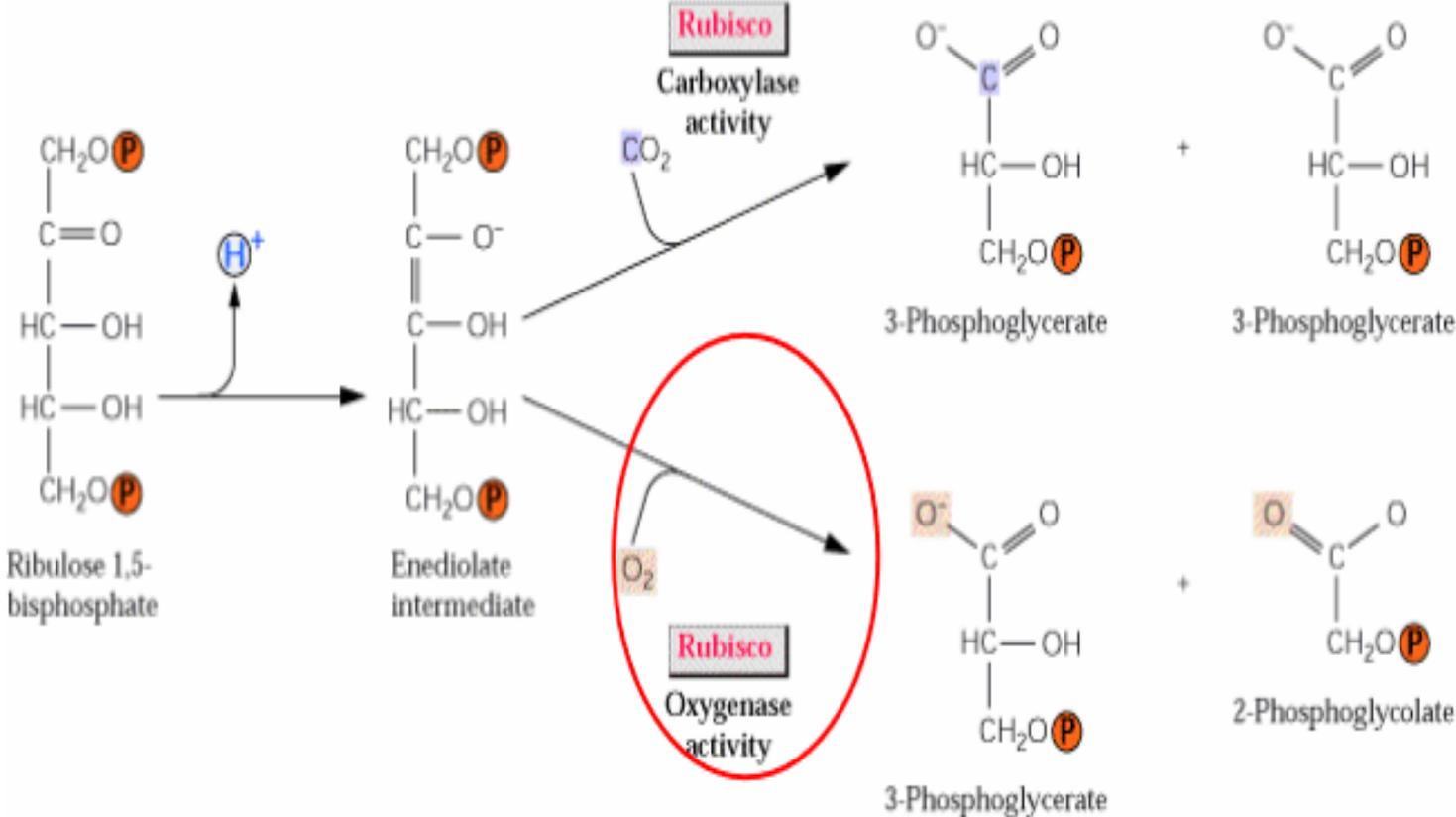
La fotorespirazione

Fotorespirazione (o ossidazione fotorespiratoria del carbonio, PCO) è una reazione che avviene sempre per intervento dell'enzima rubisco ed è in competizione con la fotosintesi. Come nella respirazione si ha



La ~~consumo di O_2 e~~ **ribuloso difosfato** ~~immissione di CO_2~~ **carbossilasi (**RUBISCO**)**
enzima che catalizza la **reazione tra il ribuloso**
difosfato e la CO_2 può reagire anche con l'ossigeno
se la concentrazione di CO_2 è bassa.

La Rubisco: un enzima antico con un problema attuale

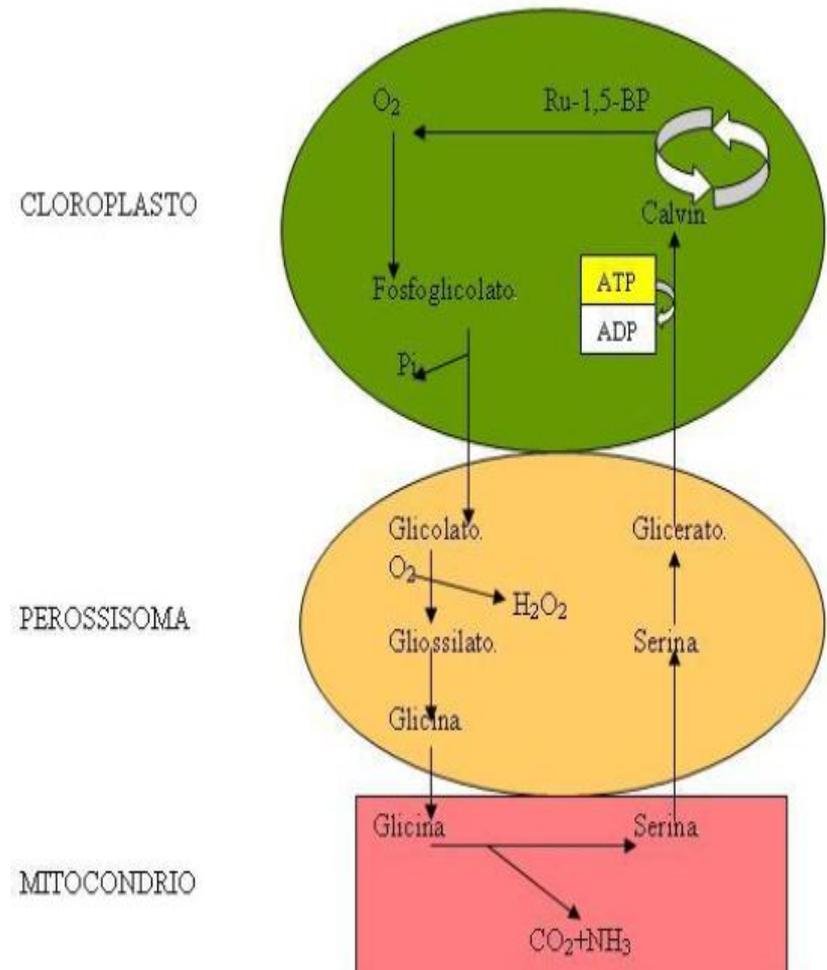


Via del glicolato

- coinvolti 3 compartimenti cellulari
- spostamento tra diversi compartimenti con trasportatori

Riassumendo:

- consumo di una molecola di O_2 per ogni RUBP ossidato
- perdita di $\frac{1}{2} CO_2$ a livello dei mitocondri
- impiego di 6,8 ATP + 7 NAPH per una CO_2 prodotta (più del doppio di quanto impiegato)



Il metabolismo fotosintetico del C nelle piante C3 è il risultato di due cicli opposti ed interconnessi

- Il ciclo di Calvin funziona autonomamente
- La fotorespirazione ha un ruolo “parassita” in quanto dipende dal ciclo di Calvin per il rifornimento di RU 1,5 DP

Il bilancio fra questi due cicli dipende da tre fattori:

1. Proprietà cinetiche della **RUBISCO** (affinità verso il substrato)

- $K_{M\ CO_2} = 20\ \mu\text{M}$  maggiore affinità

- $K_{M\ O_2} = 200\ \mu\text{M}$

2. Concentrazione dei substrati CO_2 e O_2

3. Temperatura

Le **condizioni normali sono fotorespiratorie**: l'aria contiene molto O_2 (21%) e poco CO_2 (0,036%)

La fotorespirazione abbassa l'efficienza fotosintetica della fissazione del C

dal 90% al 50%

È un processo che si verifica nelle piante quando la concentrazione interna della CO_2 è bassa (ad esempio, nel caso in cui gli stomi si chiudono per ridurre le perdite di acqua) e quando la temperatura è alta (alte temperature diminuiscono l'affinità del **RUBISCO** per la CO_2).

La **fotorespirazione** è processo dispendioso che “contrastata” e rende meno efficiente la fotosintesi:

- circa metà del carbonio fissato nel ciclo di Calvin viene ossidato nuovamente e rilasciato come CO_2 dalla **fotorespirazione** durante giornate calde e secche

• diversamento dalla respirazione la

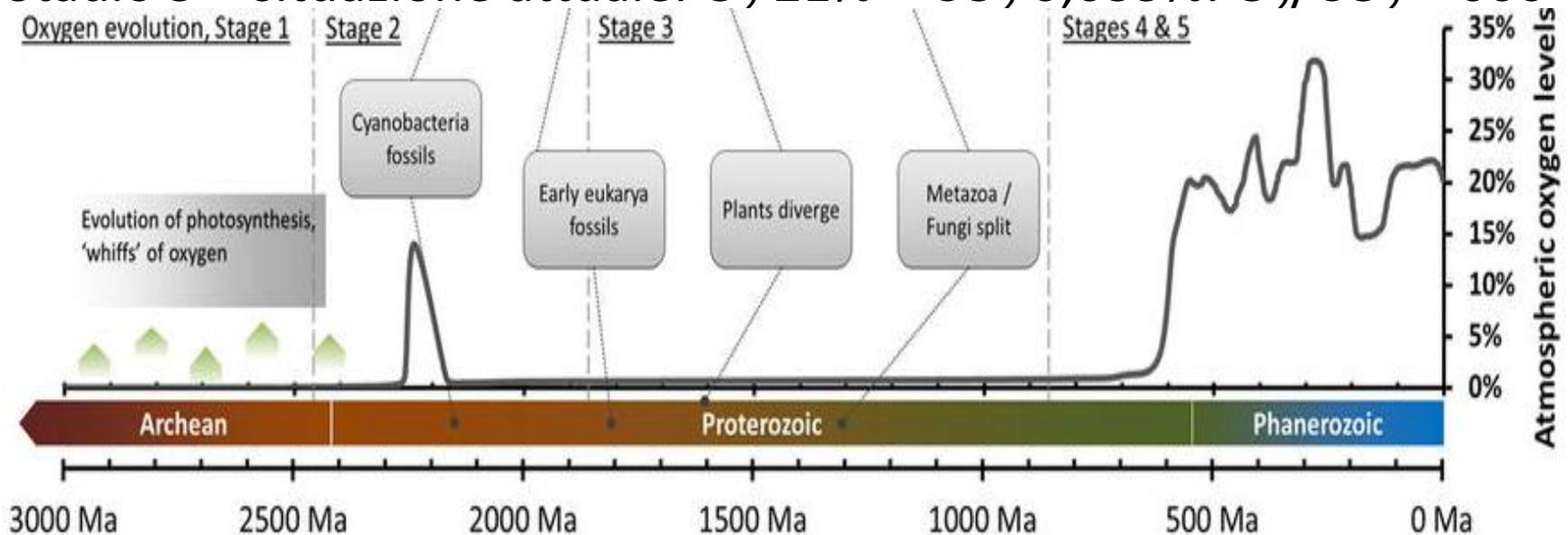
Science (1999)

- «la rubisco è il peggiore e più incompetente enzima del mondo» T. John Andrews
- «non uno degli esperimenti evolutivi più riusciti»
W. Ogren

Perché la RubisCO è così inefficiente?

