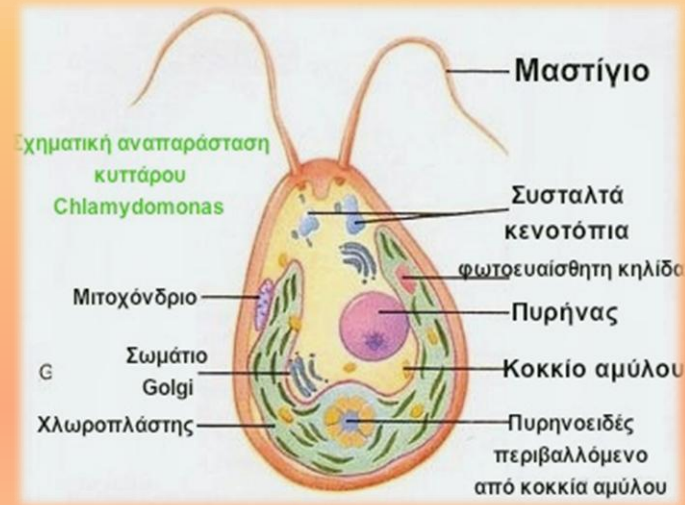
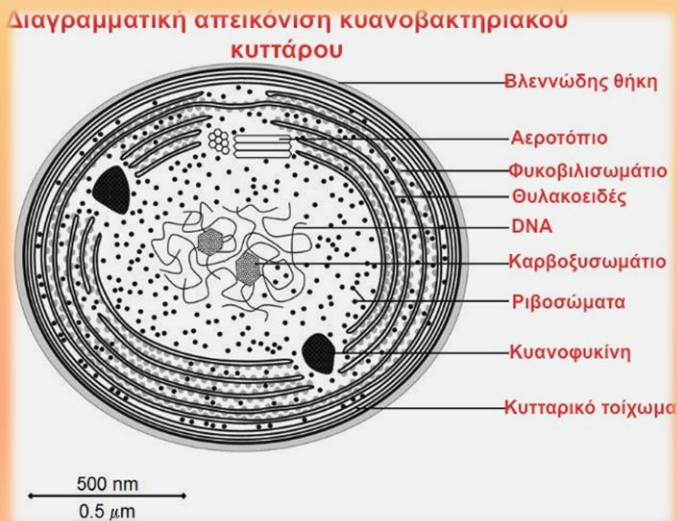


# Μηχανισμοί συγκέντρωσης CO<sub>2</sub> στα φύκη

[Carbon Concentrating Mechanisms (CCM)] in Algae



Γεώργιος Ν. Χώτος

Καθηγητής

Εργαστήριο Καλλιέργειας Πλαγκτού

Τ.Ε.Ι. Δυτικής Ελλάδας

# Η ανάγκη για πολύ CO<sub>2</sub>

1. Η βάση της ζωής είναι η φωτοσύνθεση με την οποία δεσμεύεται η ηλιακή ενέργεια και τροφοδοτεί τον βιοχημικό μηχανισμό κατά τον οποίο παράγονται υδατάνθρακες. Χωρίς εξωγενή ενέργεια (του ηλίου ή τεχνητό φωτισμό) δεν παράγονται υδατάνθρακες στα φωτοσυνθετικά κύτταρα. Κατόπιν από τους υδατάνθρακες παράγονται όλα τα υπόλοιπα μακρομόρια της ζωής (πρωτεΐνες, λίπη, κ.λπ.) και συνάμα παράγεται ενέργεια (ως ATP) από αυτή που είχε αποθηκευθεί στους υδατάνθρακες.
2. Ο βιοχημικός μηχανισμός παραγωγής υδατανθράκων (κοινώς σάκχαρα ή πιο απλά γλυκόζη) στις **φωτοσυνθετικές μεμβράνες** (θυλακοειδή) είναι ο λεγόμενος «**κύκλος του Calvin**» και το πλέον βασικό του στάδιο και συνάμα η αρχή του είναι η **δέσμευση (καθήλωση) του CO<sub>2</sub>** σε μια ένωση που ονομάζεται **διφωσφορική ριβουλόζη (RuBP)** με καταλύτη το **ένζυμο οξειδάση/καρβοξυλάση της RuBP (Rubisco)** για να προκύψει φωσφογλυκερικό οξύ (PGA) το οποίο κατόπιν αναγόμενο μέσω και των επόμενων ενώσεων στο τέλος να καταλήξει σε γλυκόζη.
3. Μπορεί να ακούγεται απλουστευμένο αλλά το να υπάρχει αρκετό CO<sub>2</sub> για ξεκινήσει η παραγωγή σακχάρων και μάλιστα να διατηρεί ένα έντονο ρυθμό παραγωγής δεν είναι κάτι το δεδομένο. Το CO<sub>2</sub> στην ατμόσφαιρα αποτελεί μόλις το 0,035 % αυτής (το οξυγόνο 20,9 %) και στο νερό πολύ λιγότερο. Αρα τόσο τα φυτά αλλά πολύ περισσότερο τα φύκη δεν έχουν την πολυτέλεια να στερούνται του CO<sub>2</sub>.
4. Βάσει των παραπάνω υπεραπλουτευσμένων (ως προς την εισαγωγή στο θέμα μας) δεδομένων, τα φύκη έχουν αναπτύξει ποικίλους βιοχημικούς μηχανισμούς και στρατηγικές για να συγκεντρώνουν πολύ CO<sub>2</sub> κοντά στις φωτοσυνθετικές τους δομές.

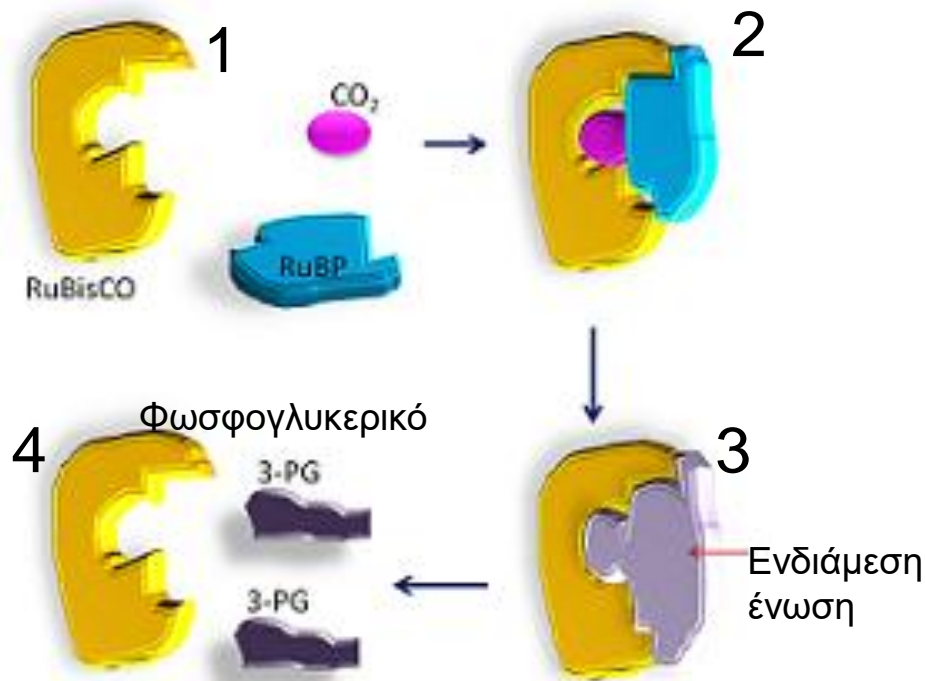
# Γιατί ορισμένα φύκη χρειάζονται μηχανισμούς συγκέντρωσης $\text{CO}_2$ ;

1. Τα φύκη υπολογίζεται ότι παράγουν πλέον του 50% των φωτοσυνθετικώς παραγομένων σακχάρων και οξυγόνου στη Γη. Όμως για να το κατορθώσουν πρέπει να μπορούν να ξεπεράσουν ορισμένες δυσκολίες όσον αφορά την πρόσληψη ικανοποιητικών ποσοτήτων  $\text{CO}_2$ . Συγκεκριμένα:
2. Η  $*K_m_{(\text{CO}_2)}$  για το ένζυμο Rubisco στα  $\text{C}_3$  φύκη (και φυτά) και στα κυανοβακτήρια είναι 20  $\mu\text{M}$  και 200  $\mu\text{M}$  αντιστοίχως.
3. Η συγκέντρωση του ανόργανου άνθρακα στο νερό (ως  $\text{CO}_2$  ή ως το παράγωγό του  $\text{HCO}_3^-$ ), είναι πολύ μικρότερη συγκριτικά με τον αέρα επειδή παρεμβάλλεται η διαδικασία της διάχυσης του  $\text{CO}_2$  από τον αέρα στο νερό. Πάντως η πλειονότητα της ποσότητας του διαλυμένου ανόργανου άνθρακα ( $\text{C}_i$ ) βρίσκεται υπό μορφή διττανθρακικών ιόντων ( $\text{HCO}_3^-$ ).
4. Στα φύκη ειδικά, το Rubisco δεν επιτελεί δέσμευση του  $\text{CO}_2$  παρά μόνο σε επίπεδο περί το 30% της δυνατότητάς του.

\*  $K_m$  σημαίνει εκείνη την ποσότητα υποστρώματος (στην προκειμένη περίπτωση  $\text{CO}_2$ ) που επιτρέπει στο ένζυμο (στην προκ. περίπτ. Rubisco) να λειτουργήσει στο ήμισυ της ανώτατης ταχύτητάς του ( $V_{max}$ ). Ένα ένζυμο με υψηλή  $K_m$  σημαίνει χαμηλή έλξη για το υπόστρωμά του ενώ ένζυμο με χαμηλή  $K_m$  σημαίνει υψηλή έλξη.

1. Πρώτα απ' όλα πρέπει να κατανοηθεί ότι χωρίς επαρκές CO<sub>2</sub> εκεί που πρέπει (δηλαδή στις φωτοσυνθετικές δομές, θυλακοειδή στα κυανοβακτήρια, χλωροπλάστες στα ευκαρυοφύκη) και όταν πρέπει (ημέρα), δεν λειτουργεί ο κύκλος του Κάλβιν (που παράγει σάκχαρο) διότι το **ένζυμο Rubisco** απλά δεν έχει CO<sub>2</sub> για να το **δεσμεύσει**.
2. Η κατάσταση δυσκολεύει ακόμα περισσότερο επειδή το Rubisco δεν ειδικεύεται μόνο στη δέσμευση του CO<sub>2</sub> αλλά και στη δέσμευση του O<sub>2</sub> όσο παράδοξο και αν φαίνεται αυτό. Συνεπώς θα πρέπει να υπάρχει μεγάλη ποσότητα CO<sub>2</sub> κοντά στο Rubisco για να ξεπερνά την **ανταγωνιστική δράση του O<sub>2</sub>**.
3. Λαμβανομένης υπόψη της λιγότερης (περίπου 100 φορές), σε σχέση με τον αέρα, διαλυμένης ποσότητας CO<sub>2</sub> στο νερό, τα φύκη έχουν αναπτύξει μηχανισμούς για να εισάγουν, μετατρέπουν και τελικά συγκεντρώνουν μέσα στο κύτταρό τους πολύ περισσότερο CO<sub>2</sub> απ' ότι διαθέτει το περιβάλλον νερό.
4. Ακόμα και η **ενασβέστωση** που παρουσιάζουν κάποια φύκη αποτελεί μηχανισμό συγκέντρωσης ανόργανου άνθρακα.
5. Και ομιλούμε για **ανόργανο άνθρακα** διότι **μόνο αυτός** χρησιμοποιείται στη φωτοσύνθεση **ως CO<sub>2</sub> και μόνο ως CO<sub>2</sub>** (προερχόμενο και από μετατροπή των HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>).

# Για να λύσουν αυτό το πρόβλημα τα φύκη διαθέτουν μηχανισμούς συγκέντρωσης CO<sub>2</sub>



❖ Τα μικροφύκη (όπως τα C<sub>4</sub> και CAM φυτά) έχουν αναπτύξει τρόπους για να συγκεντρώνουν το CO<sub>2</sub> στην περιοχή του ενζύμου Rubisco.

❖ Οι μηχανισμοί συγκέντρωσης CO<sub>2</sub> (Carbon Concentrating Mechanism - CCM) αποτελούν μια βιολογική προσαρμογή σε χαμηλά επίπεδα CO<sub>2</sub>.

