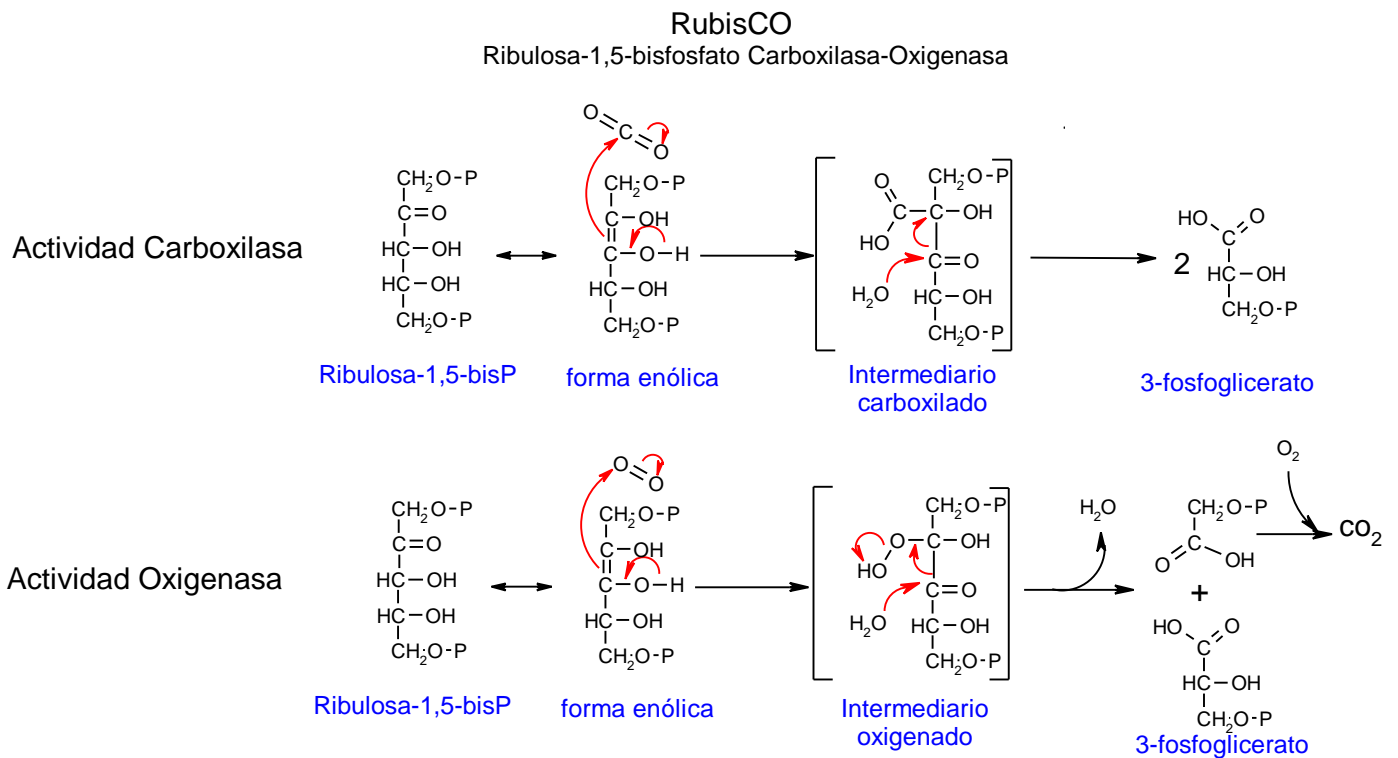


XIII. Fotosíntesis, fijación de CO₂ Ciclo de Calvin

RubisCO. El ciclo de Calvin constituye una serie de reacciones cíclicas que permiten fijar el CO₂ en la mayoría de los organismos fotosintéticos.