- L'ossigenasi della **RUBISCO** è un “male” inevitabile a causa della struttura della **RUBISCO** stessa i cui siti attivi non sono in grado di discriminare tra CO_2 e O_2
- La **fotorespirazione** rappresenta un bagaglio dell'evoluzione, un relitto metabolico di quando l'atmosfera non conteneva ossigeno libero e quindi mancava la competizione per la CO_2

- Stadio 1 - prima della fotosintesi ossigenica: O₂ in tracce – CO₂ 5%.
O₂/CO₂ = 0,002
- Stadio 2 - comparsa della fotosintesi ossigenica (cianobatteri):
Great Oxygenation Event
- Stadio 3- accumulo molto lento di O₂. Assorbimento degli oceani e ossidazione dei minerali della crosta terrestre
- Stadio 4 - fine dell'effetto tamponante. Colonizzazione della terra da parte delle piante. O₂ 10% – CO₂ 0,5%. O₂/CO₂ = 20
- Stadio 5 – situazione attuale. O₂ 21% – CO₂ 0,035%. O₂/CO₂ = 600



Modificato da Gacesa et al., 2016.

Scientific Reports

Perché la RubisCO è così inefficiente?

- L'ossigenasi della **RUBISCO** è un “male” inevitabile a causa della struttura della **RUBISCO** stessa i cui siti attivi non sono in grado di discriminare tra CO_2 e O_2
- La **fotorespirazione** rappresenta un bagaglio dell'evoluzione, un relitto metabolico di quando l'atmosfera non conteneva ossigeno libero e quindi mancava la competizione per la CO_2
- In seguito all'accumulo di ossigeno la RubisCO ha imparato a riconoscere la CO_2 dall' O_2

MA.....

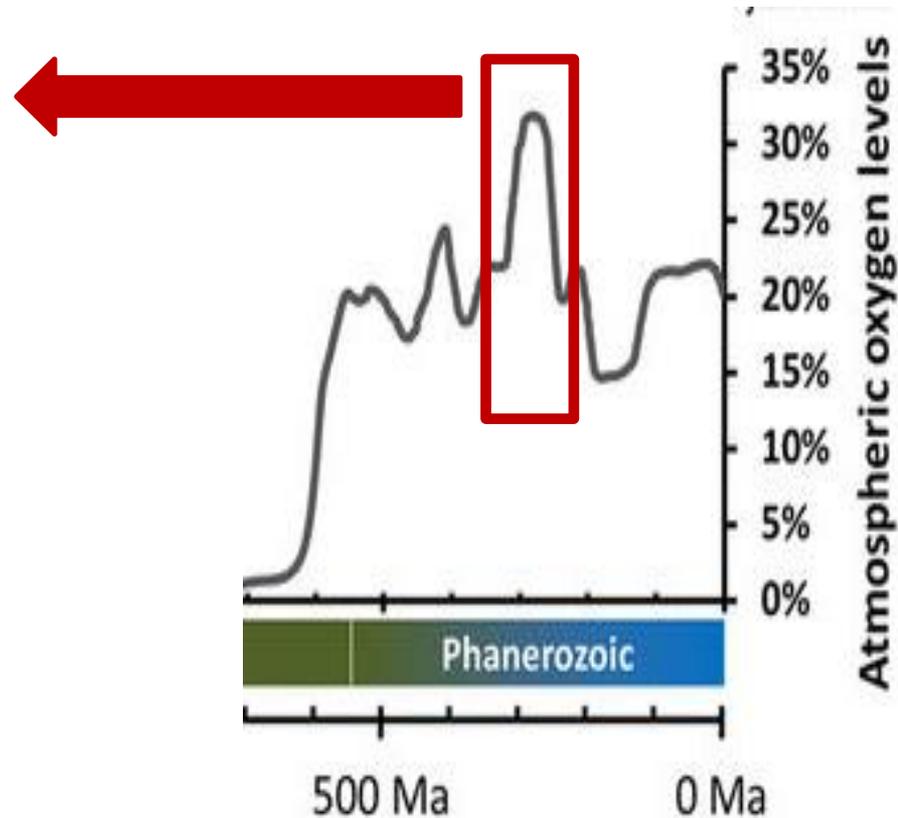
Una trappola tradeoff

Attività dell'enzima e sua specificità sono reciprocamente associate

Una RubisCO più veloce ha un più alto tasso di errore, una RubisCO più specifica ha un più basso tasso catalitico

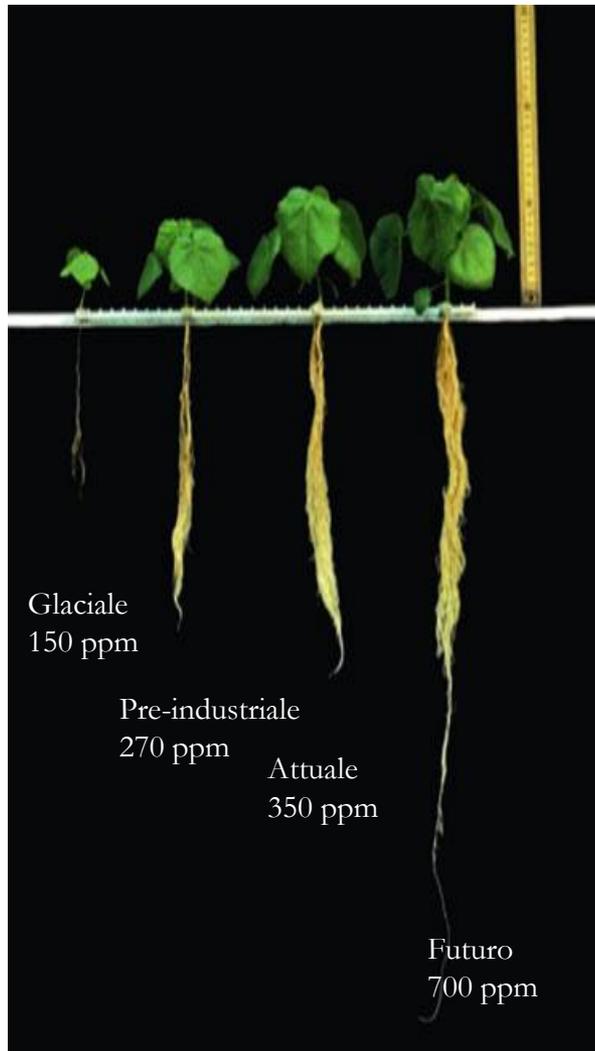
Ma forse ci sono anche altre ragioni di cui tener conto

Carbonifero 350 –
300 milioni anni fa



Concentrazioni di ossigeno che eccedono gli attuali livelli rendono la materia altamente infiammabile particolarmente quando la T è alta e l'umidità atmosferica è bassa





La concentrazione minima di CO₂ che una pianta terrestre richiede per completare il suo ciclo vitale (crescere, svilupparsi, riprodursi) è 0,018 cioè la metà della concentrazione attualmente presente in atmosfera

Modificato da Dippery et al., 1995

La RubisCO è quindi una sorta di valvola di sicurezza che contribuisce in maniera determinante ai processi omeostatici che rendono possibile la vita sulla terra

Tradeoff: attraverso la fotorespirazione le piante "decidono" di ridurre la crescita in favore della sostenibilità. Sacrificano parte del loro potenziale fotosintetico e di produttività così da assicurarsi cibo per il futuro ed evitare il rischio di distruzione dovuto all'ossidazione.

Inoltre...

fotosintesi veloce \Rightarrow necessita di una elevata disponibilità di ADP e NADP⁺

Se c'è un elevato processo riduttivo senza accettori finali (NADP⁺) con elevato gradiente di H⁺ attraverso le membrane tilacoidali (senza ADP), ciò può danneggiare i pigmenti fotosintetici (danni ossidativi o fotoinibizione da radicali di O₂).

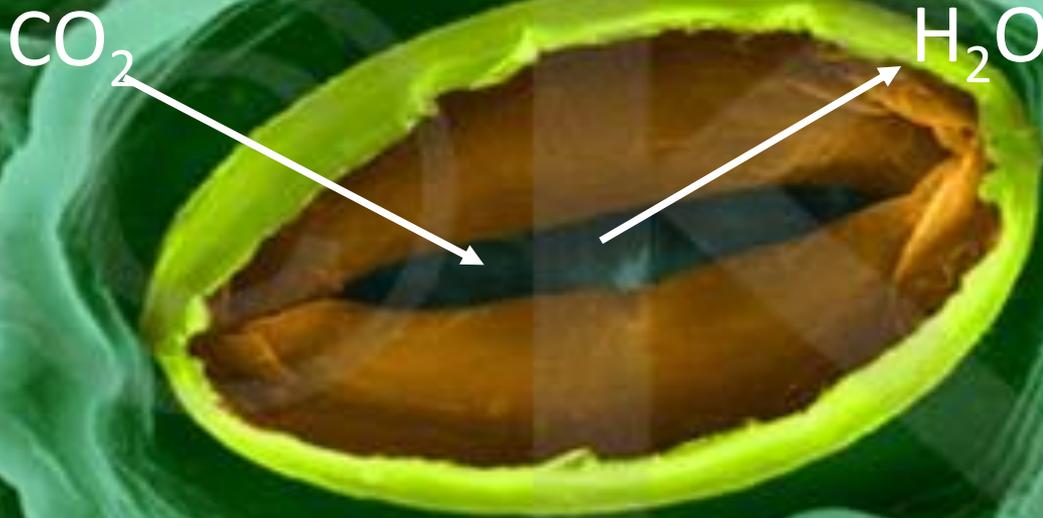
Infatti a stomi chiusi l'eccessiva produzione di O₂ da parte del complesso OEC può generare derivati tossici (i ROS) che danneggiano le membrane e i pigmenti. Il consumo di O₂ con la fotorespirazione **riduce questo rischio dissipando e⁻ in eccesso quando CO₂ intracellulare è bassa.**

Tradeoff: impossibilità di raggiungere contemporaneamente due obiettivi diversi

- è assai improbabile che l'evoluzione abbia perso per strada soluzioni **tradeoff free** (qualsiasi cambiamento che migliora la fitness di una specie indipendentemente dalle condizioni in cui essa possa vivere)
- molti miglioramenti promessi dai biotecnologi sono già stati ripetutamente testati ed eliminati dalla selezione naturale, a causa dei tradeoff
- se ignoriamo questi tradeoff rischiamo di innescare processi che introducono soluzioni peggiori

STOMI

la più grande e variabile componente della barriera di diffusione (resistenza)



assorbimento CO_2 e traspirazione – trade-off inevitabile

Limitazione stomatica

Deficit idrico prevale su qualsiasi altro segnale

WUE water use efficiency

Guadagno di carbonio per unità di acqua persa

mol CO₂ fissate/ mol H₂O traspirate

WUE è dell'ordine di 0,002 (1/500 molecole circa)

Ossia 1000 g H₂O x 4 g CO₂

La selezione naturale ha migliorato l'efficienza fotosintetica e l'uso dell'acqua

La selezione naturale offre soluzioni incomparabilmente superiori a qualsiasi tentativo operato dall'uomo

- non è possibile affermare che la selezione naturale abbia testato ogni possibile genotipo o anche ogni possibile fenotipo