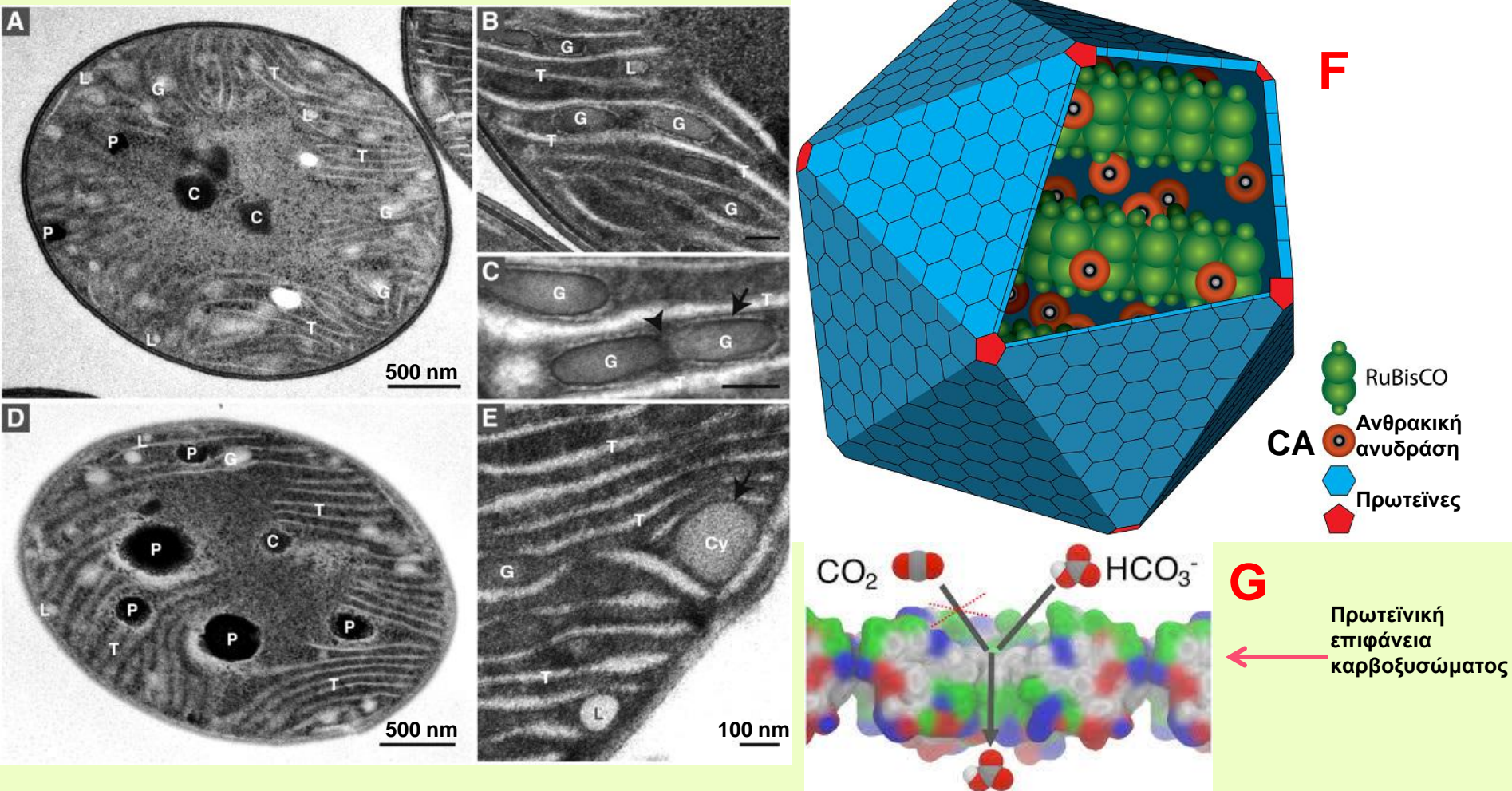
❖ Μερικά φύκη μπορούν να συγκεντρώσουν CO<sub>2</sub> μέσα στο κύτταρό τους σε 100πλάσια συγκέντρωση απ' ότι το επίπεδο του CO<sub>2</sub> στο περιβάλλον.

Όπως και αν συγκεντρώνουν ανόργανο άνθρακα στο κύτταρό τους τα φύκη, τελικά η κρίσιμότερη φάση είναι η κατάλυση της ενσωμάτωσης του CO<sub>2</sub> από το ένζυμο **καρβοξυλάση/οξειδάση της διφωσφορικής ριβουλόξης (RuBisCo)**. Η στερεοδομή του Rubisco επιτρέπει την κατάλληλη τοποθέτηση (1) των μορίων CO<sub>2</sub> και RuBP για να αντιδράσουν (2) και με τη δημιουργία ενδιάμεσης ένωσης (3) να προκύψουν (4) τα μόρια του φωσφογλυκερικού (3-PG ή PGA) για τη συνέχεια του κύκλου του Calvin.

# Η συγκέντρωση του Rubisco

- Στην πλειονότητα των μικροφυκών το Rubisco βρίσκεται συγκεντρωμένο σε ειδικές κυτταρικές δομές, **καρβοξύσωμα** (στα κυανοβακτήρια), **πυρηνοειδές** (μέσα στους χλωροπλάστες ορισμένων ευκαρυοφυκών). Οι δομές αυτές δεν περιβάλλονται από μεμβράνη.
- Το **καρβοξύσωμα** αποτελεί μια ιδιαίτερη δομή του κυανοβακτηριακού κυτταροπλάσματος περιβαλλόμενη από **πρωτεϊνικό περίβλημα**. Το **πυρηνοειδές** βρίσκεται μέσα στο χλωροπλάστη και περιβάλλεται από **υδατανθρακικά πολυμερή**.
- Η πρωτεΐνη-ένζυμο Rubisco θεωρείται η αφθονότερη πρωτεΐνη στη Γη (και η κυτταρίνη ο αφθονότερος υδατάνθρακας). Υπολογίζεται ότι ετησίως το Rubisco δεσμεύει περισσότερο από 200 δισεκατομμύρια τόνους CO<sub>2</sub>.

# Η θέση και η δομή των καρβοξυσωμάτων στο κυανοβακτηριακό κύτταρο <sup>7</sup>



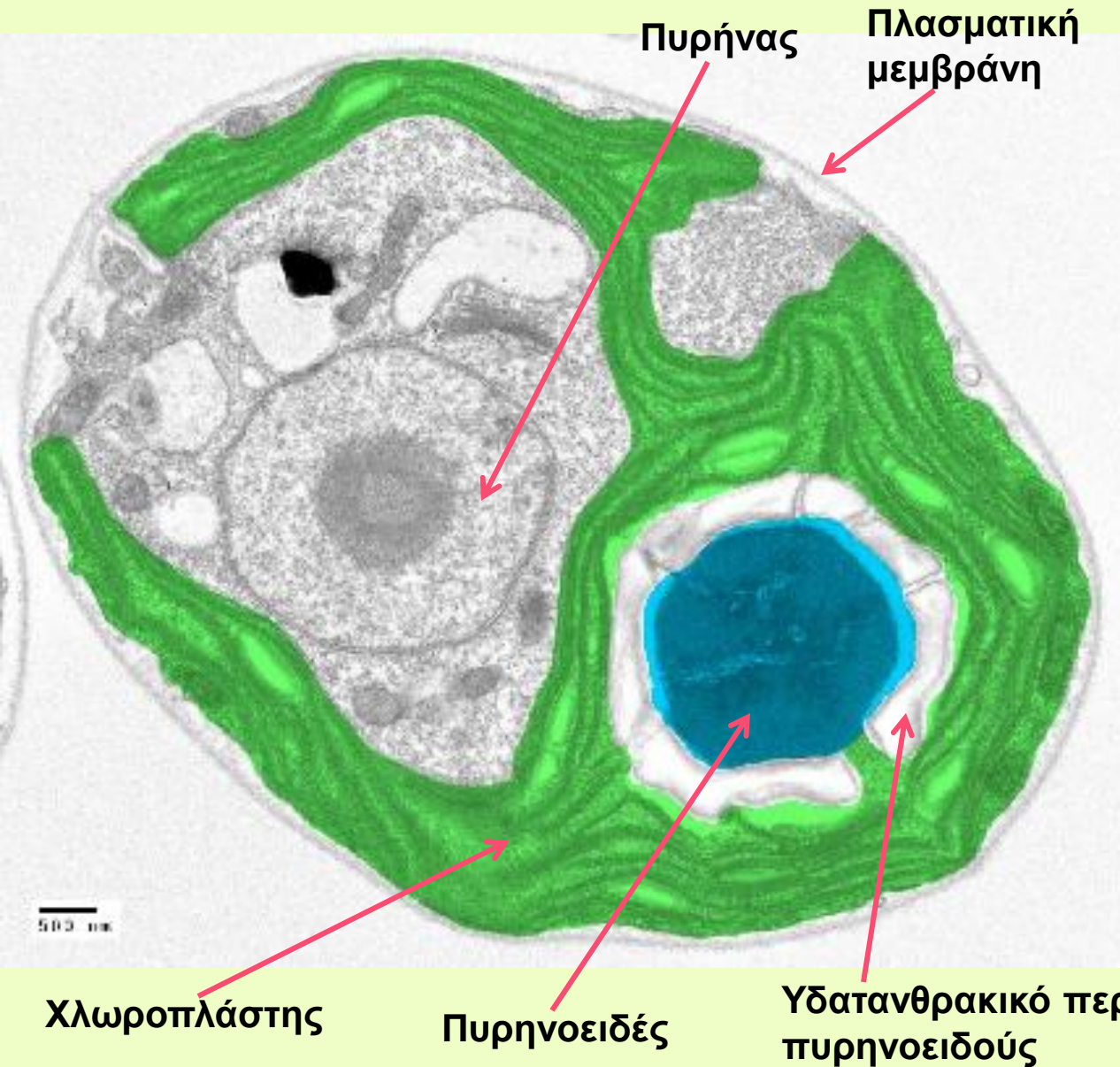
**A-B-C-D-E:** Ηλεκτρονιομικρογραφία καρβοξυσωμάτων και άλλων οργανομορφωμάτων του κυανοβακτηρίου *Cyanothece*.

**C:** καρβοξυσώματα, **T:** Θυλακοειδείς μεμβράνες, **L:** Λιπιδικά σωμάτια, **G:** Κοκκία γλυκογόνου, **Cy:** Κοκκία κυανοφυκίνης, **P:** Πολυφωσφορικά σωμάτια, (από: Liberton, Austin, Berg & Pakrasi-2011).

**F:** Η πολυεδρική δομή του καρβοξυσώματος σε σχηματική αναπαράσταση.

**G:** Η επιλεκτική διαπερατότητα του πρωτεϊνικού καλύμματος του καρβοξυσώματος ως προς τα CO<sub>2</sub> και HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>.

# Απεικόνιση (με τεχνητό χρωματισμό) πυρηνοειδούς



- Στα ευκαρυωτικά φύκη το Rubisco είναι συσσωρευμένο στο **πυρηνοειδές** που βρίσκεται μέσα στο **χλωροπλάστη**. Κάποια φύκη δεν διαθέτουν πυρηνοειδές.
- Η ποσότητα του Rubisco στο πυρηνοειδές ποικίλλει ανάλογα με την ποσότητα των θρεπτικών, επίσης ανάλογα με την αύξηση του κυττάρου.



1. Τα φύκη έχουν την ικανότητα να ενσωματώνουν αποτελεσματικά το CO<sub>2</sub> ακόμα και σε χαμηλές συγκεντρώσεις CO<sub>2</sub> στο υδάτινο περιβάλλον τους.
2. Από εργαστηριακά πειράματα έχει μετρηθεί άμεσα η πρόσληψη ανόργανου άνθρακα (Ci) και έχει διαπιστωθεί ότι η υψηλότερη ενδοκυτταρική συγκέντρωση του άνθρακα δεν μπορεί να εξηγηθεί μόνο με το μηχανισμό της διάχυσης.
3. Από πειράματα με μεταλλαγμένα στελέχη φυκών. Κάποια τέτοια στελέχη που αναπτύσσονται καλά μόνο σε υψηλά επίπεδα CO<sub>2</sub> δεν έχουν ικανότητα CCM.

# Γενικό μοντέλο μηχανισμού συγκέντρωσης $\text{CO}_2$

10

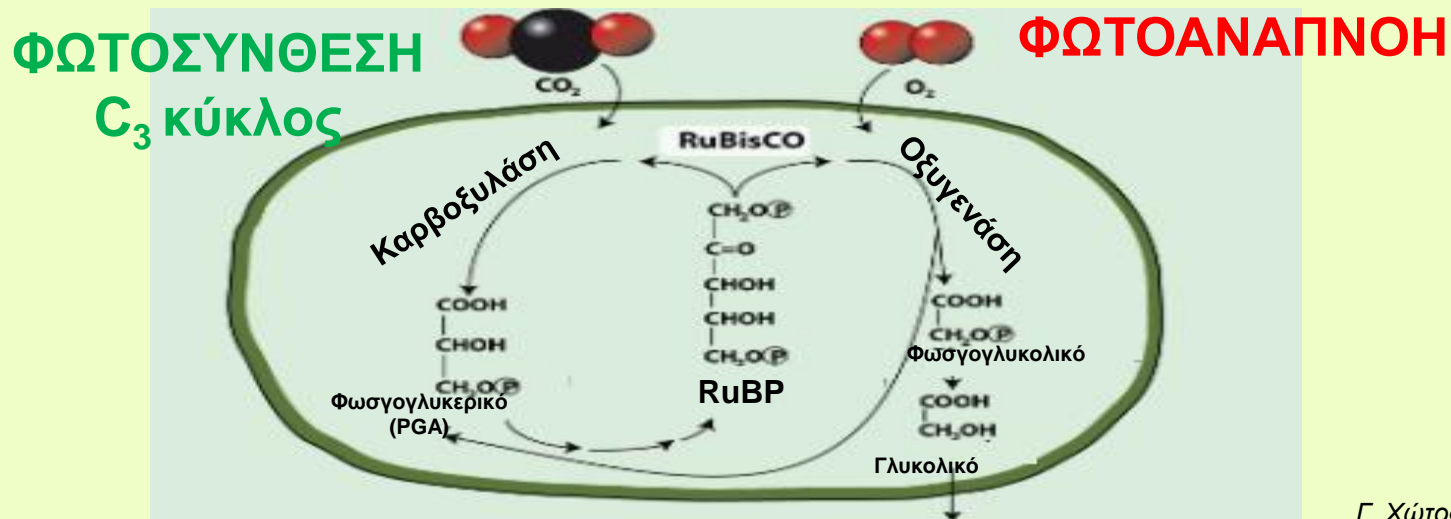
Τα φύκη που διαθέτουν ικανότητα συγκέντρωσης  $\text{CO}_2$  παρουσιάζουν ορισμένα κοινά χαρακτηριστικά που τους επιτρέπουν να χρησιμοποιούν το  $\text{CO}_2$  αποτελεσματικά.