La primera de las reacciones de fijación de CO₂ que analizaremos es la que implica la fijación del CO₂ y su incorporación en un compuesto orgánico. Esta reacción es catalizada por una enzima compleja que recibe el nombre de Ribulosa-1,5-bisfosfato Carboxilasa/Oxigenasa o, en forma más simplificada, RubisCO. Esta enzima, probablemente la proteína más abundante de la Tierra, posee dos actividades que compiten entre si. La primera de ellas corresponde a la reacción del sustrato con el CO₂. La segunda corresponde a la reacción del sustrato con el O₂.



Las dos actividades son contrapuestas en el sentido que la primera permite la fijación biológica del CO₂ en tanto que por la segunda la célula termina perdiendo algo de su materia orgánica debido a la posterior oxidación del intermediario de 2 carbonos generado como producto de la reacción de oxigenación. Por esta razón la serie de reacciones que comienzan con esta última etapa (la actividad oxigenadora de la RubisCO) y terminan con la conversión de los dos carbonos superiores de la pentosa en CO₂, se conoce con el nombre de fotooxidación.

La RubisCO posee diferentes KM para el O₂ o para el CO₂. Obviamente el KM para el CO₂ es mucho más bajo que el correspondiente al O₂, sin embargo, la elevada concentración de O₂ en la atmósfera conjuntamente con la baja concentración del CO₂, hacen que, en condiciones normales, las dos

actividades posean significancia para el metabolismo de la mayoría de las plantas y otros organismos fotosintéticos.

A pesar de que la actividad oxigenasa de la RubisCO es obviamente deletérea, no se conoce ningún organismo fotosintético que haya evolucionado hacia el desarrollo de una enzima con menor afinidad (K_M aumentado) para el O_2 . Sin embargo, si se conocen mecanismos alternativos que han sido diseñados por algunos organismos fotosintéticos para favorecer la reacción de fijación biológica de CO_2 por encima de la fotooxidación.

Algunos organismos (en particular algunos microorganismos) son capaces de disminuir localmente la concentración del O_2 ya sea por un aumento de su consumo (por transferencia electrónica por ejemplo) o por su incorporación en complejos estables que lo secuestran. El más conocido de estos complejos es el que se forma con la Leg-hemoglobina, una proteína que contiene un grupo hemo, y que guarda similitudes muy grandes con la hemoglobina de los glóbulos rojos de los vertebrados.

Otros organismos, en particular las plantas que poseen un metabolismo de fijación del CO_2 del tipo C4, producen un aumento local de la concentración del CO_2 , para favorecer la reacción de fijación biológica. En general, estos mecanismos incluyen una etapa de fijación transitoria del gas. Más adelante en este teórico se analizará en detalle este tipo de mecanismos.