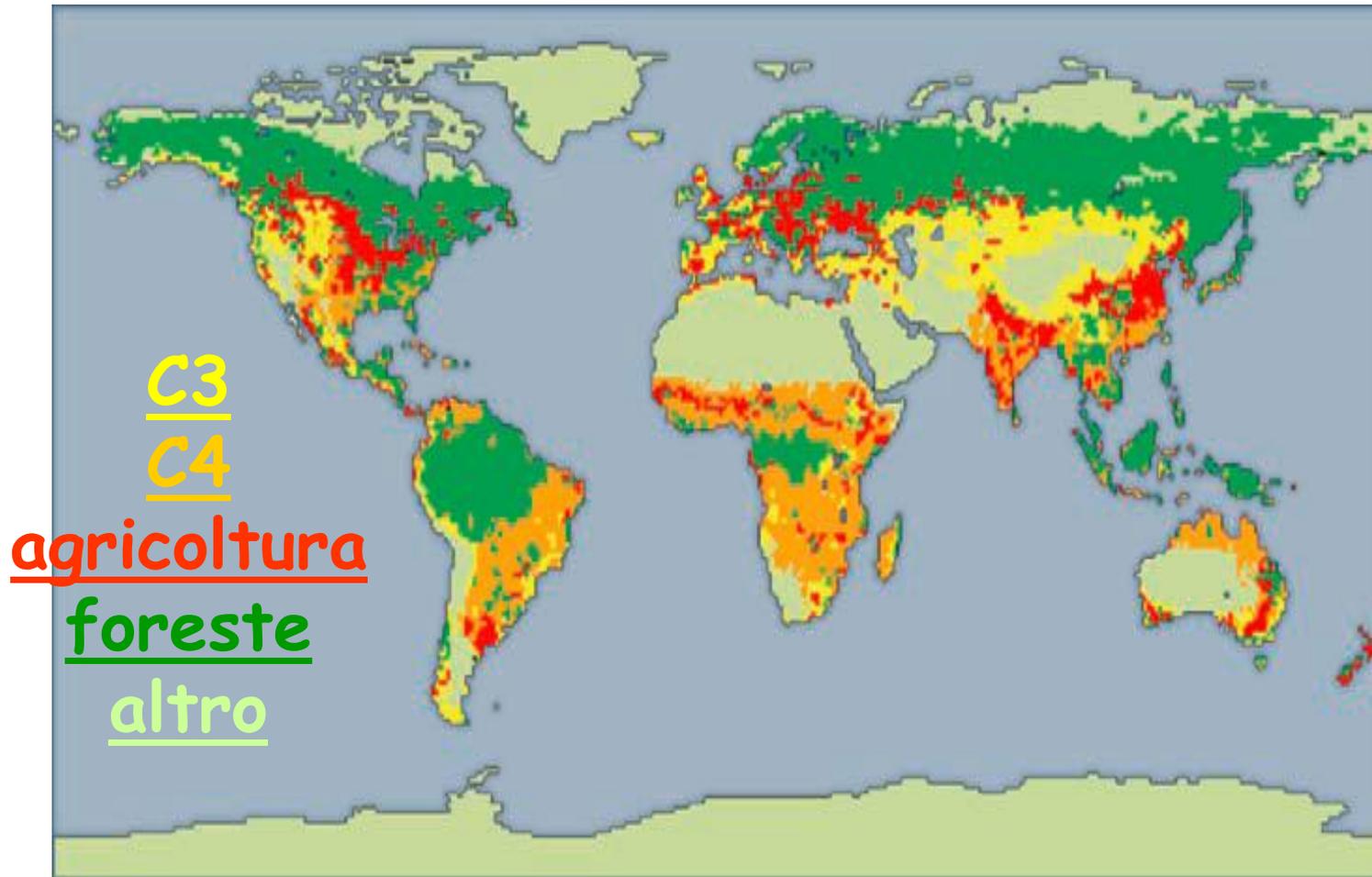
MA

- la selezione naturale ha sicuramente testato ciascun fenotipo che è ragionevolmente simile a quelli che già esistono

L'evoluzione della fotosintesi C4 a partire dalla fotosintesi C3 ne è un esempio calzante

- migliorare questa complessità biochimica è apparentemente qualcosa che la selezione naturale può fare con una certa facilità
 - ✓ la fotosintesi C4 si è evoluta almeno 60 volte in 18 differenti famiglie di piante, talvolta più di una volta per famiglia, in ambienti simili (convergenza adattativa)
- ben al di là di qualsiasi capacità umana di disegnare e creare un simile miglioramento dal nulla. Anche

Le piante C4 dominano nelle aree tropicali



Edwards et al. 2010,
Science 328, 587

*Zea
mays*



Acido malico }
Acido } 4 atomi
aspartico } di C

**Adattamento ad ambienti
caldi e umidi/secchi**

**Comparsa ed evoluzione delle C4: 10-35 milioni di
anni fa**

Solo il 3% delle specie vegetali hanno un metabolismo fotosintetico C₄

Se la via C₄ interessa poche piante perché occuparsene?

Ma



Sorgo

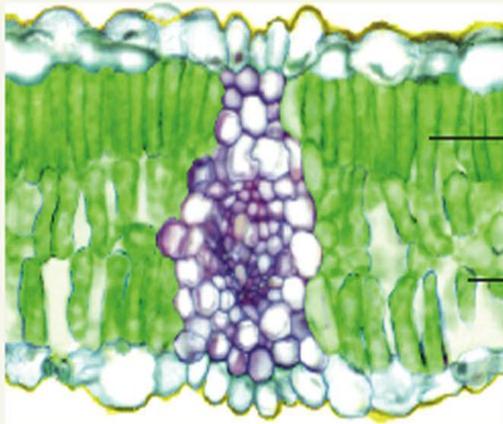


Canna da zucchero



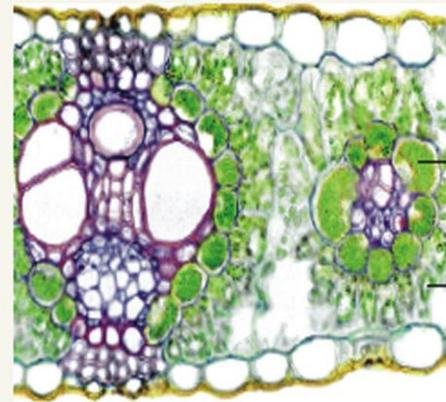
30% della produttività

Anatomia Kranz: mais, canna da zucchero, sorgo, amaranto ed altre specie di origine



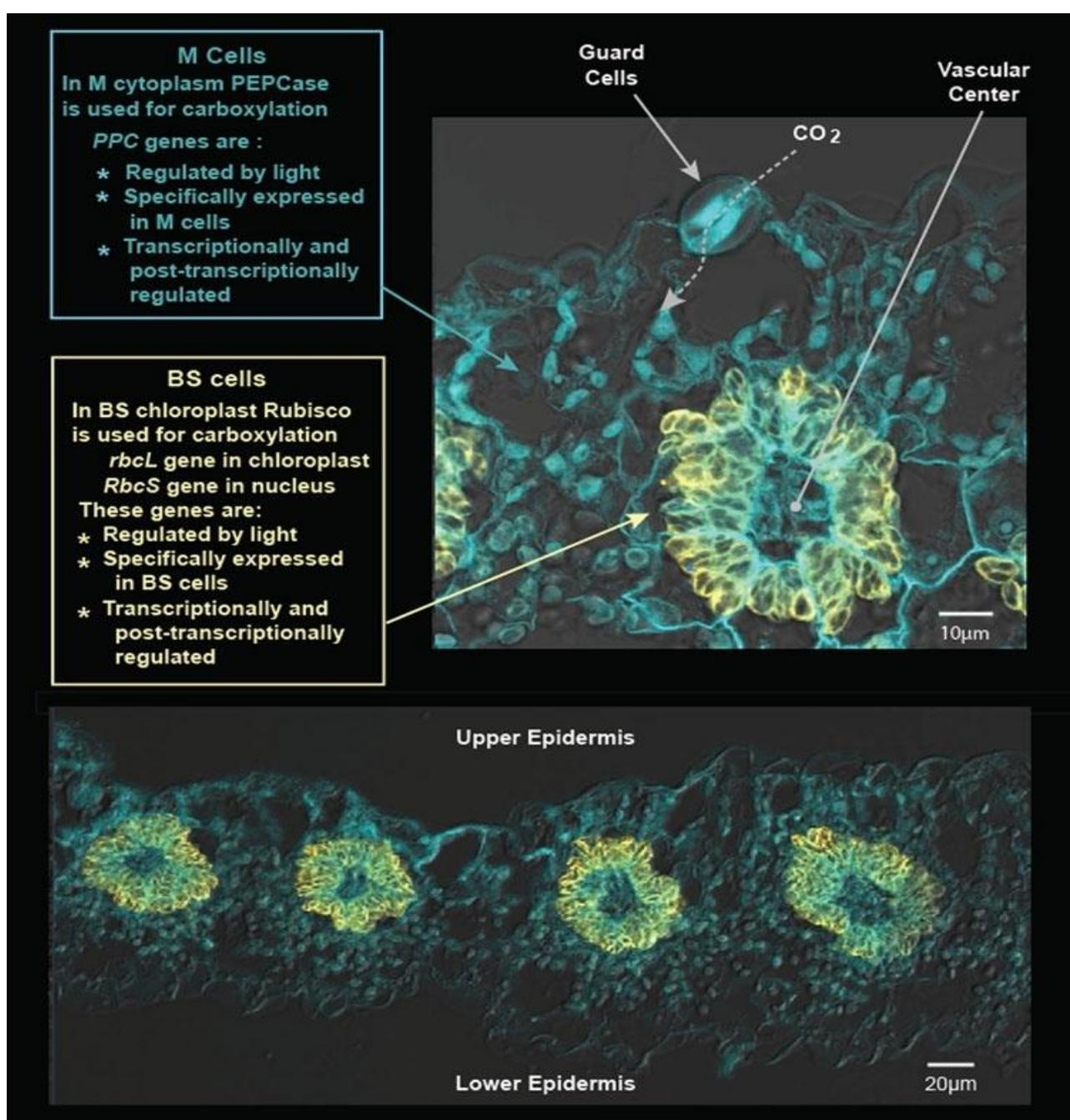
— palisade mesophyll cell
— spongy mesophyll cell

A C3 plant leaves. Chloroplasts are distributed evenly among two kinds of mesophyll cells in leaves of C3 plants such as basswood (*Tilia americana*). The light-dependent and light-independent reactions occur in both cell types.

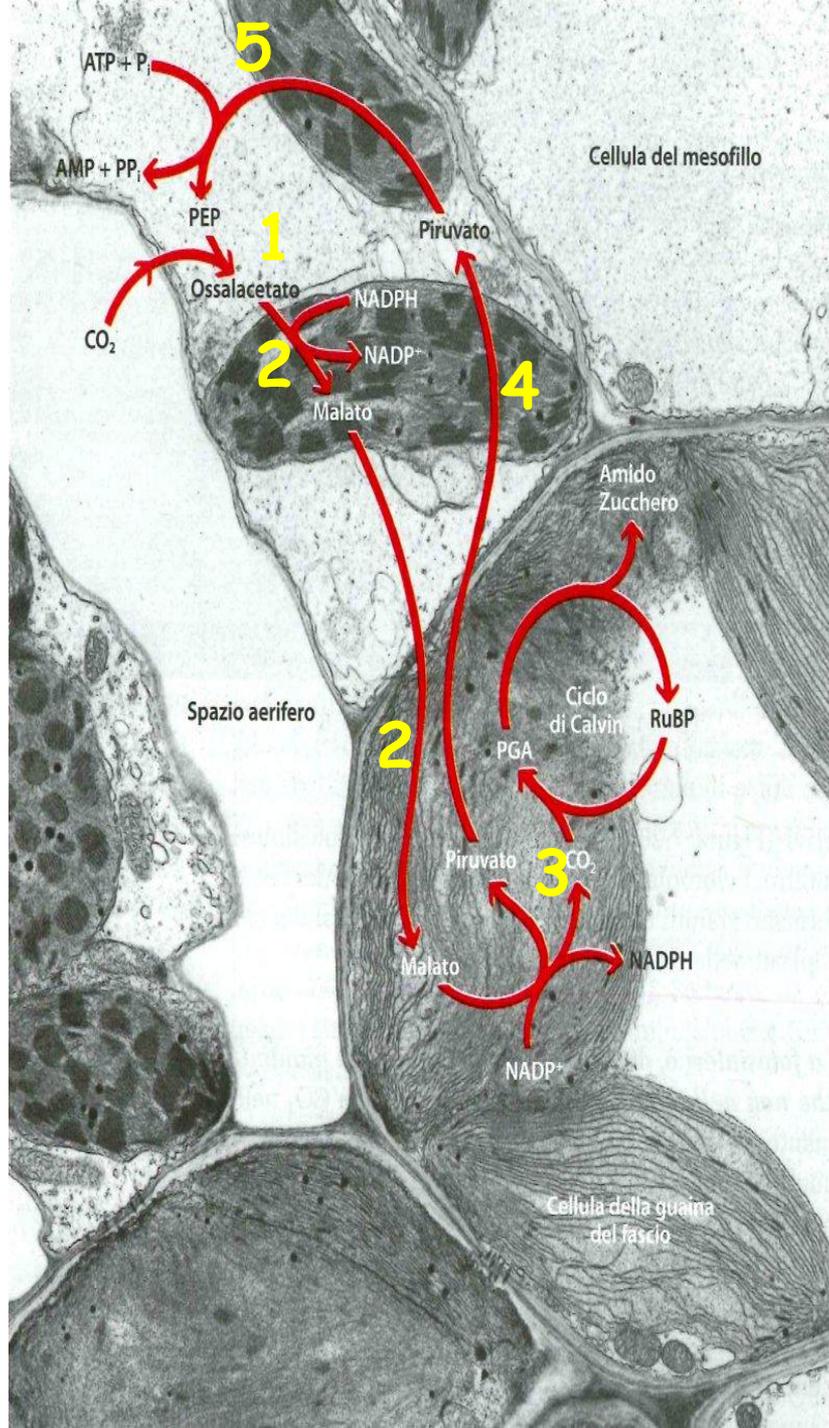


— bundle-sheath cell
— mesophyll cell

B C4 plant leaves. In C4 plants such as corn (*Zea mays*), carbon is fixed the first time in mesophyll cells, which are near the air spaces in the leaf, but have few chloroplasts. Specialized bundle-sheath cells ringing the leaf veins closely associate with mesophyll cells. Carbon fixation occurs for the second time in bundle-sheath cells, which are stuffed with rubisco-containing chloroplasts.