- I. Συγκέντρωση-συμπύκνωση του Rubisco σε ειδικές δομές (καρβοξύσωμα στα κυανοβακτήρια, πυρηνοειδές στους χλωροπλάστες των ευκαρυωφυκών)
- II. Ικανότητα να συσσωρεύουν  $\text{C}_i$  (ανόργανος άνθρακας =  $\text{CO}_2 + \text{HCO}_3^-$ ).
- III. Παρουσία του ενζύμου CA (Carbonic Anhydrase-ανθρακική ανυδράση) πέριξ της περιοχής του Rubisco.

# Το πρόβλημα της φωτοαναπνοής

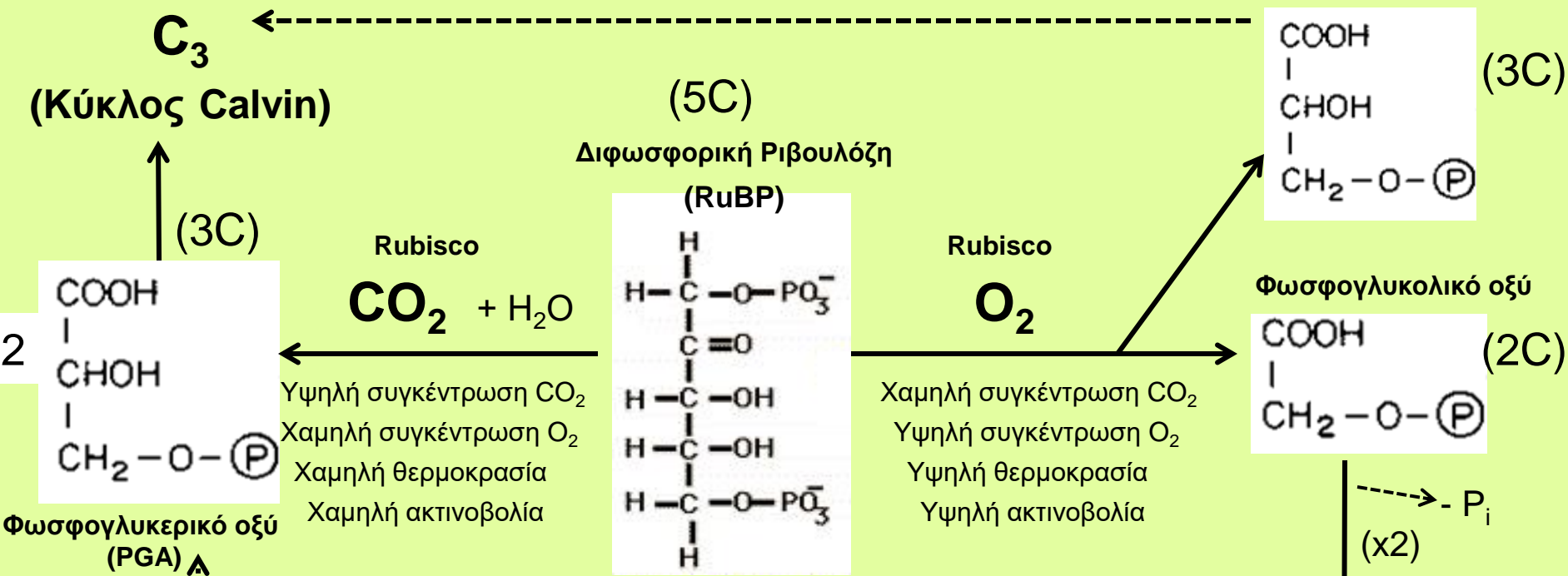
□ Η καθήλωση-ενσωμάτωση του  $\text{CO}_2$  σε οργανικές ενώσεις από το ένζυμο **RuBisCo** είναι η πιο σπουδαία βιολογική διεργασία στη Γη, στηρίζοντας τη βιόσφαιρα διότι αυτή η μετατροπή του ανόργανου άνθρακα σε οργανικό τρέφει όλες της μορφές της ζωής. Ο κύκλος του Calvin (μέρος του οποίου αποτελεί το Rubisco) των φωτοσυνθετικών οργανισμών (φυτά, φύκη, κυανοβακτήρια) αν και εξελίχθηκε μέσω δισεκατομμυρίων ετών, ακόμα παρουσιάζει κάποιες ανεπάρκειες που δεν του επιτρέπουν να δρα απερίσπαστα και αυτό οφείλεται στην ιδιότητα του Rubisco που εκτός του ό,τι είναι αργό, δεν μπορεί να επιδείξει επιλεκτικότητα μεταξύ των μορίων  $\text{CO}_2$  και  $\text{O}_2$  που δεσμεύει (φυσικά το επιθυμητό θα ήταν να δεσμεύει για κατάλυση μόνο το  $\text{CO}_2$ ).

□ Όταν το  $\text{O}_2$ , ως υπόστρωμα καταλαμβάνει τη θέση του  $\text{CO}_2$  στη θέση κατάλυσης του Rubisco, παράγεται το **τοξικό φωσφογλυκολικό οξύ (2PG)** το οποίο πρέπει να ακολουθήσει μια εργοβόρο διαδικασία για να ανακυκλωθεί και να εισέλθει στον κύκλο του Calvin. Η σειρά των αντιδράσεων αυτής της διαδικασίας είναι γνωστή ως **φωτοαναπνοή**. Η φωτοαναπνοή εκτός από χάσιμο ενέργειας απελευθερώνει και  $\text{CO}_2$  κάτι που αντενεργεί τη δράση του Rubisco με αποτέλεσμα μείωση στον πραγματικό ρυθμό ενσωμάτωσης (fixation) του  $\text{CO}_2$  και συνεπώς εμπόδιο στην απρόσκοπτη αύξηση των κυττάρων.

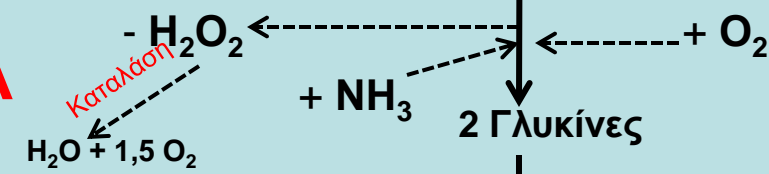


# Η φωτοαναπνοή σχηματικώς

## ΧΛΩΡΟΠΛΑΣΤΗΣ



## ΥΠΕΡΟΞΕΙΣΩΜΑ



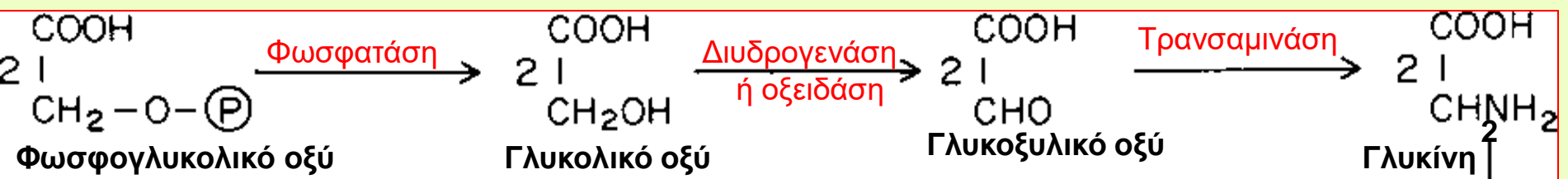
## ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΟ

Σερίνη

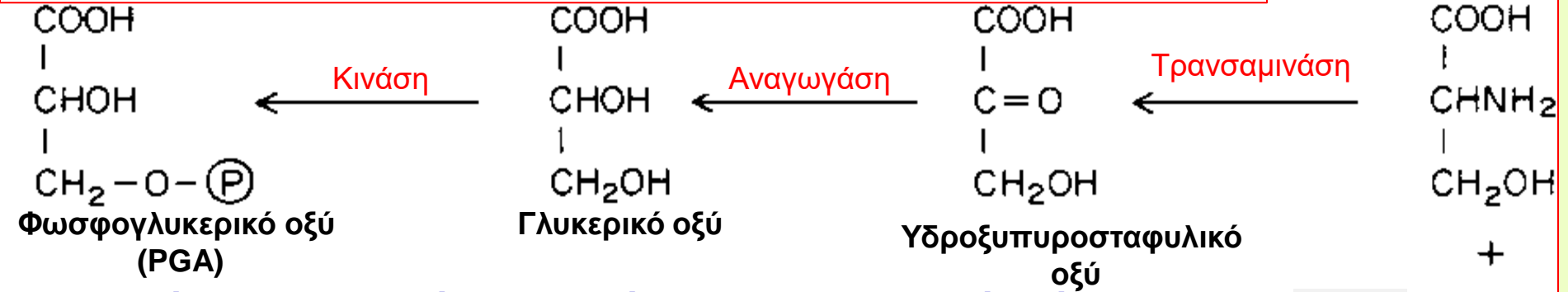
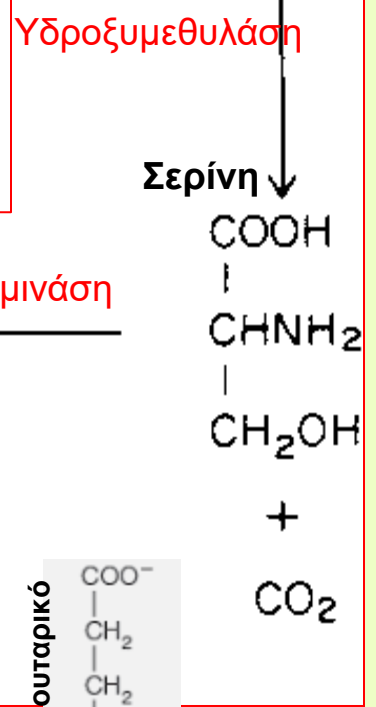
Σερίνη

## Φωτοαναπνοή Διαφυγή CO<sub>2</sub>

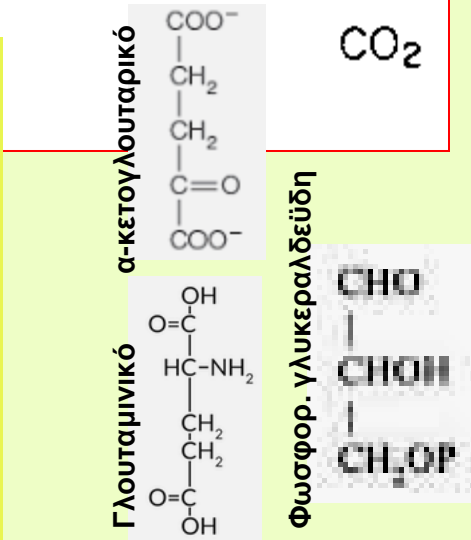
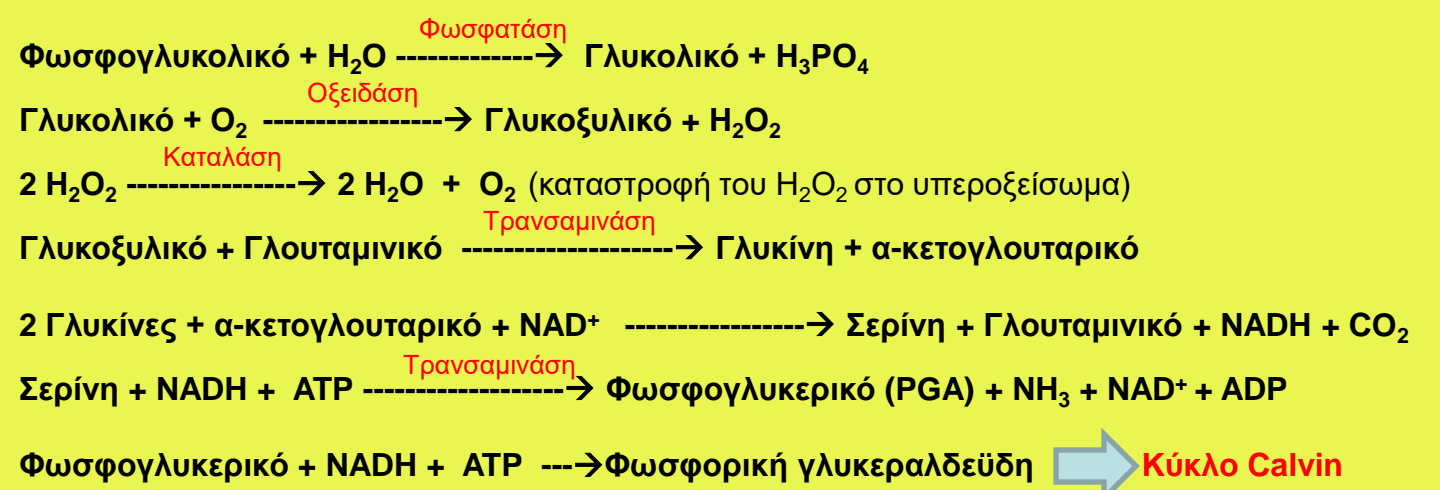
# Οι χημικές διεργασίες της φωτοαναπνοής



Κατά τη **φωτοαναπνοή** τα 2 μόρια **φωσφογλυκολικού** που διαφεύγουν από τον C<sub>3</sub> φωτοσυνθετικό κύκλο (2 x 2 άτομα C συνολικά), λόγω της οξυγόνωσης (αντί για καρβοξυλίωση) της διφωσφορικής ριβουλόζης (RuBP) από το ένζυμο Rubisco, τελικά μετατρέπονται σε 1 μόριο **φωσφογλυκερικού** (3 άτομα C) και ένα μόριο CO<sub>2</sub> που διαφεύγει (απώλεια 25%). Το φωσφογλυκερικό (PGA) επιστρέφει στον κύκλο του Calvin (C<sub>3</sub> κύκλος).