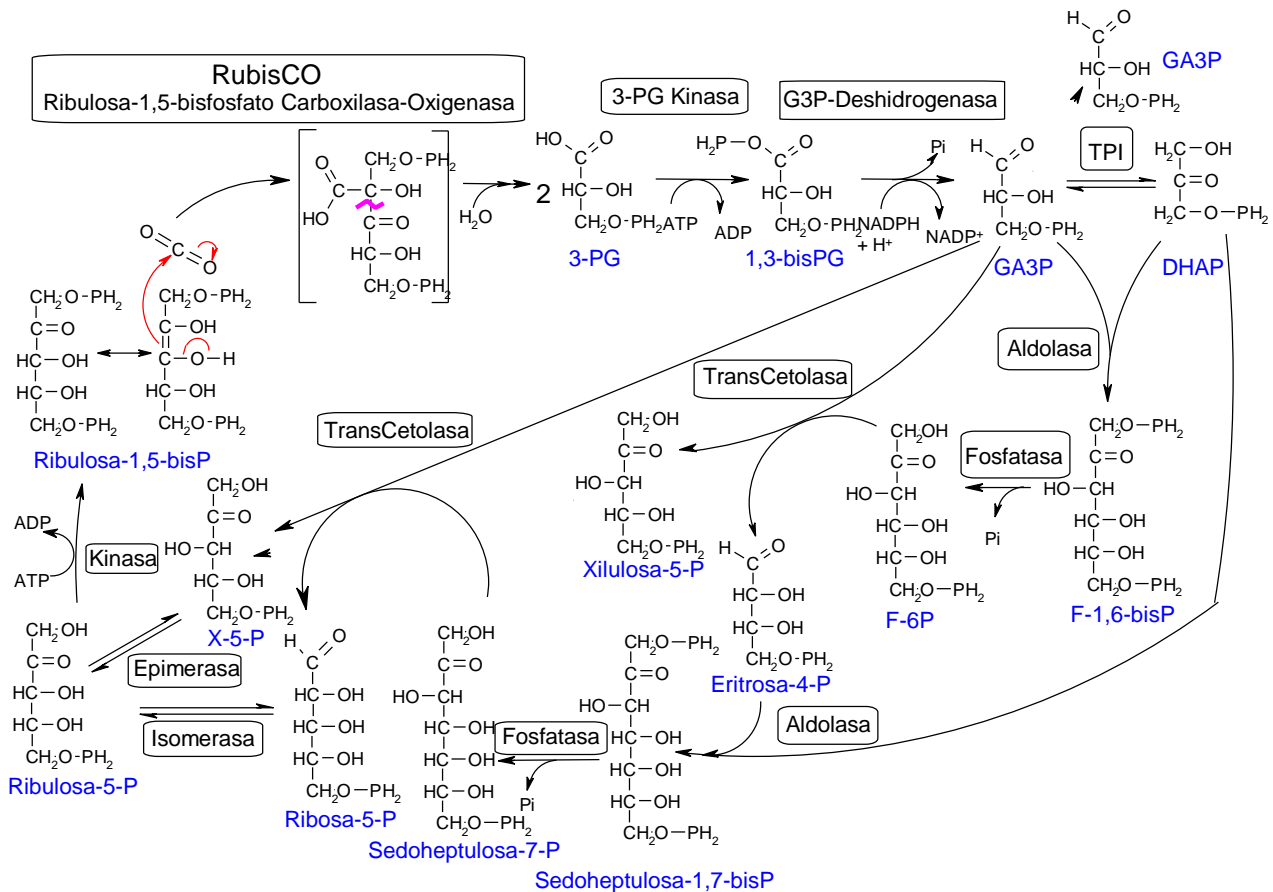
Ciclo de Calvin. Las reacciones que se utilizan en la mayoría de los organismos fotosintéticos para fijar el CO_2 conforman una ruta metabólica cíclica que recibe, en honor a su descubridor, el nombre de ciclo de Calvin o, también, ruta de las pentosas reductiva. Esta última denominación proviene de una serie de reacciones que permiten regenerar el primer sustrato del ciclo, que son muy parecidas a la anteriormente analizada ruta de las pentosas fosfato, aunque vistas en sentido contrario.

La verdadera reacción de fijación de CO_2 es la catalizada por la RubisCO, el resto de las reacciones que vamos a analizar ahora se utilizan para regenerar la molécula de sustrato que reaccionó con el CO_2 , la ribulosa-1,5-bisfosfato, y para obtener una molécula orgánica como producto neto de la fijación.

Para comprender mejor esta serie de reacciones es conveniente dividir su estudio en dos etapas. La primera de ellas corresponde a un conjunto de reacciones idénticas a las reacciones de la gluconeogénesis entre 3-fosfoglicerato (el producto de la actividad carboxilasa de la RubisCO) y el gliceraldehido-3-fosfato. La segunda etapa implica interconversiones entre azúcares-fosfato similares (con pequeñas diferencias) a las que vimos en la ruta de las pentosas fosfato, y que, en este caso, permiten la regeneración de la ribulosa a partir del gliceraldehido.