Kranz anatomy in a leaf section from C4 *Amaranthus hypochondriacus* (amaranth). (Berry et al.,



Tappe del metabolismo C4

Doppia carbossilazione

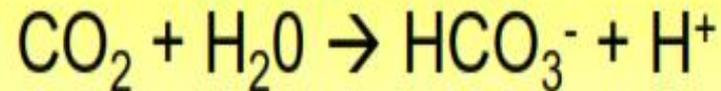
1. Fissazione della CO_2 in un acido C_4 (PEP mesofillo)
2. Riduzione e trasporto acido C_4
3. Decarbossilazione acido C_4 (cellule della guaina)
4. Trasporto composto C_3 (mesofillo)
5. Rigenerazione

RISULTATO:
 accettore (mesofillo) + CO_2 nei pressi della **RUBISCO**

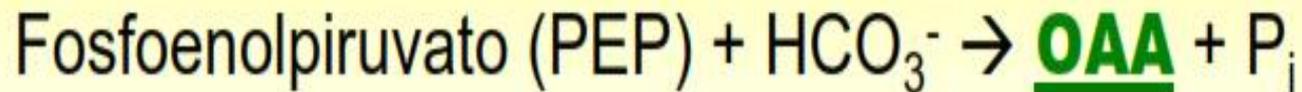


soppressione della fotorespirazione

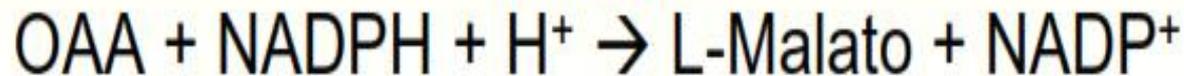
Anidrasi carbonica



PEP carbossilasi (alta affinità per CO₂)

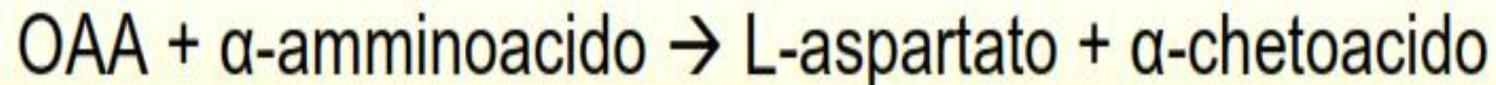


Malato DH

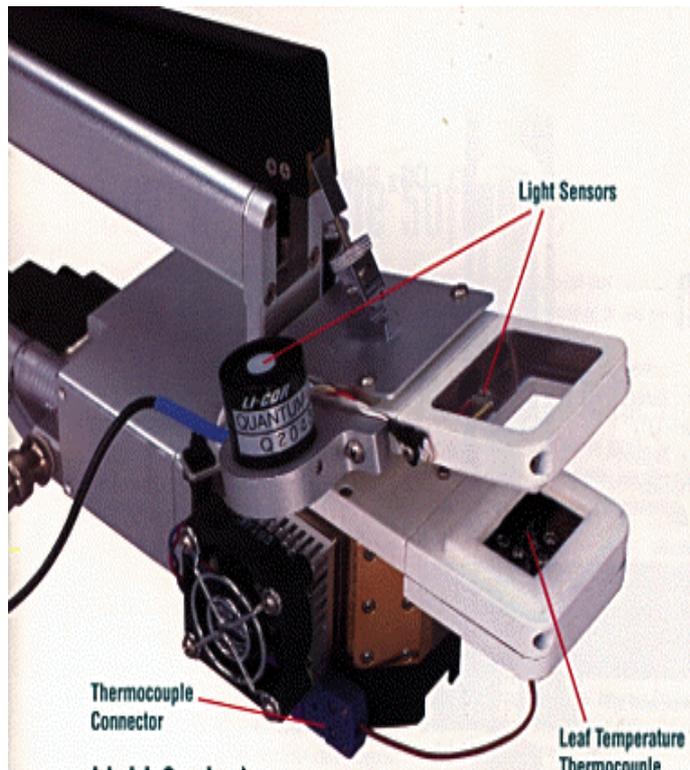


oppure

Transamminasi



LI-COR 6400



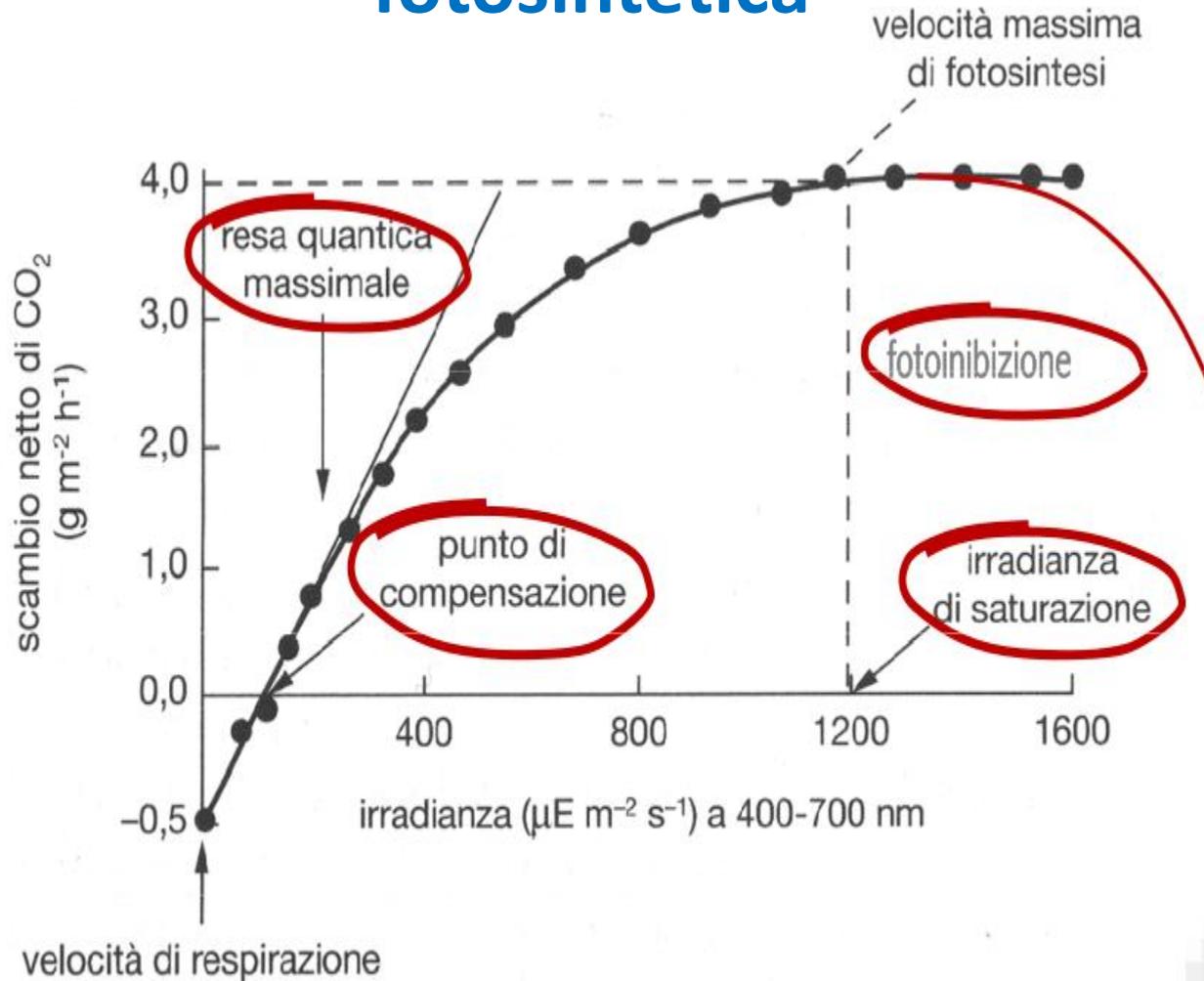
La camera viene chiusa sulla foglia. La luce e la temperatura vengono misurate durante il processo fotosintetico

Infra-red Gas Analyzer: misura la concentrazione di CO_2 nel flusso d'aria prima e dopo che questa fluisce dalla foglia nella camera

Il tasso fotosintetico viene calcolato dalla differenza tra il tasso di flusso gassoso e la concentrazione di CO_2



Curve luce/risposta fotosintetica



Andamento del tasso fotosintetico in funzione dell'irradianza solare

Resa quantica

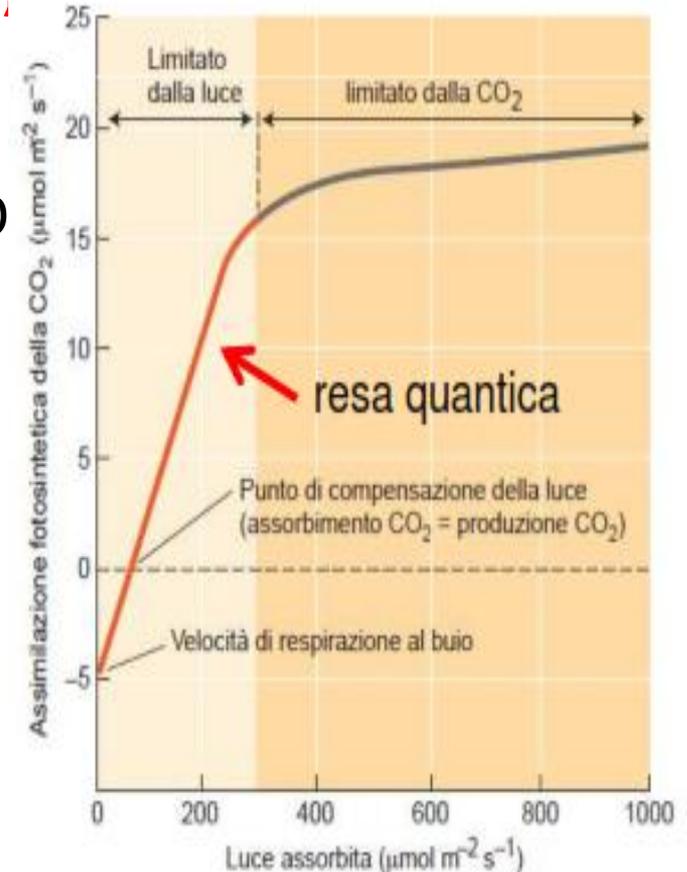
La pendenza della curva nella zona lineare definisce la resa quantica, ossia quanti μmol di CO_2 vengono fissate per μmol di fotoni assorbiti