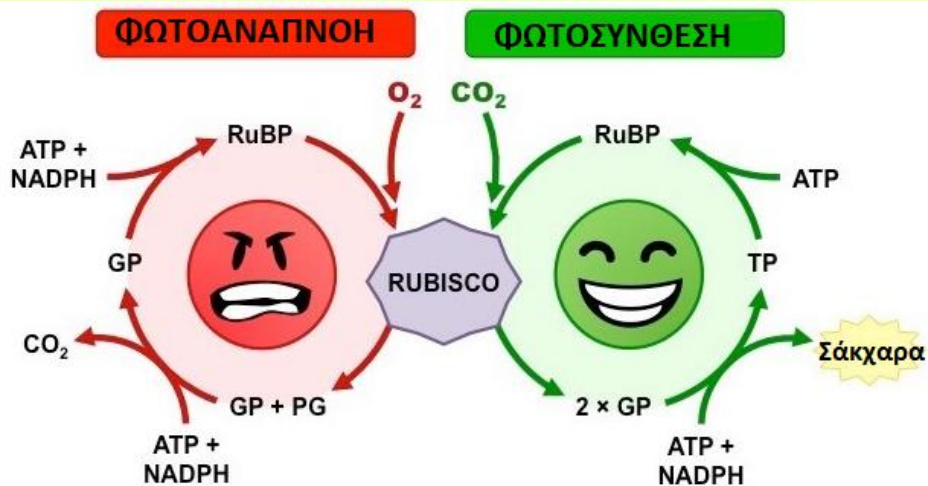
## Αναλυτικότερα οι παραπάνω αντιδράσεις του «γλυκολικού δρόμου»



# Το «βάρος» της φωτοαναπνοής

- ❑ Η **φωτοαναπνοή** αυτό το «ζωντανό απολίθωμα» της εξέλιξης στους φωτοσυνθετικούς οργανισμούς, αποτελεί **χάσιμο ενέργειας** για τη φωτοσύνθεση και δυστυχώς είναι κάτι που δεν μπορεί να αποφευχθεί και έτσι χάνεται 20-50 % του  $\text{CO}_2$  που δεσμεύθηκε.
- ❑ Κατά τις αντιδράσεις του **γλυκολικού δρόμου** της φωτοαναπνοής βλέπουμε ότι κάθε μόριο RuBP καταναλώνει ένα μόριο  $\text{O}_2$  και τελικώς ελευθερώνονται από ένα μόριο  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , και  $\text{NH}_3$ . Δηλαδή απώλεια οργανικού άνθρακα και οργανικώς δεσμευμένου αζώτου (N). Συνεπώς η φωτοαναπνοή καταλήγει σε απώλεια ξηρού βάρους και μείωση της παραγωγικότητας (όλα αυτά συμβαίνουν επειδή το Rubisco δέσμευσε  $\text{O}_2$  αντί του  $\text{CO}_2$ ). Αυτός είναι και ο κυριότερος λόγος που στις καλλιέργειες μικροφυκών στους κλειστούς διαφανείς σωλήνες των βιοαντιδραστήρων δεν πρέπει να αφήνουμε να συσσωρεύεται το οξυγόνο που παράγουν τα εντόνως φωτοσυνθέτοντα κύτταρα.
- ❑ Και επιπλέον, κατά την πορεία του «γλυκολικού δρόμου» των χημικών αντιδράσεων παράγεται και το επικίνδυνο υπεροξειδωτικό **υπεροξειδίο του υδρογόνου** ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) το οποίο πρέπει να απομακρυνθεί (στο υπεροξειδίσωμα με τη δράση μιας καταλάσης).
- ❑ Το **γλυκολικό οξύ** οξειδώνεται με κάποια από τις δύο υπάρχουσες διαδικασίες ανάλογα με το είδος του φύκους (και του φυτού επίσης). Η πρώτη διαδικασία απαντάται στα ροδοφύκη, σε χερσαία σταχυομαστιγωτά, στα φυτά και σε ορισμένα χλωροφύκη και χρησιμοποιεί το ένζυμο **οξειδάση του γλυκολικού** στα **υπεροξειδίσωματα**. Η δεύτερη διαδικασία γίνεται στα **μιτοχόνδρια** και χρησιμοποιεί το ένζυμο **διυδρογενάση του γλυκολικού** και την ακολουθούν τα ευγληνοειδή, τα διάτομα, τα δινομαστιγωτά και η πλειονότητα των χλωροφυκών.
- ❑ Επιπλέον, κατά τη φάση σχηματισμού των αμινοξέων γλυκίνης και σερίνης εμπλέκεται και το μόριο της **αμμωνίας** και μάλιστα κατά το σχηματισμό της σερίνης απελευθερώνεται ένα μόριο  $\text{NH}_3$  το οποίο αφενός είναι τοξικό και αφετέρου αποτελεί πολύτιμη απόθεμα αζώτου το οποίο θα χαθεί τελικά λόγω εξαέρωσής του (η αμμωνία είναι αέριο) αν δεν υπάρξει άμεσος μηχανισμός επαναδέσμευσής του. Η αμμωνία αυτή ευτυχώς επαναφομοιώνεται με σχηματισμό γλουταμίνης από γλουταμινικό οξύ (ο λεγόμενος «φωτοαναπνευστικός κύκλος του N»).

# Τα «πλην» και «συν» της φωτοαναπνοής



- ❑ Κατά τη φωτοαναπνοή και στη γλυκολυτική οδό, στο στάδιο δημιουργίας της σερίνης απελευθερώνεται 1 μόριο CO<sub>2</sub> το οποίο αποτελεί απώλεια C και συνάμα απώλεια και κάποιας ποσότητας ενέργειας υπό μορφή ATP.
- ❑ Στον φωτοσυνθετικό κύκλο των C<sub>3</sub> ενώσεων (κύκλος Calvin) για τη δέσμευση 1 μορίου CO<sub>2</sub> καταναλώνονται 2 ATP και 2 NADPH = 125Kcal. Στη φωτοαναπνοή για τη δέσμευση 1 μορίου O<sub>2</sub> από τη RuBP καταναλώνονται 2 ATP και 2,5 NADPH = 144Kcal.

Ο **γλυκολικός δρόμος** είναι μια αρκετά δαπανηρή διαδικασία για τον μεταβολισμό του CO<sub>2</sub> και της εν γένει κατανάλωσης ενέργειας. Τουλάχιστον όμως, η μετατροπή του γλυκολικού σε γλυκερικό διασώζει κατά 75% τον άνθρακα που δεν εισέρχεται στη διαδικασία της φωτοσύνθεσης. Θα ήταν παράλογο από εξελικτικής απόψεως μια τέτοια διαδικασία να μην προσέφερε και κάποιο όφελος στους οργανισμούς. Και πράγματι υπάρχουν και κάποια οφέλη, τα εξής:

- ❑ Συντίθενται γλυκίνη και σερίνη απαραίτητα αμινοξέα για τη σύνθεση πρωτεϊνών και επιπλέον η όποια περίσσειά τους μπορεί να χρησιμοποιηθεί για σύνθεση χλωροφυλλών.
- ❑ Κατά τη φωτοαναπνοή καταναλώνεται μια ικανή ποσότητα O<sub>2</sub> που δημιουργείται στη φωτοσύνθεση και προστατεύεται έτσι η φωτοσυνθετική συσκευή από βλάβες που μπορεί να επιφέρουν οι ελεύθερες ρίζες που δημιουργούνται από τις αντιδράσεις του οξυγόνου.
- ❑ Το φωσφογλυκολικό οξύ που ούτως ή άλλως δημιουργείται στους χλωροπλάστες (το Rubisco θα δεσμεύει πάντοτε μια ποσότητα O<sub>2</sub>) σε συνθήκες έντονου φωτισμού είναι τοξικό. Με τη φωτοαναπνοή και την εξαγωγή του στα υπεροξεισώματα ο κίνδυνος αυτός εξουδετερώνεται.

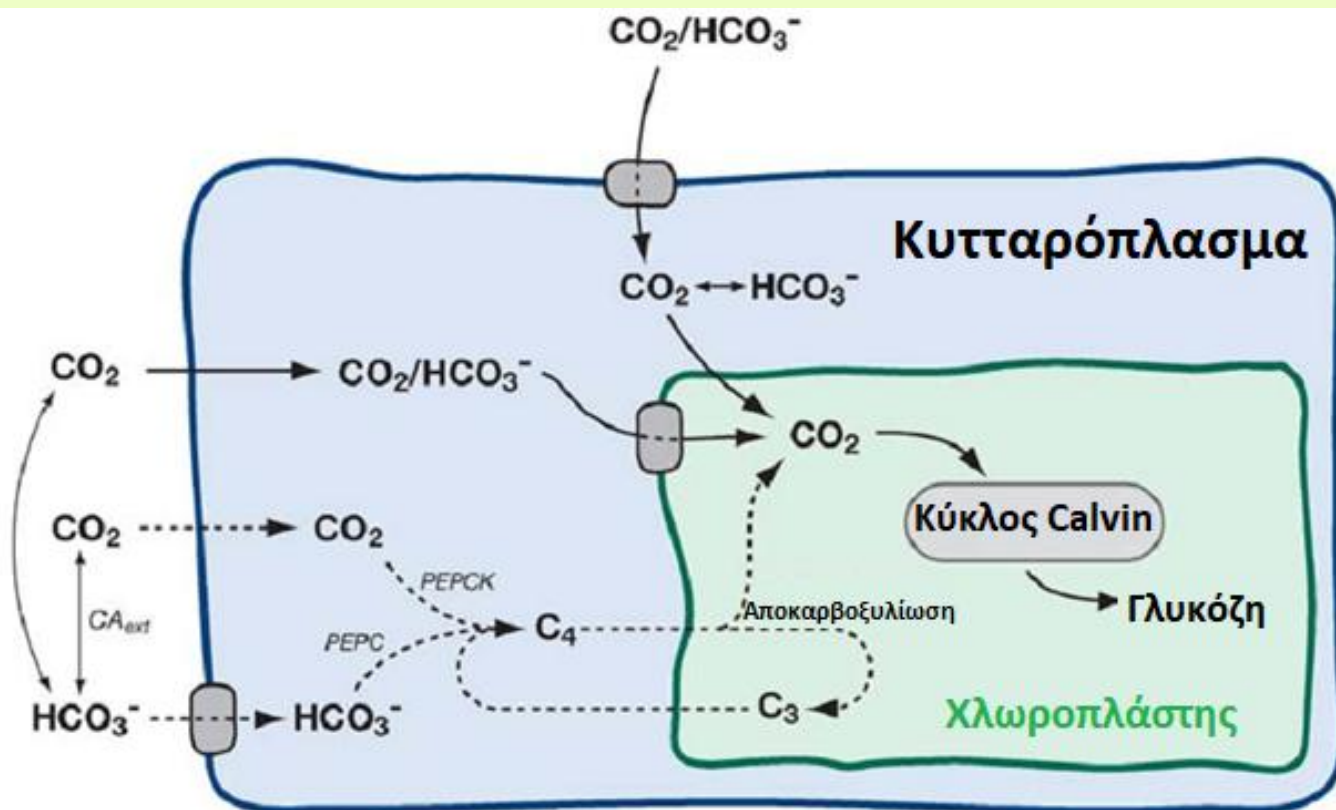
# Η ικανότητα συγκέντρωσης ανόργανου άνθρακα-C<sub>i</sub>

- Τα φύκη επιδεικνύουν μια ποικιλία από τρόπους (μηχανισμούς) για να συγκεντρώνουν CO<sub>2</sub>:
  1. C<sub>4</sub> μηχανισμοί
  2. Ενεργή μεταφορά C<sub>i</sub> (ανόργανος άνθρακας = CO<sub>2</sub> + HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>)
  3. Διαβάθμιση του pH στους χλωροπλάστες
  4. Ενασβέστωση



# 1<sup>ος</sup> τρόπος CCM: C<sub>4</sub> μηχανισμοί στα φύκη

- Οι πρώτοι φωτοσυνθετικοί CCMs που περιγράφηκαν αναλυτικώς ήταν στα χερσαία φυτά που επιτελούν φωτοσύνθεση τύπου C<sub>4</sub> και CAM.
- Η παρουσία μεταβολισμού τύπου C<sub>4</sub> ή CAM αναλόγου έχει παρατηρηθεί στα υφυδατικά φυτά και στα φύκη.