Primera etapa. Como se muestra en la figura siguiente, el 3-fosfoglicerato, es convertido en gliceraldehido-3-fosfato por medio de las enzimas fosfoglicerato kinasa y gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa. La primera de las reacciones es dependiente de ATP y la segunda de NADPH. Por este par

de reacciones un ácido orgánico es convertido en un aldehído, con los demás carbonos en la misma configuración química. Veremos más adelante en el curso que en casi todas las reacciones metabólicas en las que se requiere convertir un ácido en un aldehído se utiliza un mecanismo similar a este. Primero el ácido se fosforila a expensas del ATP y luego el grupo acil-fosfato, generado en la reacción anterior, es reducido por el NADH o el NADPH para generar el aldehído correspondiente.

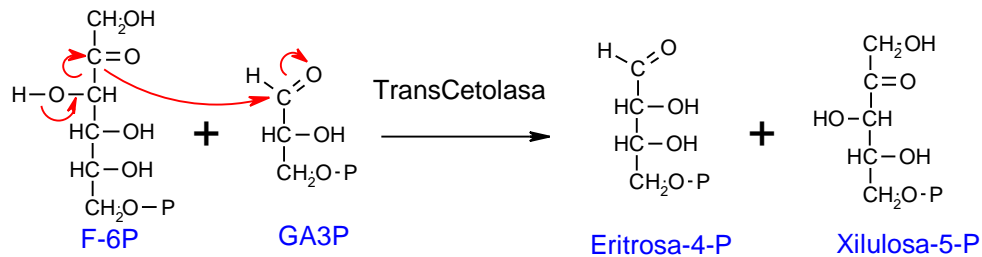


Segunda etapa. En la segunda etapa el gliceraldehído (una triosa) es convertido en Ribulosa-5-fosfato (una pentosa) la que luego será fosforilada para regenerar el sustrato de la RubisCO. Para que la reacción de interconversión sea estequiométrica, debemos utilizar al menos 5 moléculas de gliceraldehído (15 carbonos totales) para obtener 3 moléculas de Ribulosa (15 carbonos totales). Este conjunto de reacciones incluyen pocas enzimas, entre ellas tres isomerasas y otro grupo de tres enzimas (una aldolasa, una fosfatasa y una transcetolasa). Estas últimas actúan en serie un par de veces. Tanto la aldolasa como la transcetolasa tienen como sustratos a dos azúcares. Siempre uno de ellos es una aldosa y el otro una cetosa. En la aldolasa la cetosa es la dihidroxiacetona-fosfato y en la transcetolasa la aldosa es el gliceraldehído-3-fosfato.

Primero el gliceraldehído-3-fosfato, se isomeriza a dihidroxiacetona-fosfato por medio de la misma isomerasa que existe en la glucólisis/gluconeogénesis. De aquí en adelante actúan el grupo de tres

enzimas en serie un par de veces. La primera de ellas es la aldolasa que convierte el gliceraldehido-3-fosfato y la dihidroxiacetona-fosfato en una fructosa-1,6-bisfosfato. Esta es una diferencia entre esta ruta y la ruta de las pentosas fosfato en sentido oxidativo, en la cual en lugar de una aldolasa actúa una transaldolasa. Por lo mismo, en esta ruta, el producto que se obtiene de la enzima se encuentra bis-fosforilado, mientras que en la ruta oxidativa no. La siguiente reacción, que corresponde a la eliminación del fosfato unido al carbono-1 en el azúcar bis-fosforilado, es catalizada por una enzima fosfatasa y produce fructosa-6-fosfato. Estas dos últimas reacciones son también equivalentes a las reacciones gluconeogénicas, por lo que, hasta aquí, el 3-fosfoglicerato fue convertido en fructosa-6-fosfato por medio de reacciones idénticas a las de la gluconeogénesis.

Ahora la fructosa-6-fosfato es utilizada como sustrato por la transcetolasa. Como dijimos antes esta enzima tiene dos sustratos, una aldosa (siempre el gliceraldehido-3-fosfato) y una cetosa (en este caso la fructosa-6-fosfato). El



mecanismo de la reacción, tal como vimos en la ruta de las pentosas fosfato, implica la transferencia de los dos carbonos superiores de la cetosa, sobre el carbono aldehídico del gliceraldehido utilizando un intermediario unido a la coenzima pirofosfato de tiamina. Uno de los productos (el que contiene los carbonos del gliceraldehido) será siempre la Xilulosa-5-fosfato. El otro de los productos corresponde a la aldosa, en este caso la eritrosa-4-fosfato, que contiene el resto de los carbonos de la cetosa original.