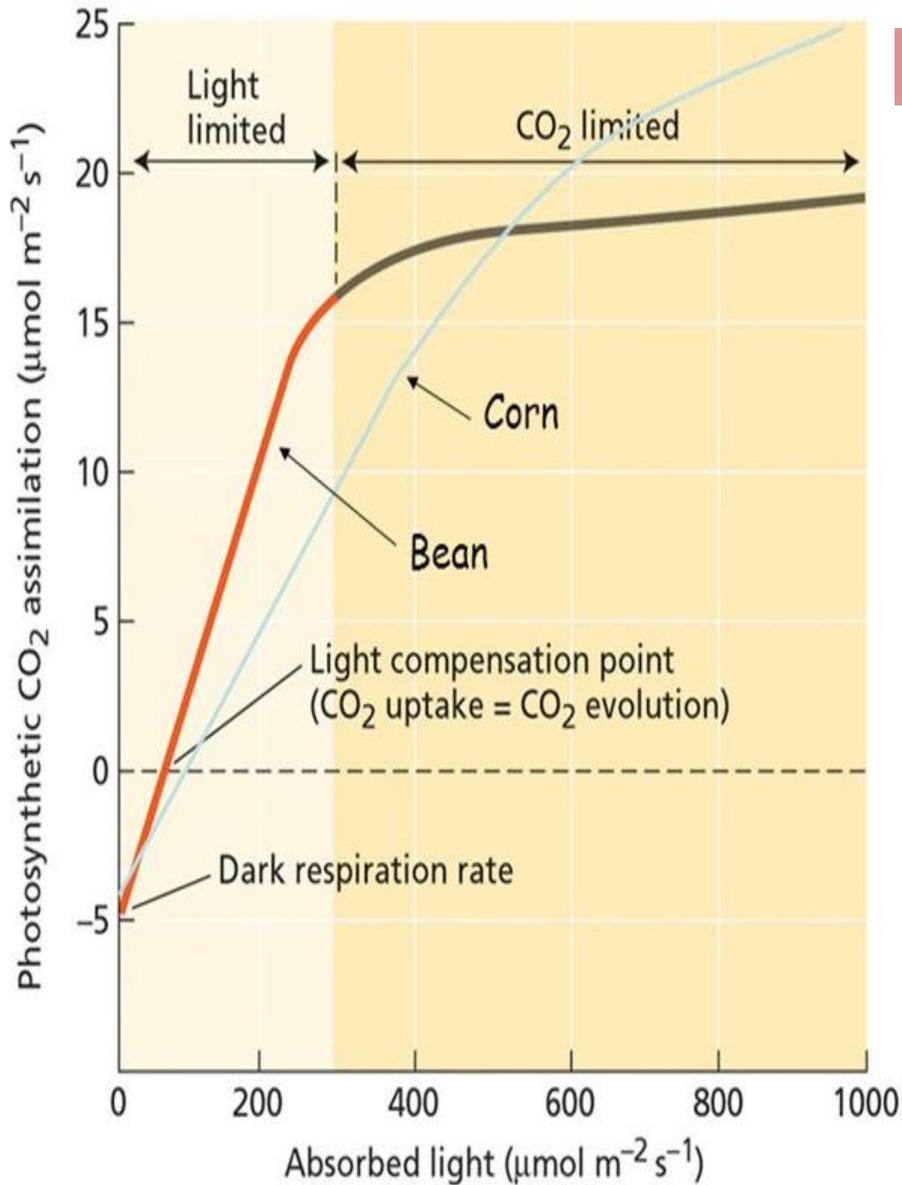
Rese C3 –C4 in campo sono tra 0,04 – 0,06 ($\mu\text{mol CO}_2/\text{mol fotoni assorbiti}$)

La resa quantica dipende dalla CO

C3: se si riduce l' O_2 , la fotorespirazione viene inibita e la resa quantica arriva a 0,09

C4: niente fotorespirazione, la resa quantica è costante e si assesta a valori di 0,05-0,06





PLANT PHYSIOLOGY, Third Edition, Figure 9.8 © 2002 Sinauer Associates, Inc.

Mais vs. fagiolo C3 vs. C4

1. Resa quantica inferiore

~~Corn vs. bean~~
2. Massimo fotosintetico

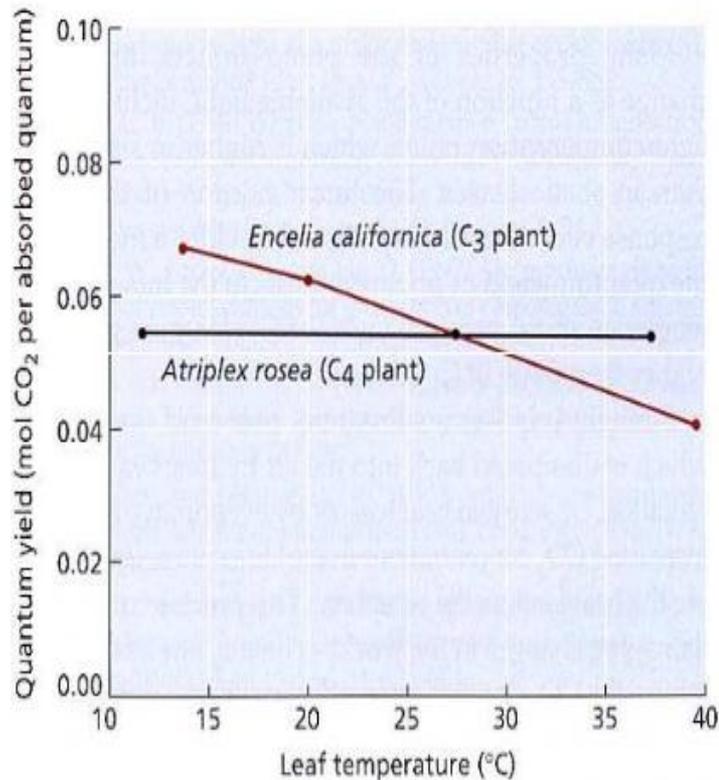
1. Lower QY
2. Higher P_{max} photosynthesis

3. Più alto livello di saturazione

3. Higher light saturation

4. Insensibile a

4. O₂ insensitive



**In condizioni di bassa
fotorespirazione il
ciclo C₄ non è
redditizio
Tradeoff!**

Nelle piante C₃ a temperature basse si ha la massima resa quantica (moli di CO₂ fissate per fotone assorbito) ma all'aumentare della temperatura la resa quantica si abbassa notevolmente. Le C₄ pur mantenendo una resa quantica minore a temperature considerate ottimali per le piante C₃ (dato il maggior costo di fissazione di una molecola di CO₂) hanno il pregio di mantenere costante la resa quantica. La temperatura intorno alla quale le C₄ diventano più efficienti delle C₃ si aggira intorno a 30 °C. La fotorespirazione

Le C4

- grazie al meccanismo di concentrazione richiedono quantità minori di Rubisco per un dato tasso fotosintetico:

sono più efficienti nell'uso dell'azoto

- possono mantenere un dato tasso fotosintetico a valori minori di CO_2 intercellulare, cioè possono tenere gli stomi parzialmente chiusi:

sono più efficienti nell'uso dell'acqua

- Il meccanismo di concentrazione di CO_2 ha un costo energetico:



1. Più alta efficienza di uso della radiazione solare a $T > 30^{\circ}\text{C}$
 2. Maggiore efficienza di uso dell'acqua
 3. Maggiore efficienza di uso dell'azoto
- Maggior
e
produttiv
ità

In molte piante dei generi *Zea*, *Mollugo*, *Moricandia* e *Flaveria*, avvengono entrambi i tipi di fissazione della CO_2 : nelle piante giovani c'è la C3, mentre nelle adulte la C4.

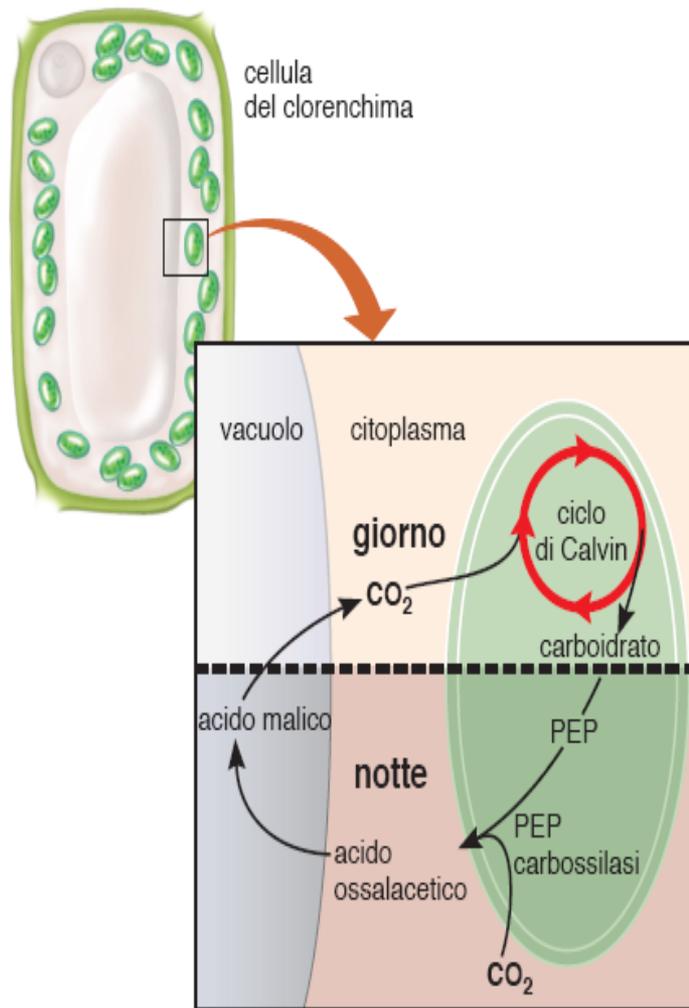
In altre piante, il metabolismo cambia a seconda della differenti condizioni ambientali.

Le piante CAM

Il metabolismo CAM è stato identificato in più di 1000 angiosperme di 17 famiglie

E' solitamente accompagnato dalla succulenza, sebbene non tutte le Crassulacee hanno un metabolismo CAM e la succulenza non sia una condizione sufficiente per il metabolismo CAM

- le piante CAM vivono in ambienti ad elevata aridità e, al contrario delle altre piante, aprono i loro stomi solo durante la notte**
- le piante CAM hanno quindi un ciclo C4 non separato nello spazio, ma nel tempo**



Come le C₄ ma:

- la prima fissazione dell'anidride carbonica avviene di notte a stomi aperti. Come le piante C₄, usano la PEP carbossilasi per fissare CO₂, formando OAA. OAA è poi convertito in malato, che è conservato nei vacuoli
- durante il giorno, quando gli stomi sono chiusi, CO₂ è rimossa dal malato ed entra nel ciclo di Calvin
- tutto avviene nella stessa cellula

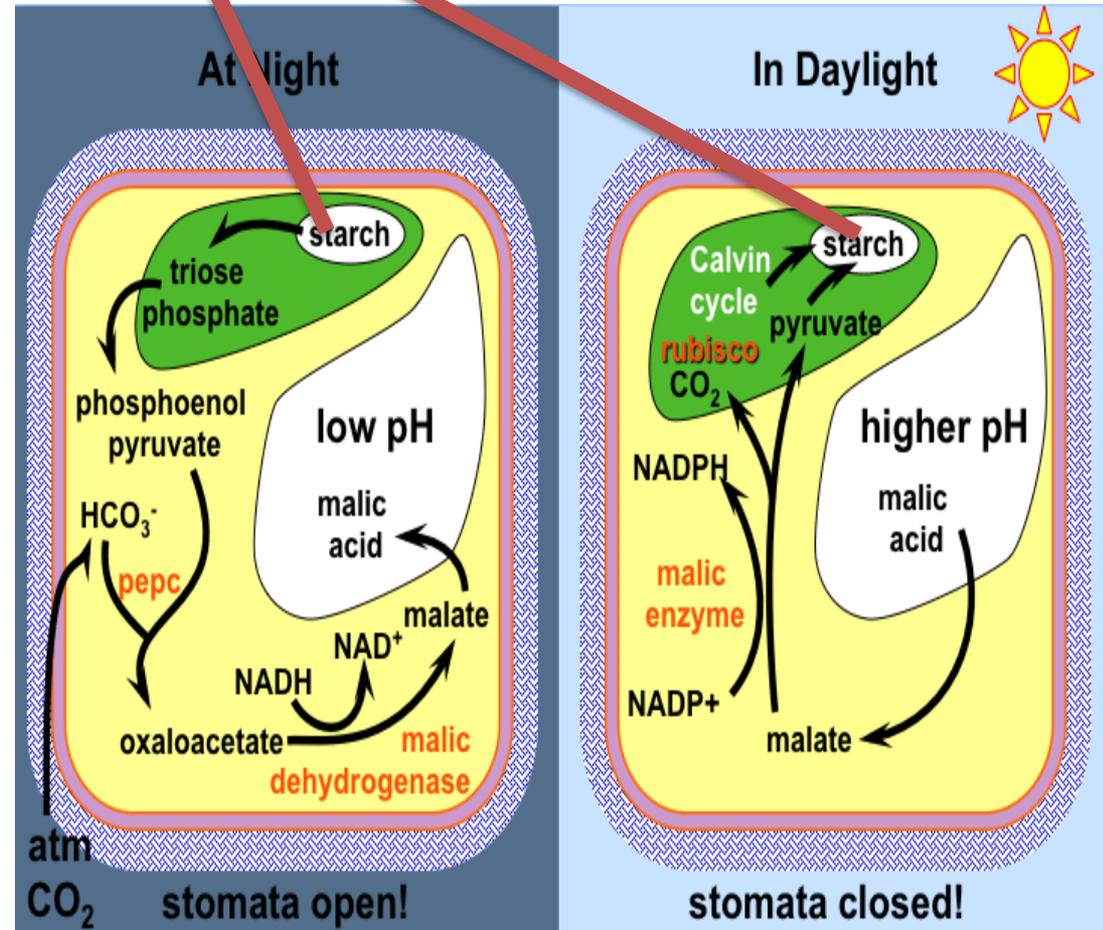
Figura 10.13 Fotosintesi CAM presente nelle orchidee, ananas e molte piante del deserto come cactus. La fotosintesi CAM è simile a quella C₄, tuttavia le piante hanno i loro stomi chiusi durante il calore diurno, conservando quindi acqua. Gli acidi organici si accumulano durante la notte e vengono scissi durante il giorno permettendo il rilascio della anidride carbonica che entra così nel ciclo di Calvin e quindi nel metabolismo delle piante C₃ quando gli stomi sono chiusi.