Σχηματική απεικόνιση C<sub>4</sub>- ανάλογου μηχανισμού στο ευκαρυωτικό φυκικό κύτταρο

# Τι είναι ο C<sub>4</sub> κύκλος δέσμευσης του άνθρακα;

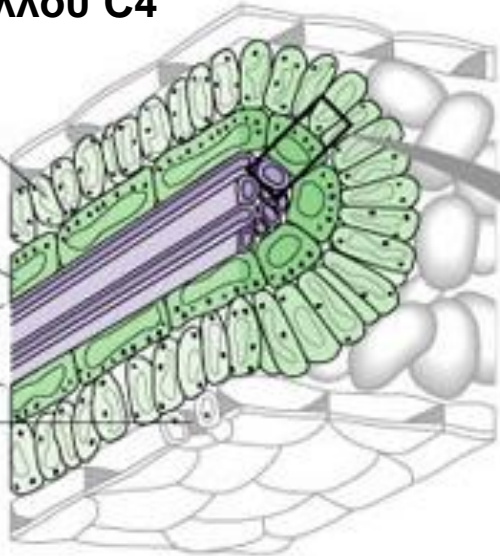
## Τομή φύλλου C<sub>4</sub>

Κύτταρα μεσόφυλλου

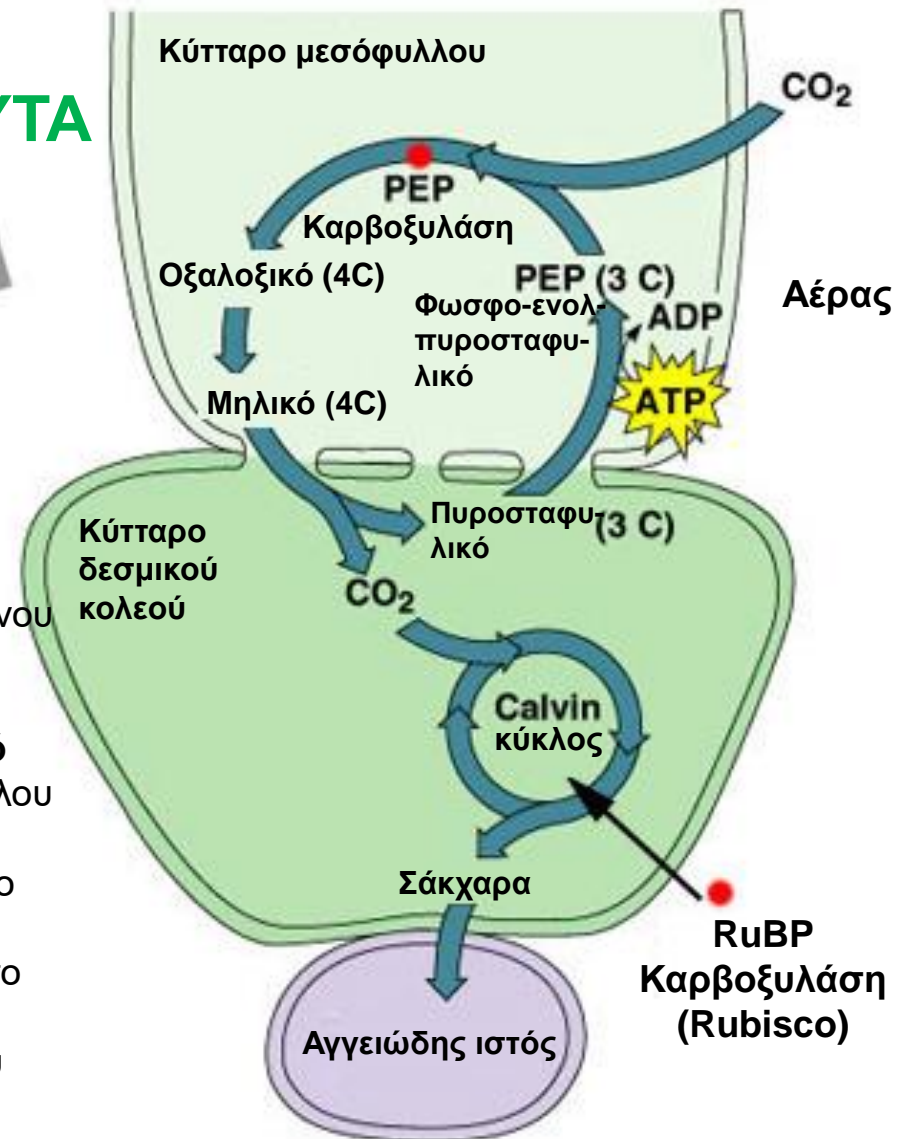
Κύτταρα δεσμικού κολεού

Αγγειώδης ιστός

Στόμα



ΦΥΤΑ



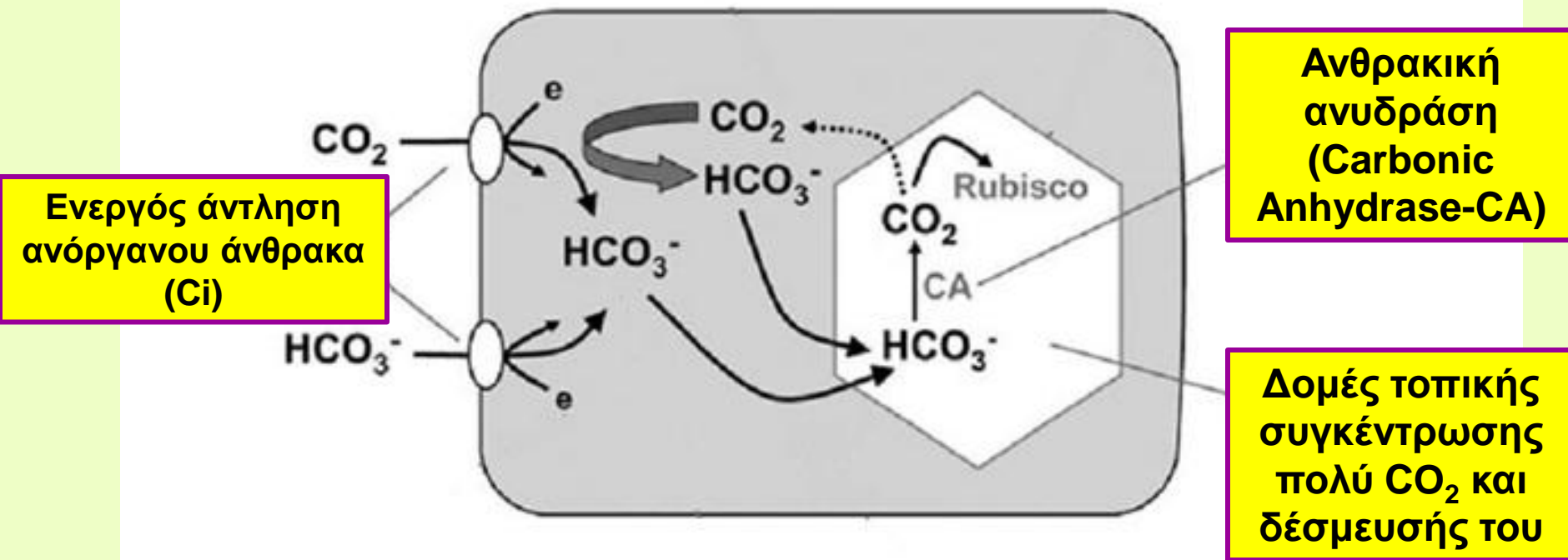
Στα φυτά που δεσμεύουν αρχικώς το **CO<sub>2</sub>** μέσω του λεγόμενου κύκλου του **οξαλοξικού οξέως** με τη δράση του ενζύμου **καρβοξυλάση του φωσφοενολπυροσταφυλικού οξέως (PEP)**, η πρώτη ένωση που σχηματίζουν είναι το **οξαλοξικό οξύ** που περιέχει **4 άτομα C** (εξ' ού και η ονομασία του κύκλου C<sub>4</sub>). Αυτό γίνεται σε κάποια ειδική περιοχή του φύλλου στα λεγόμενα κύτταρα του μεσόφυλλου. Κατόπιν το παραγόμενο **μηλικό οξύ (4C)** μεταναστεύει στα γειτονικά κύτταρα του δεσμικού κολεού και εκεί το μηλικό απελευθερώνει το **CO<sub>2</sub>** το οποίο προσλαμβάνεται στο συνήθη κύκλο του Calvin που δημιουργεί ενώσεις με 3 άτομα C (εξ' ού και η ονομασία του κύκλου C<sub>3</sub>).

Τα C<sub>4</sub> φυτά (καλαμπόκι, ζαχαροκάλαμο, κ.ά.) είναι πολύ αποτελεσματικά στη δέσμευση του άνθρακα καθώς η **PEP καρβοξυλάση** σε αντίθεση με το Rubisco δεν παρουσιάζει έλξη για το οξυγόνο και είναι «αφοσιωμένη» ολοκληρωτικά στη δέσμευση του **CO<sub>2</sub>**. **Ορισμένα φύκη** παρουσιάζουν ικανότητα δέσμευσης άνθρακα (κύκλος C<sub>4</sub>) μέσω της υπάρχουσας στο κυτταρόπλασμα δράσης της PEP καρβοξυλάσης.

## 2<sup>ος</sup> τρόπος CCM: Ενεργός μεταφορά του $C_i$

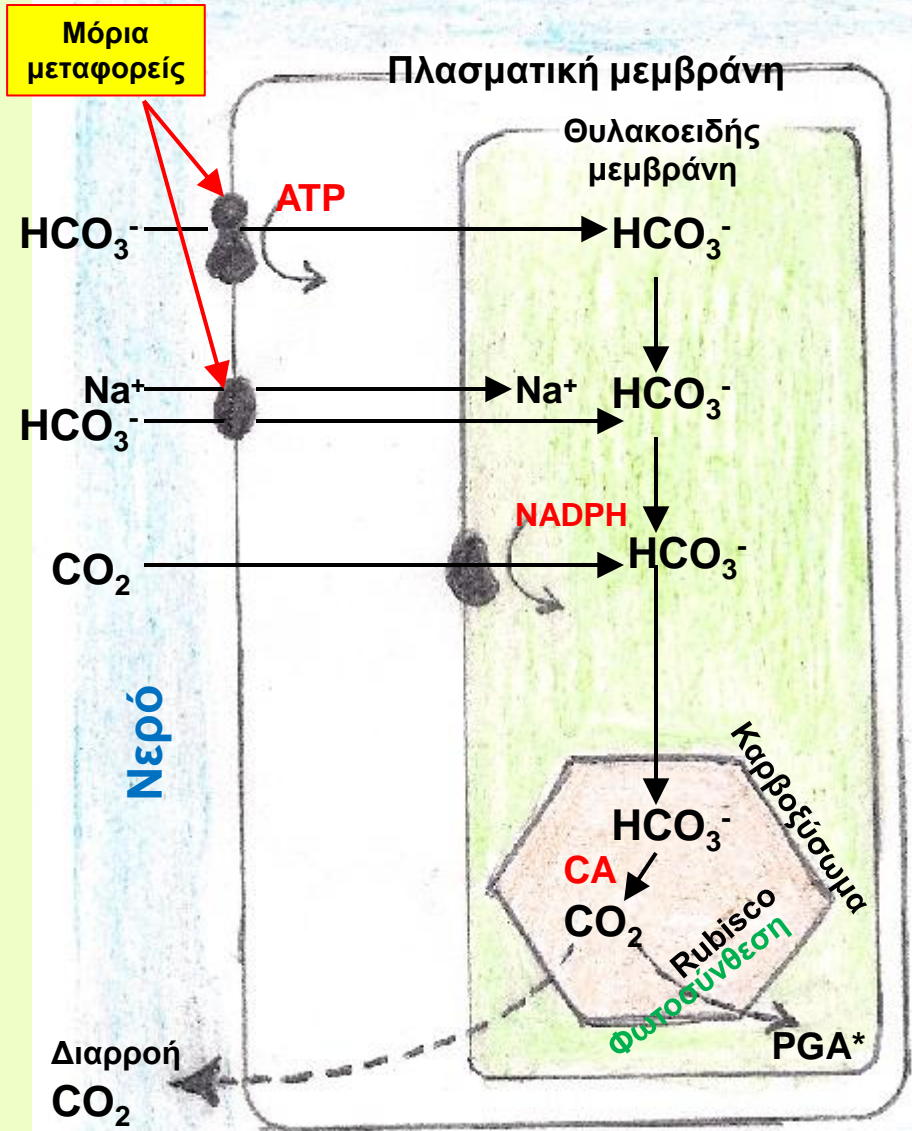
- Τα φύκη διαθέτουν CCMs που χρησιμοποιούν ποικιλία συστημάτων ενεργούς μεταφοράς  $CO_2$  και  $HCO_3^-$  από το νερό στο εσωτερικό του κυττάρου και συγκέντρωσης  $CO_2$  εκεί που πρέπει.

### Νερό



# Μηχανισμός συγκέντρωσης άνθρακα στα κυανοβακτήρια

Τα **κυανοβακτήρια** στηρίζονται στους μηχανισμούς συγκέντρωσης (CCM) ανόργανου **άνθρακα (C<sub>i</sub>)** στο εσωτερικό του κυττάρου τους επειδή το ένζυμο Rubisco που περιέχουν έχει χαμηλή εξειδίκευση για το CO<sub>2</sub>. Ετσι για να αυξήσουν την ποσότητα του **ενδοκυτταρικού CO<sub>2</sub>** προσλαμβάνουν μεγάλες ποσότητες **διττανθρακικών ιόντων (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>)** από το περιβάλλον νερό. Ομως τα διττανθρακικά ως φορτισμένα ιόντα δεν μπορούν να διαχυθούν διαμέσου της πλασματικής μεμβράνης. Ετσι τη μεταφορά τους αναλαμβάνουν ειδικά **μόρια-μεταφορείς** που βρίσκονται στη μεμβράνη. Επιπλέον, όποια ποσότητα CO<sub>2</sub> έχει διαχυθεί εντός του κυττάρου έχει κι' αυτή αρχικώς μετατραπεί σε HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> ( $HCO_3^- + H^+ \rightleftharpoons H_2O + CO_2$ ). Επειδή η αντίδραση αυτή είναι αφενός αργή και αφετέρου υπάρχει αρκετό συσσωρευμένο HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> τα κυανοβακτήρια έχουν επινοήσει ένα «έξυπνο» μηχανισμό. Ολη η ποσότητα των HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> συσσωρεύεται στο ειδικό οργανομόρφωμα που λέγεται **καρβοξύσωμα** όπου δρα το ένζυμο **ανθρακική ανυδράση (CA)** η οποία καταλύει χιλιάδες φορές γρηγορότερα τη μετατροπή των HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> σε CO<sub>2</sub> τη μόνη μορφή που μπορεί να δεσμευθεί από το ένζυμο Rubisco το οποίο συμμετέχει στη φωτοσύνθεση (και αυτό μέσα στο καρβοξύσωμα).