Pedala pedala ma per andare dove?

Ciò che viene guadagnato di giorno è speso nuovamente la notte!

Tradeoff!

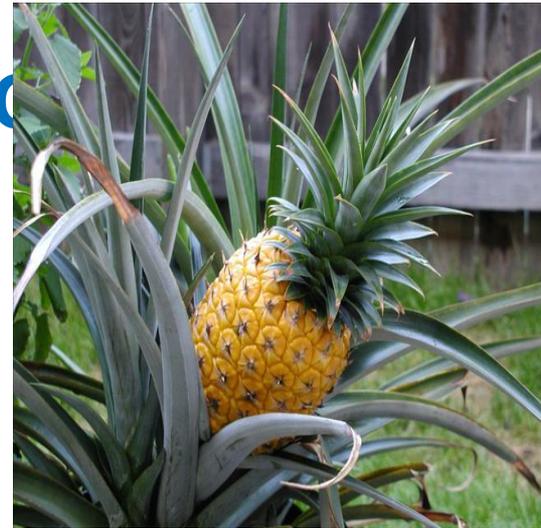
- Le piante CAM hanno un metabolismo fotosintetico altamente inefficiente
- Amido accumulato durante il giorno viene utilizzato di notte per produrre il fosfoenol-piruvato
- Sono tra le piante con accrescimento più lento ma capaci di sopravvivere in condizioni estreme



Alcuni esempi di piante C



Orchidee



Ananas



Cactus

Molte piante con metabolismo che cambia da C3 a CAM a seconda delle condizioni ambientali



Agave angustifolia



*Kalanchoe
blossfeldiana*



*Mesembryanthemum
crystallinum*

La dicotiledone succulenta *Portulaca oleracea* (C4) è capace di scegliere la migliore via biosintetica a seconda delle condizioni ambientali. In condizioni di fo
via



Eccezione!

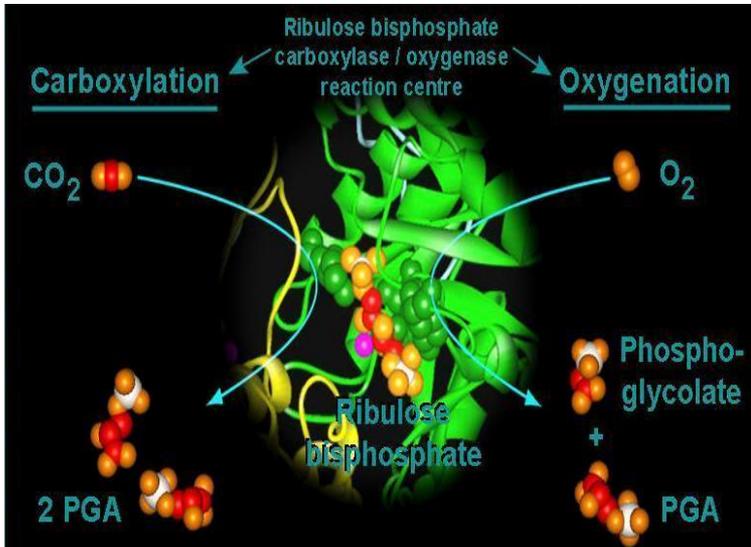
	C₃	C₄	CAM
Anatomia fogliare	Cellule della guaina del fascio senza cloroplasti	Cellule della guaina del fascio con cloroplasti; scarsa distinzione fra i differenti parenchimi	Grandi vacuoli
Enzimi di carbossilazione	Rubisco	PEP e poi Rubisco	PEP: la notte Rubisco: il giorno
Grammi di acqua richiesti per produrre 1 g di sostanza secca	400-500	250-300	50-100
Fotorespirazione	si	Solo in cellule isolate della guaina del fascio	no
Temperatura ottimale per la fotosintesi	15-25 °C	30-47 °C	> 35 °C
Tonnellate di materia secca x ettaro x	20-25	35-40	Generalmente bassa e variabile

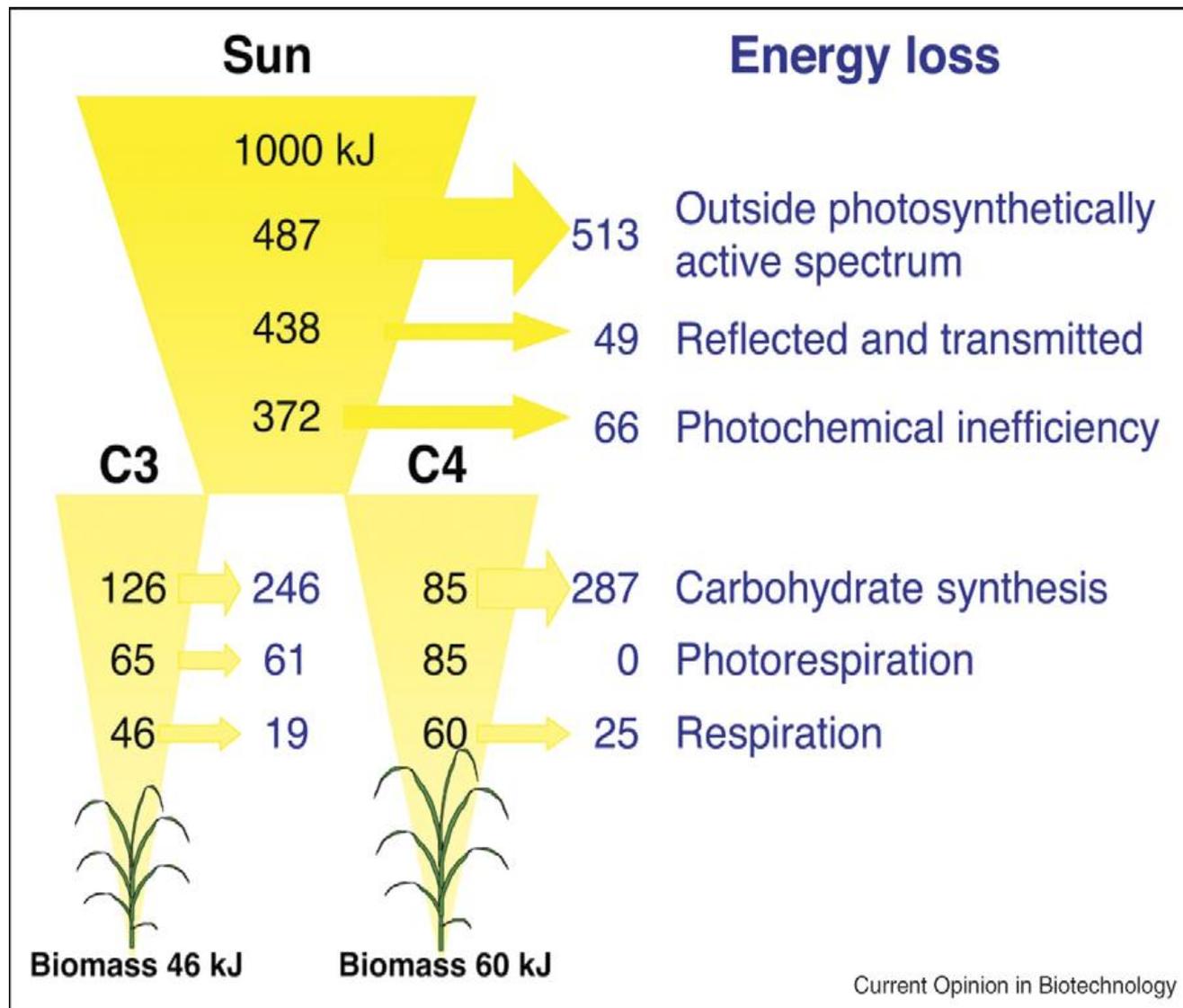


Incremento della CO_2 e fotosintesi

Più ricerca su:

- sicurezza alimentare
- * agricoltura sostenibile
- * biofortificazione





Perdite energetiche minime calcolate per 1000 kJ di radiazione solare incidente

Temperatura della foglia: 30 °C; [CO₂] atmosferica: 380 ppm. L'efficienza teorica massima di conversione dell'energia fotosintetica è 4.6% per le C₃ e 6% per le

La [CO₂] atmosferica incrementa!

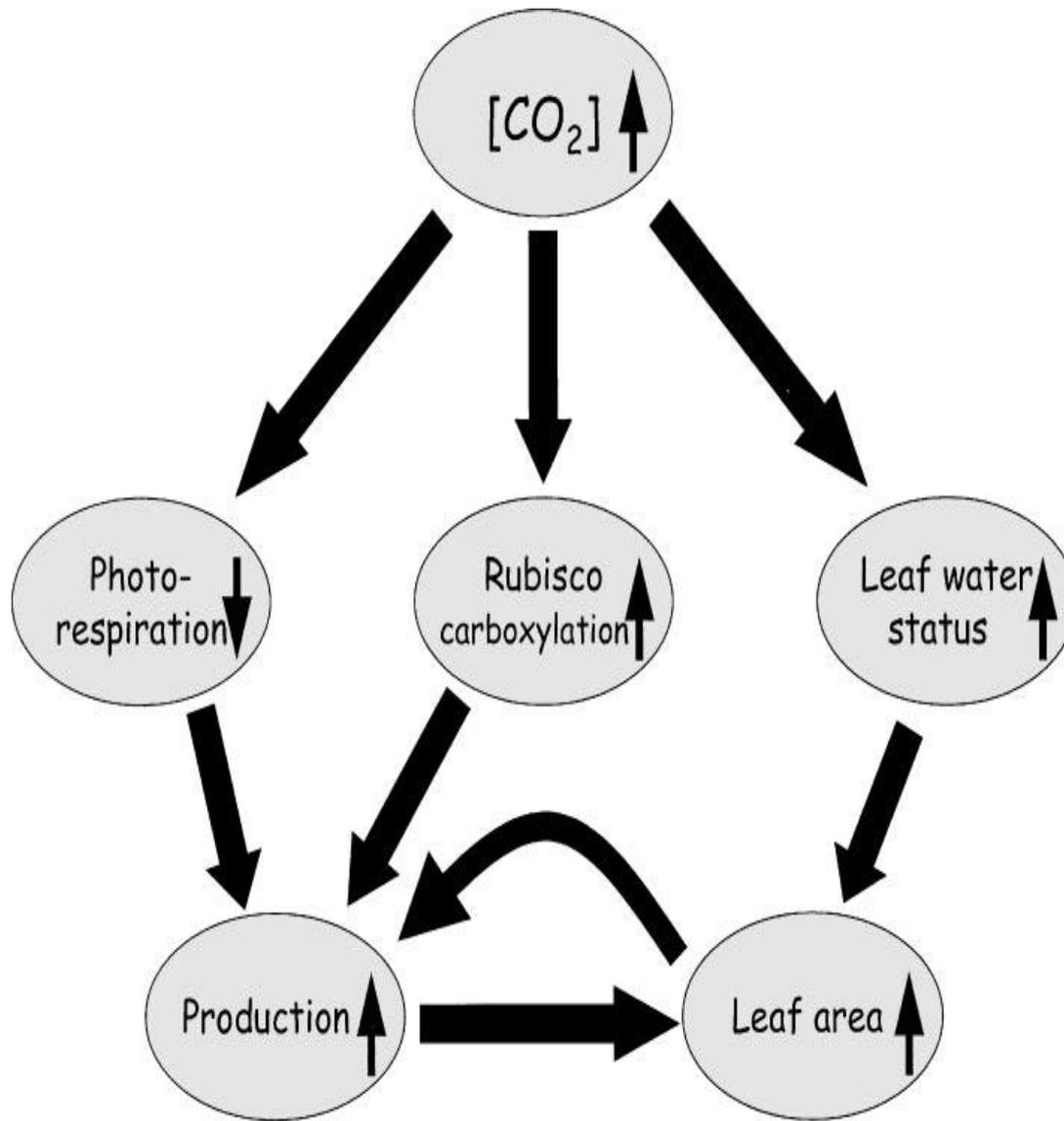
1800
μmol mol⁻¹

280

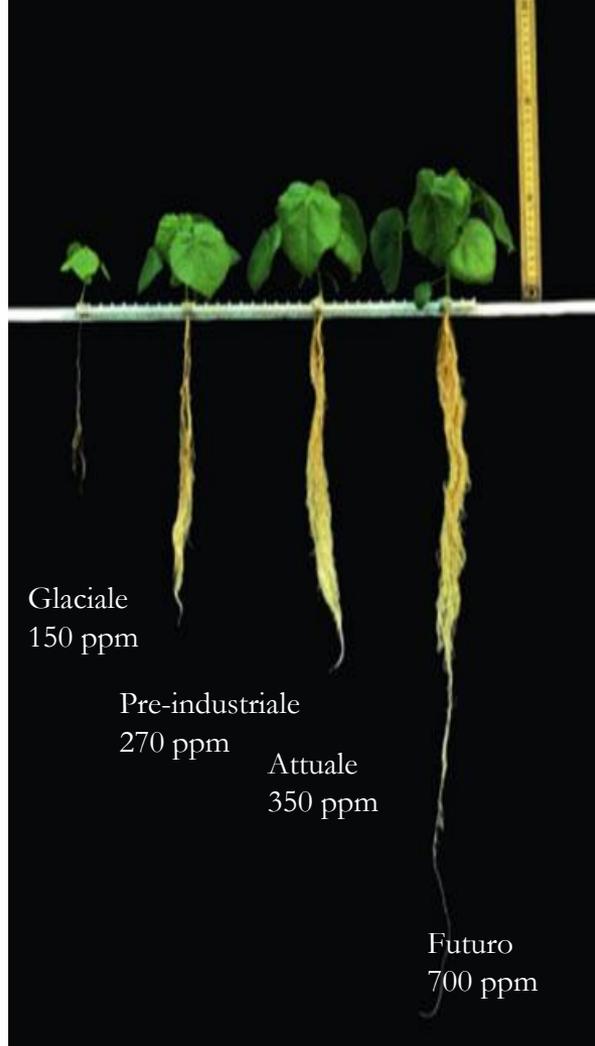
Oggi
μmol mol⁻¹

395

Stima fine secolo (IPCC, 2007)
530-970 μmol mol⁻¹



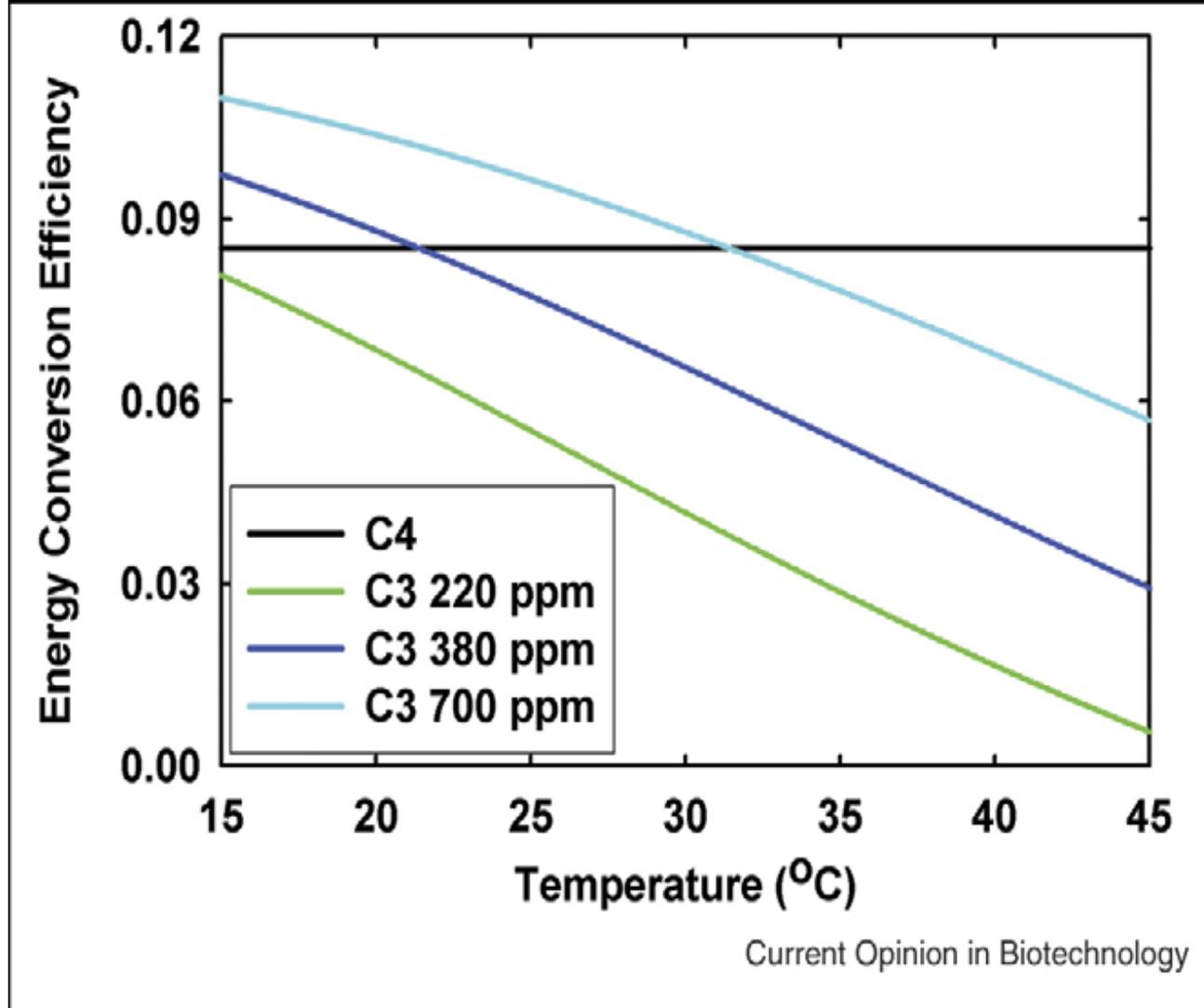
Effetto schematico dei cambimaneti che inizialmente si verificano sulla produzione delle C3 in seguito all'incremento della [CO₂] (Long et al., 2005)



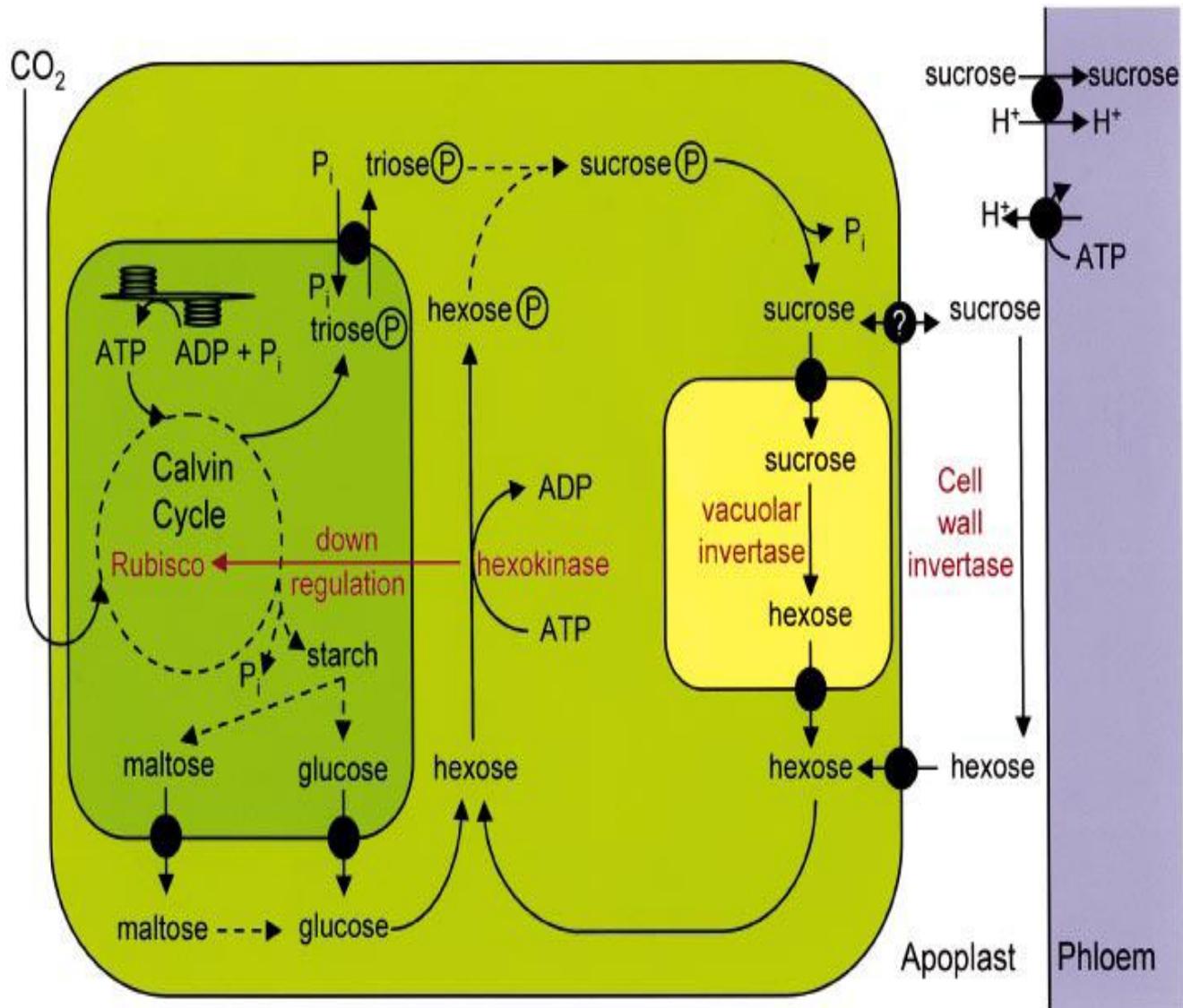
Piante di *Abutilon theophrasti* (C3) cresciute a concentrazioni diverse di [CO₂] (**Dippery et al., 1995**)



Piante di *Gmelina arborea* di 5 mesi cresciute in open top chambers in condizioni di [CO₂] ambientale e arricchita (**Reddy et al., 2010**)



Effetti della temperatura e della $[CO_2]$ sull'efficienza di conversione energetica della fotosintesi C3 e C4 in riferimento a condizioni atmosferiche passate, attuali e future (Zhu et al., 2008). 220 ppm: 25 M anni; 380 ppm: oggi; 700 ppm: 2100. $[O_2]$, in tutti i casi, è 21%.



Meccanismo alla base della perdita di capacità fotosintetica quando il saccarosio si accumula nel mesofillo (Long et. al., 2005)

Towards turbocharged photosynthesis

The development of tobacco plants that are genetically engineered to produce a more efficient form of Rubisco, an enzyme involved in photosynthesis, marks a step towards increasing crop yields. [SEE LETTER P.547](#)

G. DEAN PRICE & SUSAN M. HOWITT

As the world's population increases, the spectre of severe food shortages is growing, with the United Nations predicting that food production will need to double by 2050. It has been proposed that cyanobacteria — which obtain their energy from a highly efficient form of photosynthesis — might hold the key to increasing the yield of our most important crops and vegetables. On page 547 of this issue, Lin *et al.*² report a major step towards realizing this possibility, finding that cyanobacteria can be used to improve photosynthesis in the leaves of crops.