\*PGA=φωσφογλυκερικό οξύ, μόριο του κύκλου Calvin

# C<sub>i</sub> μεταφορείς στα κυανοβακτήρια

Υπάρχουν τουλάχιστον 5 διακριτά συστήματα ενεργούς μεταφοράς C<sub>i</sub> στα κυανοβακτήρια με μικρή ή μεγάλη τάση (έλξη) για δέσμευση C<sub>i</sub>.

Όνομασία	Πρόσληψη	Συνθήκες	Τόπος	Έλξη	Εξάρτηση
BCT1	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	C <sub>i</sub> ανεπάρκεια	Pm	H. A.	Na <sup>+</sup> ανεξάρτητο
BicA	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Συνεχώς	Pm	L. A.	Na <sup>+</sup> εξαρτημένο
SbtA	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	C <sub>i</sub> ανεπάρκεια	Pm	H. A.	Na <sup>+</sup> εξαρτημένο
NDH1 <sub>3</sub>	CO <sub>2</sub>	C <sub>i</sub> ανεπάρκεια	Θυλακ.	H. A.	CA δραστηριότητα
NDH1 <sub>4</sub>	CO <sub>2</sub>	Συνεχώς	Pm	L. A.	CA παρόμοια

C<sub>i</sub> = ανόργανος άνθρακας

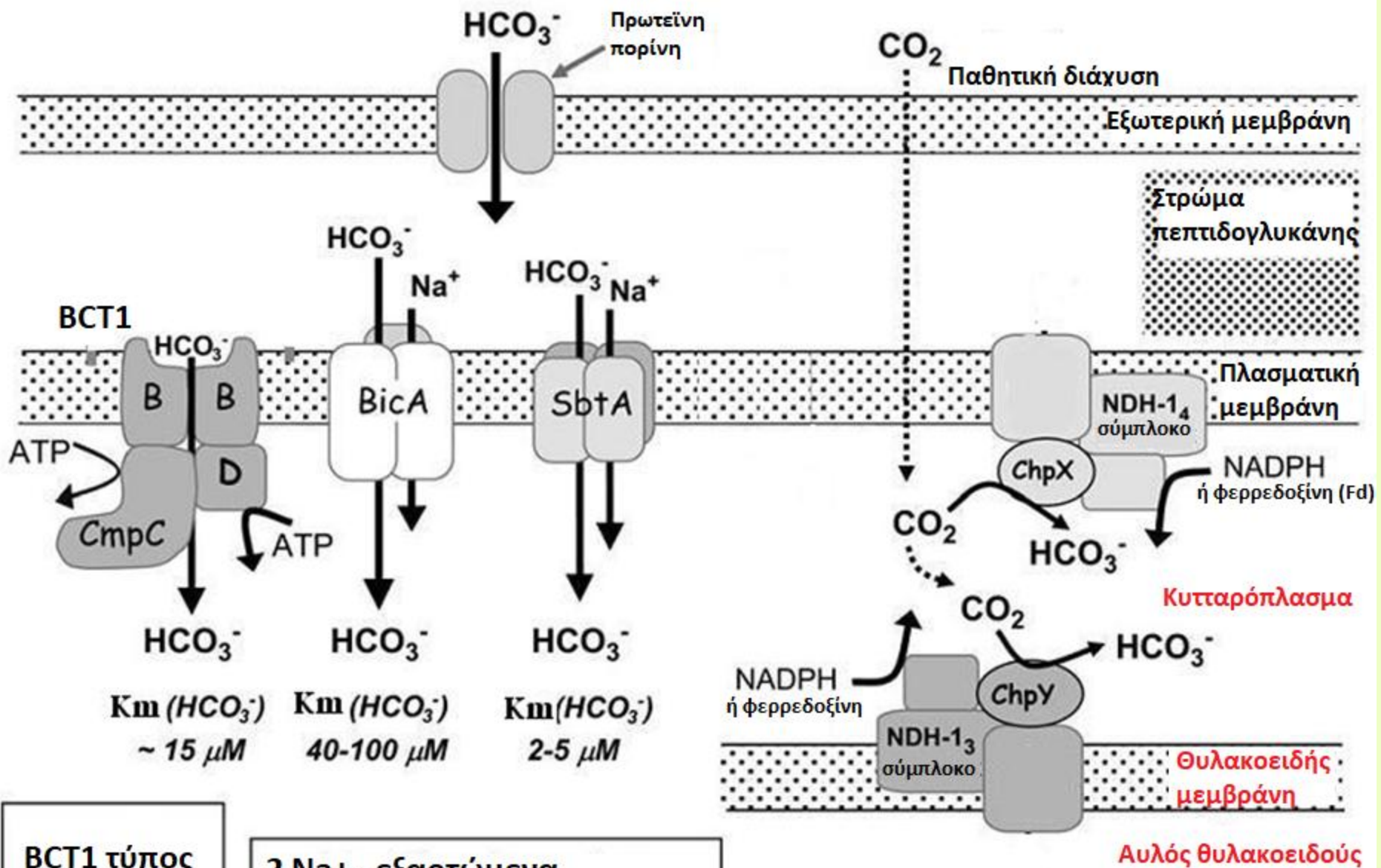
H.A. = υψηλή έλξη

L.A. = χαμηλή έλξη

Pm = πρωτόπλασμα

Θυλακ. = Θυλακοειδές

CA = ανθρακική ανυδράση



BCT1 τύπος μεταφοράς  $\text{HCO}_3^-$

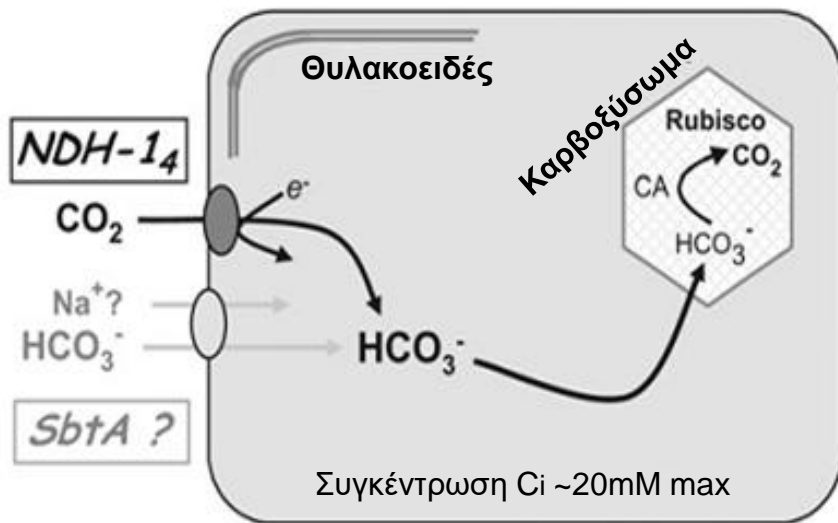
2  $\text{Na}^+$  - εξαρτώμενα συστήματα μεταφοράς  $\text{HCO}_3^-$

2  $\text{CO}_2$  συστήματα ενεργούς μεταφοράς

# Η ενεργοποίηση των μεμβρανικών μεταφορέων $C_i$ στα κυανοβακτήρια

Βασική κατάσταση CCM  
(Χαμηλή έλξη)

Περίσσεια  $C_i$ , π.χ. 2%  $CO_2$



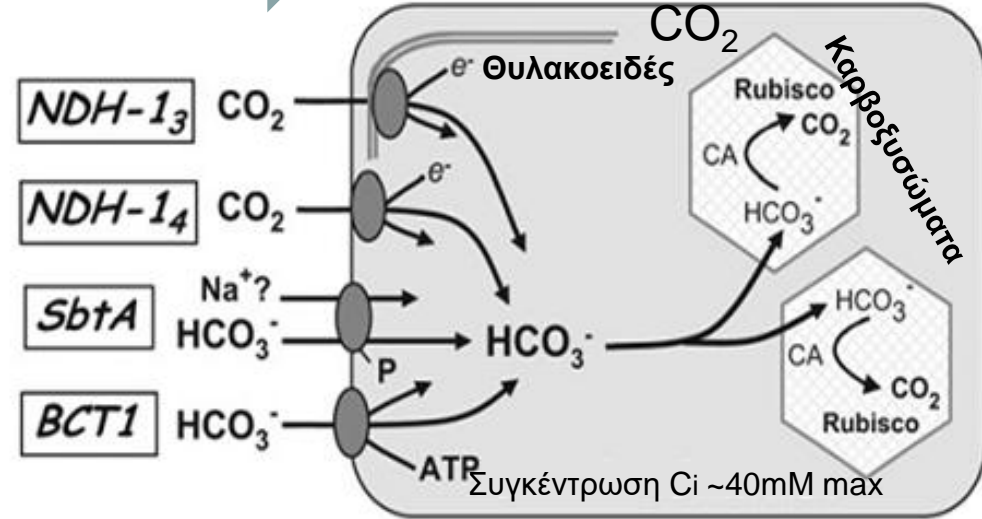
$K_m$  ( $C_i$ ) ~200  $\mu M$

Ελλειψη  $C_i$

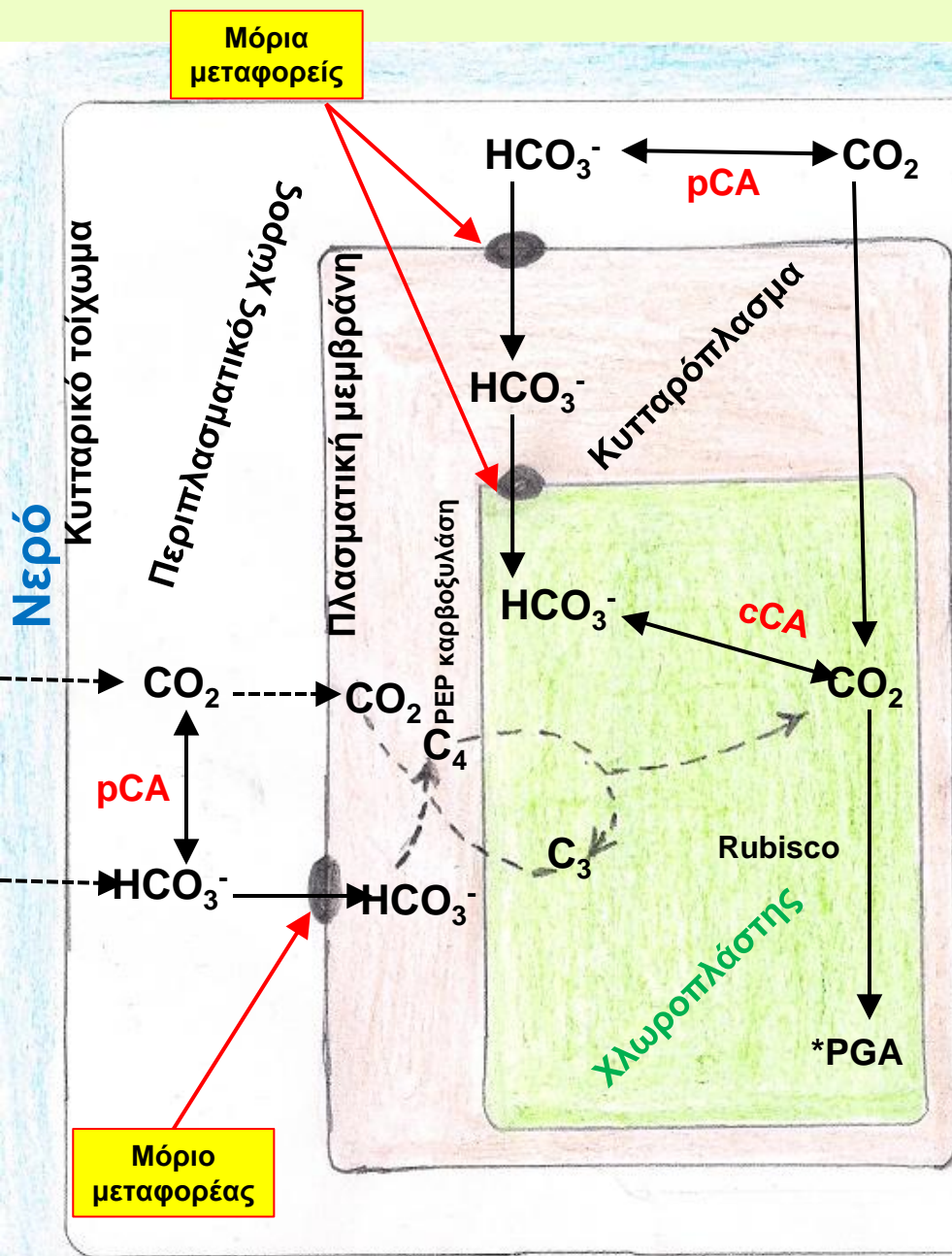


Πλήρως ενεργοποιημένος CCM  
(Υψηλή έλξη)

Ανεπάρκεια  $C_i$ , π.χ. 20 ppm



$K_m$  ( $C_i$ ) ~10-15  $\mu M$



\*PGA=φωσφογλυκερικό οξύ, μόριο του κύκλου Calvin

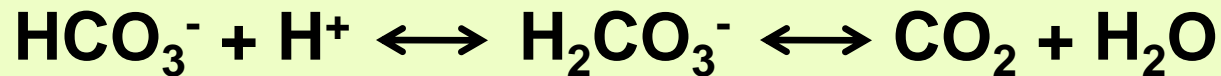
Τα ευκαρυωτικά φύκη όπως και τα κυανοβακτήρια στηρίζονται στους μηχανισμούς συγκέντρωσης (CCM) ανόργανου άνθρακα (C<sub>i</sub>) στο εσωτερικό του κυττάρου τους. Εδώ όμως τον αντίστοιχο ρόλο του καρβοξυσώματος διαδραματίζει το πυρηνοειδές του χλωροπλάστη το οποίο δεν υπάρχει σε όλα τα ευκαρυοφύκη. Υπάρχει δεν υπάρχει όμως πυρηνοειδές, το ζητούμενο είναι να συγκεντρωθεί στο χλωροπλάστη αρκετή ποσότητα CO<sub>2</sub> για να δεσμεύεται έντονα από το ένζυμο Rubisco. Έτσι λοιπόν τα διττανθρακικά ιόντα (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) εισέρχονται με ενεργό μεταφορά ενδο-κυτταρικός και ενδο-χλωροπλαστικός και μετατρέπονται με την ανθρακική ανυδράση (CA) σε CO<sub>2</sub>. Εκτός από την CA που υπάρχει στους χλωροπλάστες (cCA) υπάρχει και η περιπλασματική CA (pCA) στο χώρο μεταξύ πλασματικής μεμβράνης και κυτταρικού τοιχώματος η οποία εκκρίνεται εκεί από το πρωτόπλασμα για να επιταχύνει τις διεργασίες. Ορισμένα ευκαρυοφύκη επιπλέον παρουσιάζουν και μια μορφή C<sub>4</sub> φωτοσύνθεσης με τη δράση του ενζύμου PEP καρβοξυλάση.