Photosynthesis harnesses sunlight to convert carbon dioxide into simple sugars. Rubisco, the key enzyme for CO₂ fixation into sugar, is inefficient because it cannot easily discriminate between oxygen and CO₂ and

so wastes energy by fixing O₂. The enzyme evolved at a time when O₂ levels in the atmosphere were much lower than they are today, and there was therefore little evolutionary pressure to select for an ability to discriminate between the two molecules. Photosynthetic organisms have evolved to circumvent the problem of rising atmospheric O₂ levels in two ways: first, by making more of a slower-acting version of Rubisco with an improved ability to discriminate; or second, by using various 'add-ons', called CO₂-concentrating mechanisms (CCMs), to elevate CO₂ levels in the vicinity of the enzyme.

Most crops have adopted the first strategy, making Rubisco possibly the most abundant enzyme on Earth. This approach, however, results in a 30% reduction in photosynthetic efficiency through the associated O₂ fixation. That can be partly ameliorated



50 Years Ago

The capacity exhibited by all organisms to develop tolerance for new environmental conditions has been an important factor in the continuing existence of life on Earth. It has also had adverse effects on some creatures. To man, one of the most disturbing of these effects is being manifested through the resistance certain microbes develop for the 'wonder' drugs he uses to counteract microbial diseases. The peculiar capacity of pathogenic micro-organisms to develop strains which are resistant to drugs which on initial application are lethal to most individuals — and eventually to thrive on those drugs — did not come into clear focus until Paul Ehrlich *et al.* made their famous chemotherapeutic researches during the first decade of this century.

From *Nature* 26 September 1964

100 Years Ago

Nature 25
Settembre 2014

La rubisco trovata in alcune alghe e in alcuni cianobatteri è più efficiente nel discriminare tra CO_2 ed O_2 della rubisco presente nelle piante (Science, 1999)



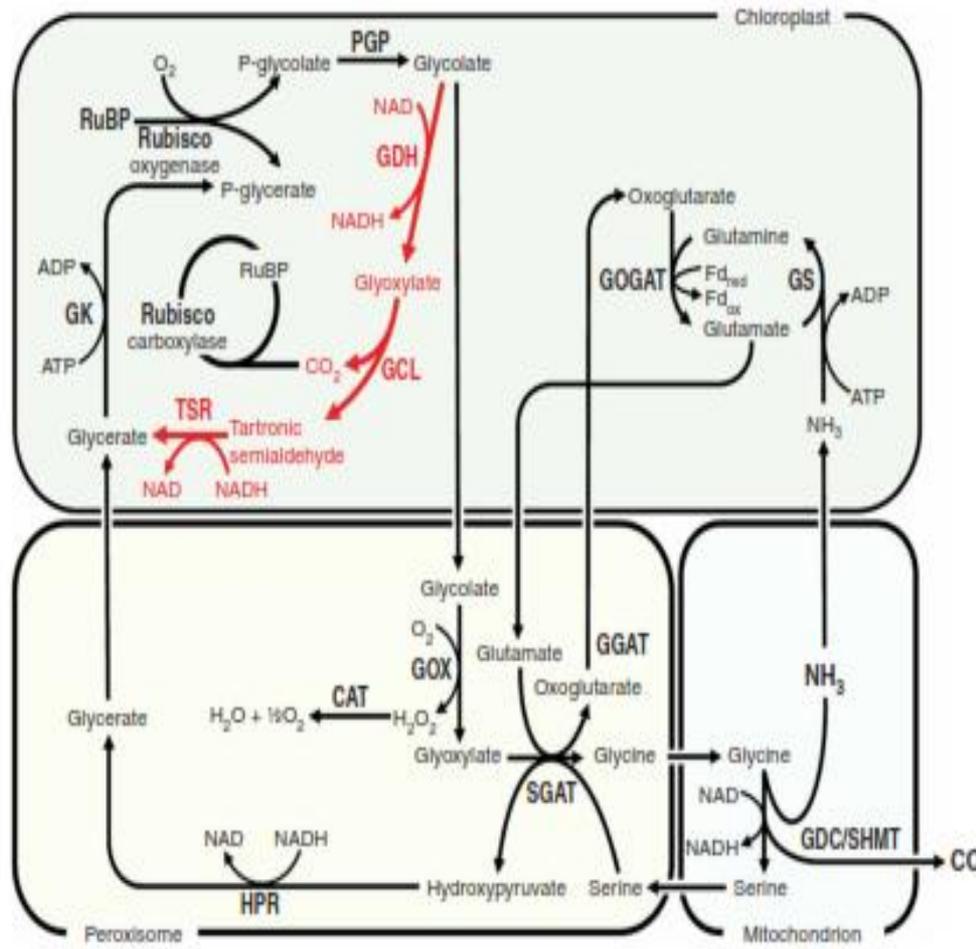
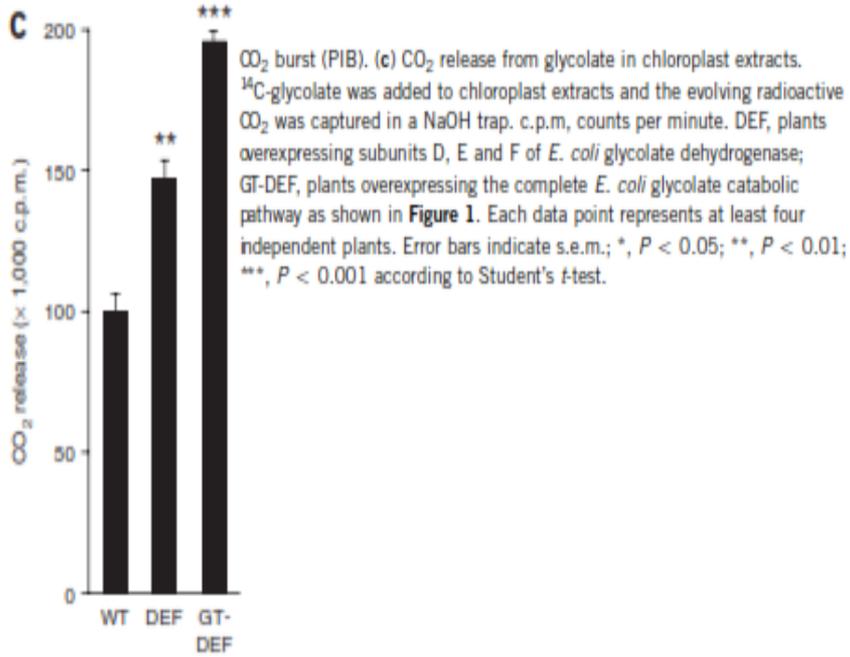
trasferire questo enzima nelle piante in maniera da assicurare un più basso livello fotorespiratorio

Tradeoff: «più una reazione diviene specifica e discriminante, più essa avviene con lentezza» (Murray Badger)

- Non è solo una questione di trasferire uno o due enzimi! Sono necessari anche nuovi compartimenti entro la foglia dove concentrare la CO₂ ed anche evolvere un modo di pomparvi la CO₂ senza farla al contempo riuscire
 - piante con più bassa fotorespirazione in grado di assicurare una efficienza fotosintetica maggiore del 40% (Zelitch, 1975). Dopo 40 anni stiamo ancora aspettando
 - «la rubisco può essere vantaggiosamente modificata in vitro e reintrodotta nelle piante» (Sommerville e Ogren, 1982). Ancora stiamo aspettando
 - «trasferendo alcuni geni dal mais al riso abbiamo ottenuto una più alta efficienza fotosintetica ed una produzione del 35% più alta» (Ku et al., 2000). Risultati non confermati da successivi studi: più alto è il livello di espressione di questi geni esogeni, più bassa è la produzione fotosintetica (Matsuoka, 2000, Long et al., 2006)
- La selezione ha operato per milioni di anni, testando all'istante milioni di miliardi di piante**

Ma una vera operazione di ingegneria genetica che coinvolga il processo fotosintetico è possibile?

Kebash et al. 2007



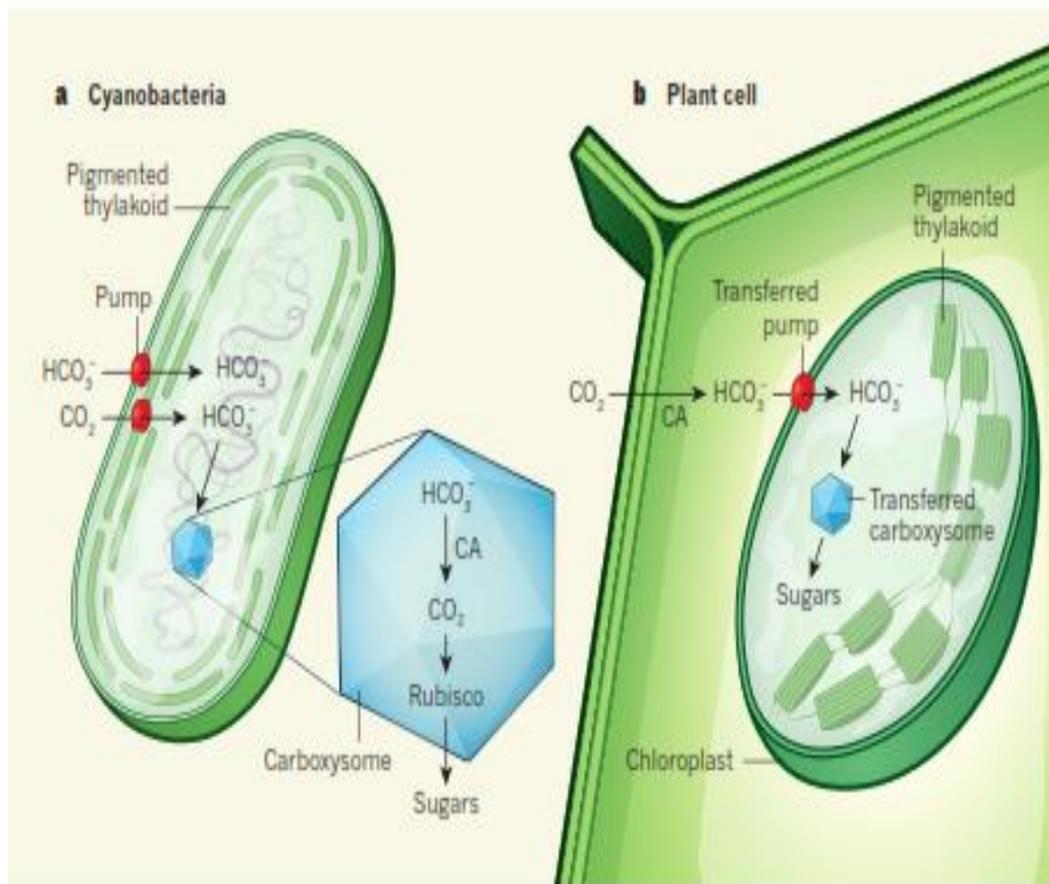


Figure 1 | A proposed method for improving photosynthesis in crops. **a**, In cyanobacteria, a carbon dioxide-concentrating mechanism (CCM) ensures that photosynthesis is effective (the energy for photosynthesis is provided through light harvesting by structures called pigmented thylakoids). The CCM includes pumps that take up CO_2 and bicarbonate (HCO_3^-) molecules; the CO_2 pump also converts CO_2 to HCO_3^- , which then enters microstructures called carboxysomes. Here, HCO_3^- is converted to CO_2 by the enzyme carbonic anhydrase (CA), elevating CO_2 concentrations around the Rubisco enzyme to increase the efficiency with which it converts CO_2 into sugars. **b**, Transfer of cyanobacterial carboxysomes or CCM pumps into plant cells has been posited as a way to improve crop yields. Lin *et al.*² took us a step closer to achieving this aim by replacing Rubisco in the chloroplasts of tobacco plants with a more efficient, cyanobacterial form of the enzyme. In the plant-cell cytoplasm, CA can also convert CO_2 to HCO_3^- .