# Διαρροή και αναγέννηση του $\text{CO}_2$

- Το  $\text{CO}_2$  μπορεί εύκολα να διαχέεται διαμέσου των βιολογικών μεμβρανών.
- Τα μικροφύκη αποτελούνται από ένα ή έστω μερικά κύτταρα μόνο οπότε βρίσκονται σε άμεση επαφή με το περιβάλλον νερό.
- Τα μικροφύκη αντιμετωπίζουν το πρόβλημα της εύκολης διάχυσης (χάσιμο) του  $\text{CO}_2$  προς τα έξω με την συσσώρευση διττανθρακικού ιόντος ( $\text{HCO}_3^-$ ) το οποίο διαχέεται πολύ βραδύτερα απ' ό τι το  $\text{CO}_2$ .
- Η ανθρακική ανυδράση (CA) μετατρέπει το  $\text{HCO}_3^-$  σε  $\text{CO}_2$  το οποίο αποτελεί το υπόστρωμα του Rubisco.

- Ο ρόλος της ανθρακικής ανυδράσης (CA) είναι η αφυδάτωση του HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> με κατάληξη την αυξημένη συγκέντρωση του CO<sub>2</sub> στο καρβοξύσωμα ή στο χλωροπλάστη.



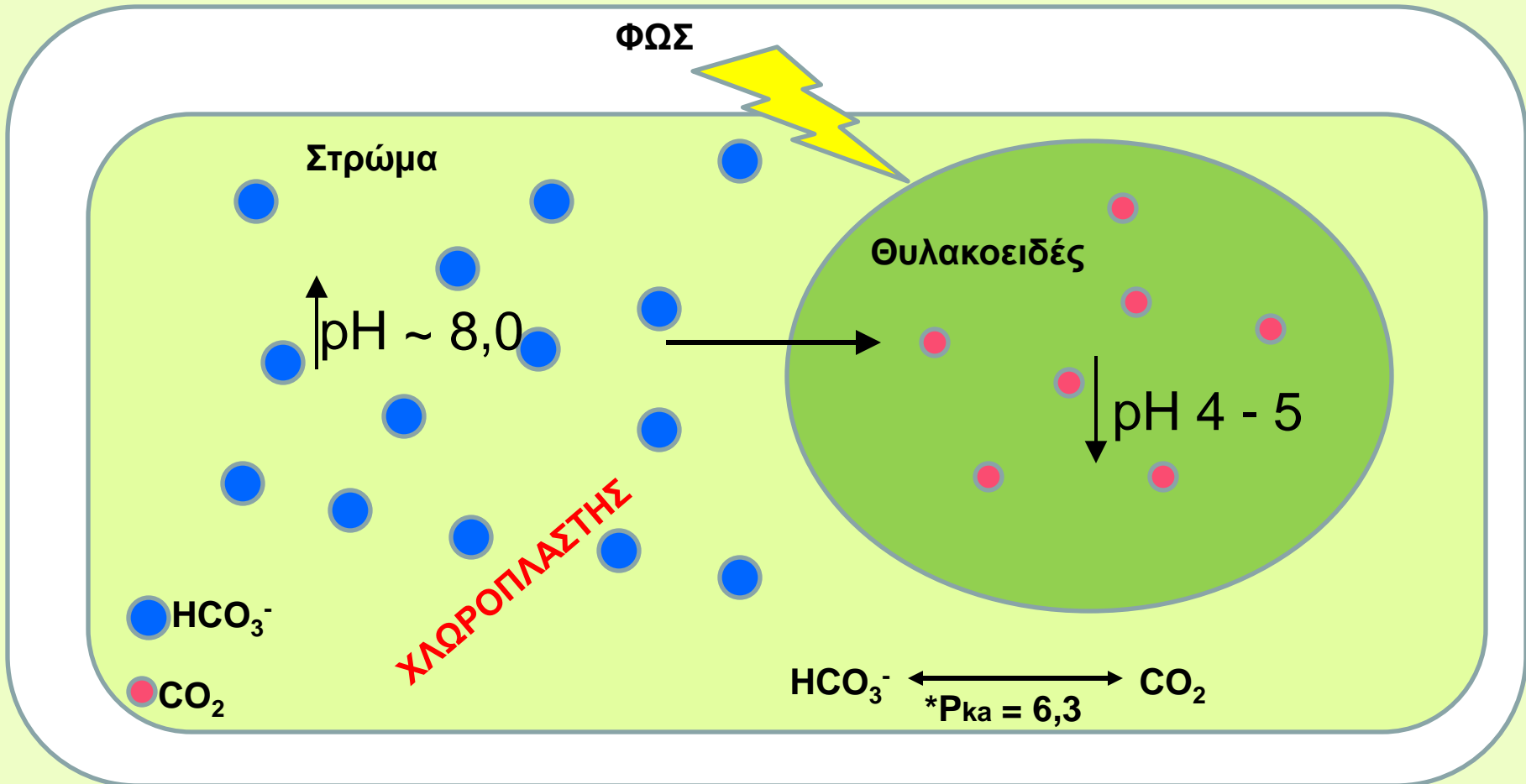
- Απώλεια της CA σε τροποποιημένα κύτταρα οδηγεί σε ένα κύτταρο που δεν αυξάνεται καλά όταν υπάρχει χαμηλό επίπεδο CO<sub>2</sub> και ταυτόχρονα συσσωρεύει περισσότερο HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> απ'ότι συσσωρεύουν τα φυσιολογικά κύτταρα.

# Η σημασία της θέσης της CA (Ανθρακική Ανυδράση) στη χρησιμοποίηση του CO<sub>2</sub>

- ❑ Η θέση και δράση της CA μέσα στο κύτταρο είναι το ίδιο σημαντική με το «πυκνό πακετάρισμα» του Rubisco στο καρβοξύσωμα και στο πυρηνοειδές.
- ❑ Έχει λοιπόν σημασία να υπάρχει και να δρα η CA στο καρβοξύσωμα και στο πυρηνοειδές.
- ❑ Έτσι, μετατρέποντας το εισερχόμενο HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> σε CO<sub>2</sub> αυτό άμεσα δεσμεύεται από το Rubisco και δεν διαχέεται έξω από το καρβοξύσωμα ή το χλωροπλάστη.
- ❑ Αντίθετα η CA στο κυτταρόπλασμα συμβάλλει σε χάσιμο αρκετού HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> καθώς πολύ από το σχηματιζόμενο CO<sub>2</sub> διαχέεται εκτός κυττάρου.
- ❑ Το αντίθετο ακριβώς από τα φύκη συμβαίνει με την CA στα ζώα (και τον άνθρωπο φυσικά). Εδώ είναι επιθυμητή η έντονη δράση της CA στο κυτταρόπλασμα έτσι ώστε τα συσσωρευμένα (λόγω της κυτταρικής αναπνοής) διττανθρακικά να μετατρέπονται γρήγορα σε CO<sub>2</sub> το οποίο αποβάλλεται διαχεόμενο έξω από το κύτταρο.
- ❑ Σε μεταλλαγμένα στελέχη φυκών με ανθρώπινη CA βρέθηκε ότι δεν μπορούν να αντεπεξέλθουν σε χαμηλά επίπεδα CO<sub>2</sub> στο νερό.

## 3<sup>ος</sup> τρόπος CCM: pH διαβάθμιση στους χλωροπλάστες.

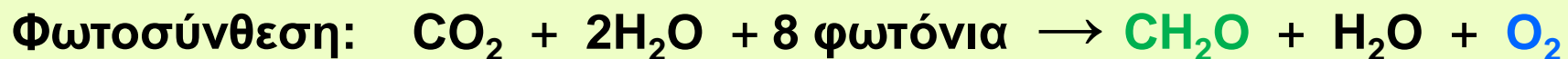
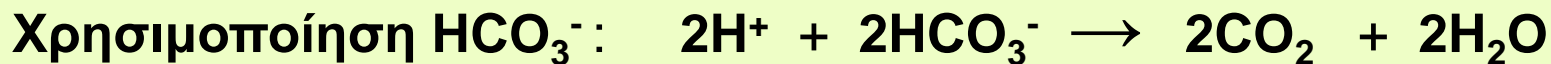
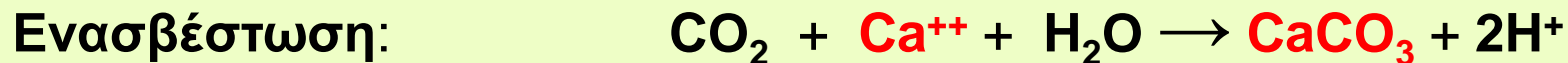
Στα ευκαρυωτικά φύκη μπορεί να υπάρχει CCM βάσει της διάχυσης των διττανθρακικών ιόντων ( $\text{HCO}_3^-$ ) που συσσωρεύονται λόγω της φωτοσύνθεσης στο στρώμα του χλωροπλάστη, προς το εσωτερικό του θυλακοειδούς όπου μετατρέπονται σε  $\text{CO}_2$ . Τα διαφορετικά pH σε αυτές τις δύο περιοχές τροφοδοτούν συνεχώς αυτή τη διαδικασία.



\* $P_{ka}$  σημαίνει εκείνο το pH όπου τα  $\text{HCO}_3^-$  και  $\text{CO}_2$  βρίσκονται σε ίσες συγκεντρώσεις (ισορροπία)

## 4<sup>ος</sup> τρόπος CCM: Οι αντιδράσεις της ενασβέστωσης και της φωτοσύνθεσης στα φύκη

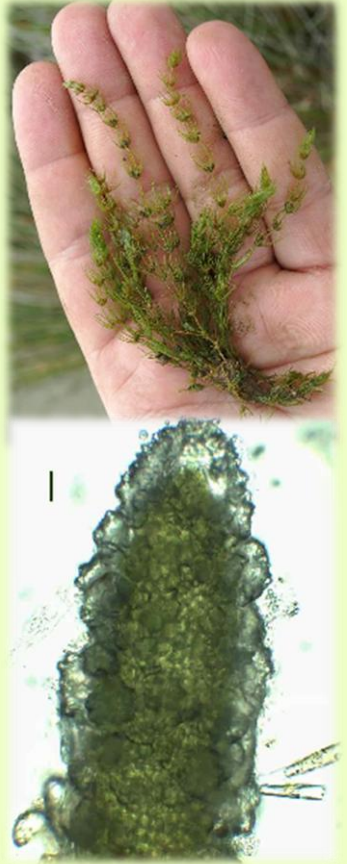
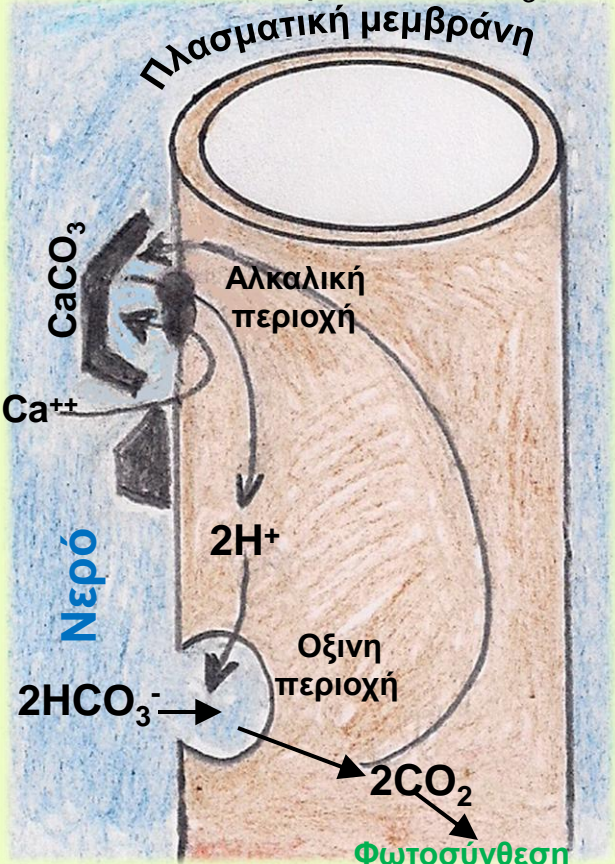
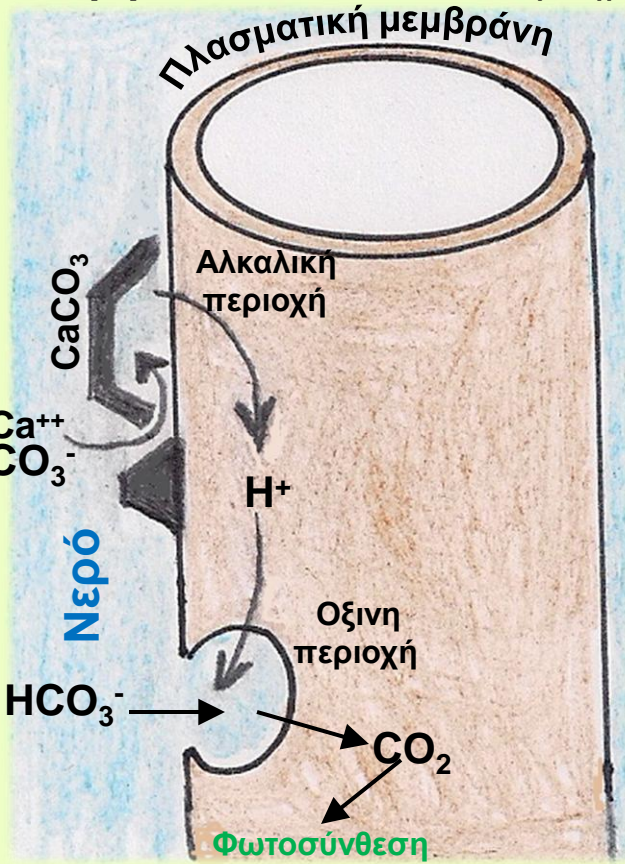
Πολλά ευκαρυωτικά φύκη (μικροφύκη και μακροφύκη) δημιουργούν **ασβεστιτικές αποθέσεις** στο εξωτερικό του **θαλλού** τους οι οποίες είναι πολύ χαρακτηριστικές και δημιουργούν ακόμα και υφάλους όταν συσσωρεύονται (π.χ. οι ροδόλιθοι ή τραγάνες των ροδοφυκών). Εκτός από διάφορα δομικά ή προστατευτικά πλεονεκτήματα που προσφέρει η **ενασβέστωση** (ακόμα και ορισμένα κυανοβακτήρια ενασβεστώνονται π.χ. στρωματόλιθοι), η διαδικασία αυτή λειτουργεί εμμέσως και ως μηχανισμός συγκέντρωσης ανόργανου άνθρακα (CCM) εντός του κυττάρου (δηλαδή συσσώρευσης CO<sub>2</sub>) για να διευκολυνθεί η φωτοσύνθεση.



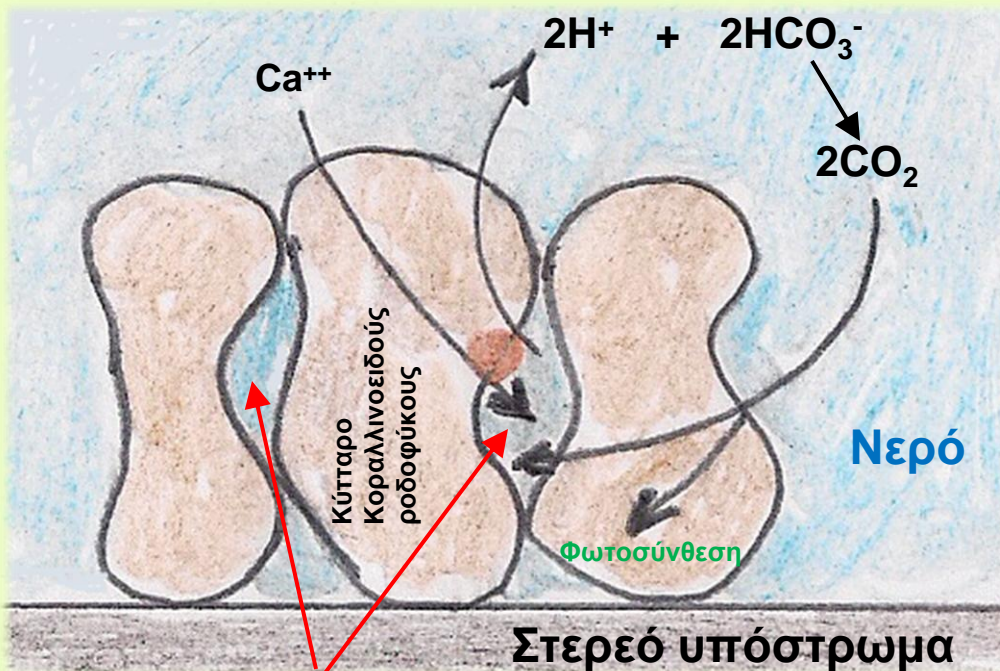
# Η ενασβέστωση στα χλωροφύκη ως μηχανισμός συγκέντρωσης CO<sub>2</sub>

Η ενασβέστωση που παρατηρείται σε πλήθος φυκών (πολυκύτταρων και μονοκύτταρων) είναι μια διαδικασία **CCM** η οποία έχει ως ορατό αποτέλεσμα τη δημιουργία στρώματος **ανθρακικού ασβεστίου** (CaCO<sub>3</sub>) που καλύπτει όλη ή μέρος της επιφάνειας του θαλλού.

Στις παρακάτω σχηματικές αναπαραστάσεις φαίνονται 2 πιθανοί τρόποι ενασβέστωσης – συγκέντρωσης CO<sub>2</sub> στο χλωροφύκος *Chara*. Η ενασβέστωση συμβαίνει **εξωκυτταρικός**. Η μεταφορά ιόντων ασβεστίου (Ca<sup>++</sup>) διαμέσου της μεμβράνης σε μια περιοχή εκτός του κυττάρου συνδέεται με παράλληλη αφαίρεση πρωτονίων (H<sup>+</sup>) τα οποία κατόπιν εξερχόμενα του κυττάρου αντιδρούν με HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> προς σχηματισμό CO<sub>2</sub> το οποίο διαχεόμενο στο κύτταρο συμβάλλει στη φωτοσύνθεση. Στη θέση συγκέντρωσης των ιόντων ασβεστίου (Ca<sup>++</sup>) δημιουργείται ένα **αλκαλικό μικροπεριβάλλον** που ευνοεί τη δημιουργία και εναπόθεση του CaCO<sub>3</sub>.

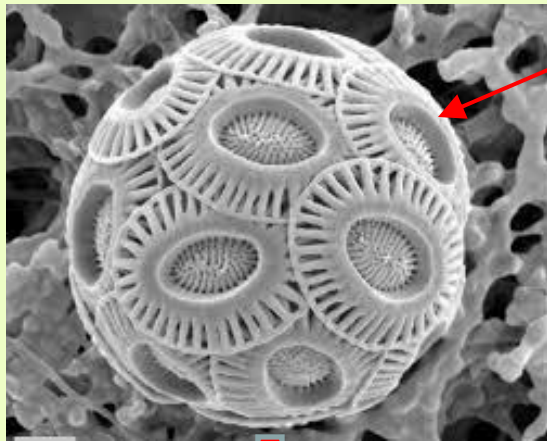


Στα είδη των **ροδοφυκών** της τάξεως των **Corallinales** η **ενασβέστωση** των θαλλών τους πραγματοποιείται σε μεγάλο βαθμό έτσι που διάφορα είδη από αυτά (π.χ. *Lithothamnion*) που ανήκουν στην ομάδα των μη αρθρωτών (**κρουστωδών**) ενασβεστωτών να σχηματίζουν πραγματικούς **υφάλους** (τραγάνες). Αλλα είδη που ανήκουν στην ομάδα των **αρθρωτών** (π.χ. *Corallina*) σχηματίζουν επιμήκεις ενασβεστωμένους θαλλούς τα τμήματα των οποίων συνδέονται με μη ενασβεστωμένες «αρθρώσεις» τα λεγόμενα **γόνατα**.

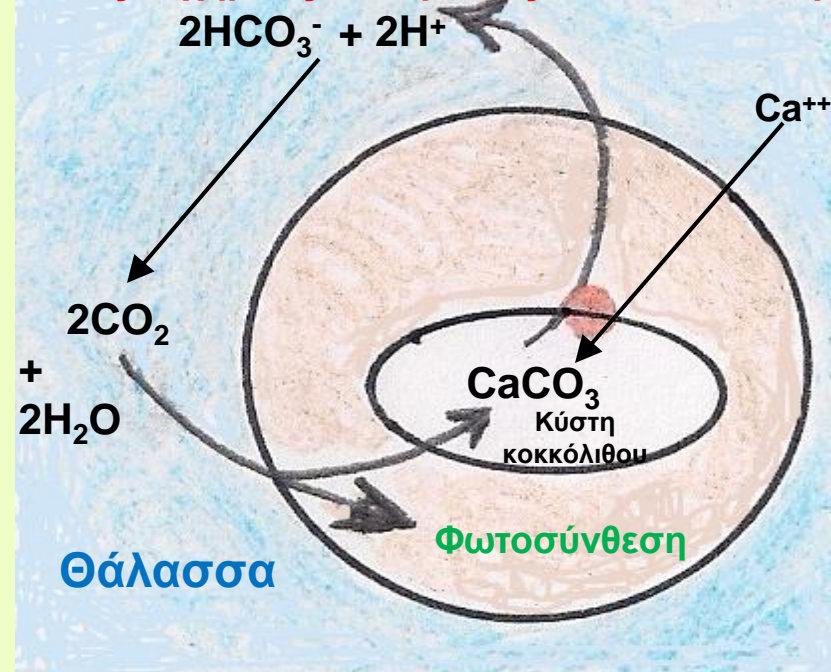


Θέσεις ενασβέστωσης (CaCO<sub>3</sub>)

Στα **κοκκολιθοφόρα** είδη φυκών των **αποφυτών** η επιφάνεια του κυττάρου καλύπτεται από **ασβεστολιθικές φολίδες** τους **κοκκόλιθους**. Ο σχηματισμός των κοκκόλιθων πραγματοποιείται **ενδοκυτταρικώς** σε ειδικά **κυστίδια** και κατόπιν ο σχηματισθείς κοκκόλιθος μεταφέρεται στο εξωτερικό του κυττάρου. Η μεταφορά Ca<sup>2+</sup> εντός του κυττάρου συνδέεται με έξοδο H<sup>+</sup> τα οποία αντιδρούν με HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> προς σχηματισμό CO<sub>2</sub> το οποίο διαχεόμενο στο κύτταρο χρησιμοποιείται στη **φωτοσύνθεση**.



**Γενικώς οι χημικές αντιδράσεις στο κοκκολιθοφόρο**



**Σχηματική αναπαράσταση δημιουργίας κοκκόλιθων**



# Διαμόρφωση των CCMs

- ❑ Οι περιβαλλοντικές συνθήκες και η διαθεσιμότητα των θρεπτικών διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση της δραστηριότητας του CCM.
- ❑ Η ανεπάρκεια των βασικών θρεπτικών επηρεάζει αρνητικά τη φωτοσύνθεση. Απαιτείται η κατανόηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ της δραστηριότητας του CCM, των περιβαλλοντικών συνθηκών και της διαθεσιμότητας θρεπτικών.
- ❑ Η ποσότητα απόκτησης άνθρακα με CCM είναι συζευγμένη με τη διαθεσιμότητα των υπόλοιπων θρεπτικών (N, P, Fe, Zn, κ.λπ.).

# Η σημασία των θρεπτικών

- ❑ Η έλλειψη φωσφόρου (P) επηρεάζει τους CCMs επειδή η πρόσληψη  $C_i$  εξαρτάται από τη διαθεσιμότητα αρκετού ATP.
- ❑ Ο ψευδάργυρος (Zn) χρησιμοποιείται ως μεταλλικός συμπράγοντας (cofactor) στην καταλυτική δράση της CA.
- ❑ Ο σίδηρος (Fe) συχνά βρίσκεται σε έλλειψη και έτσι επηρεάζει αρνητικά τη φωτοσύνθεση καθώς δεν εκτελούνται αποτελεσματικά οι βιοχημικές αντιδράσεις χρησιμοποίησης της φωτεινής ενέργειας.

# Γενικά συμπεράσματα

- ❖ Οι βιοχημικές ιδιότητες του Rubisco και οι υδατικές συνθήκες είναι οι πιο σημαντικοί λόγοι που τα φύκη χρειάζονται τους μηχανισμούς συγκέντρωσης ανόργανου άνθρακα (CCMs).
- ❖ Οι CCMs αποτελούν μια βιολογική προσαρμογή στα χαμηλά \*σημερινά επίπεδα του CO<sub>2</sub> στο περιβάλλον (νερό και αέρα).  
*\* Πριν 2,5 δισεκατομ. έτη το CO<sub>2</sub> ήταν δεκάδες φορές περισσότερο.*
- ❖ Η συμπύκνωση του Rubisco, η συγκέντρωση του CO<sub>2</sub>, και η λειτουργία της CA είναι ουσιαστικά για την επιτυχή CCM.
- ❖ Οι τρόποι συγκέντρωσης CO<sub>2</sub> είναι 4 τουλάχιστον: C<sub>4</sub> μηχανισμός, ενεργός μεταφορά, διαβάθμιση του pH στους χλωροπλάστες και ενασβέστωση.
- ❖ Οι CCMs μπορούν να διαμορφωθούν από περιβαλλοντικούς παράγοντες και από τα υπόλοιπα θρεπτικά στοιχεία (N, P κ.λπ.).