De estos dos productos, la Xilulosa-5-fosfato se convierte en Ribulosa-5-fosfato por medio de una reacción catalizada por una epimerasa que modifica la conformación del carbono 3 de las pentosas. El otro producto, la eritrosa-4-fosfato, sufre las mismas modificaciones que sufrió la fructosa-6-fosfato. O sea es modificado por la acción del conjunto de tres enzimas, primero la aldolasa, segundo la fosfatasa y finalmente la transcetolasa nuevamente.

La primera de estas reacciones, la de la aldolasa, tiene como sustratos a la eritrosa (aldosa) y a la dihidroxiacetona-fosfato (cetosa que es el sustrato obligado de las aldolasas). El producto de la reacción entre una aldosa de 4 carbonos y una cetosa de 3, es la cetosa, bisfosforilada de 7 carbonos denominada sedoheptulosa-1,7-bisfosfato. Esta se desfosforila en el carbono 1 y luego sirve como sustrato para la transcetolasa. La transferencia del grupo de 2 carbonos mencionado antes nuevamente sobre el gliceraldehido-3-fosfato rinde una nueva molécula de Xilulosa-5-fosfato que por epimerización se convierte en Ribulosa-5-fosfato. El otro de los productos de la segunda reacción de la transcetolasa corresponde a la aldosa que contiene el resto de los átomos de carbono de la sedoheptulosa. En este caso son 5 los átomos en cuestión y por lo mismo la aldosa es una pentosa, que tiene sus tres oxhidrilos

unidos a carbonos anoméricos ubicados hacia la derecha. Esta pentosa es la Ribosa-5-fosfato.

Una enzima denominada pentosa-fosfato isomerasa (que posee un mecanismo análogo a otras isomerasas, como la hexosafosfato isomerasa que convierte glucosa-6-fosfato en fructosa-6-fosfato, o como la triosafosfato isomerasa que interconvierte el gliceraldehido-3-fosfato en dihidroxiacetona-fosfato), convierte a la Ribosa-5-fosfato en Ribulosa-5-fosfato.

Finalmente una kinasa utiliza un ATP para fosforilar el carbono 1 de la Ribulosa-5-fosfato para regenerar el sustrato de la RubisCO, la Ribulosa-1,5-bisfosfato y cerrar el ciclo.

Volviendo al análisis de la estequiometría del ciclo, si consideramos que la ecuación más sencilla es en la que intervienen al menos 5 moléculas de gliceraldehidos-3-fosfato y 3 moléculas de pentosas-fosfato, necesitamos considerar, de mínima la incorporación de 3 moléculas de CO₂ en la primera de las reacciones.

Así la repetición por tres veces de la reacción de la RubisCO rendiría 6 moléculas de 3-fosfoglicerato, las que gastando 6 moléculas de ATP y 6 moléculas de NADPH se convierten en 6 moléculas de gliceraldehido 3-fosfato. De estas, dijimos que son necesarias 5 moléculas para regenerar las tres de Ribulosa que reaccionaron con el CO₂. La molécula restante de gliceraldehido-3-fosfato es el rendimiento neto del ciclo. Esto tiene su lógica si consideramos que estamos incorporando 3 átomos de carbono al ciclo como CO₂ y los estamos obteniendo como la molécula de azúcar más simple posible, el gliceraldehido, de 3 átomos de carbono. Por medio de las isomerasas (epimerasa incluida) y de la aldolasa, la fosfatasa y la transcetolasa, las 5 moléculas de gliceraldehido se terminan convirtiendo en 3 moléculas de Ribulosa-5-fosfato. Para ello, 2 moléculas de gliceraldehido se isomerizan a dihidroxiacetona-fosfato. Una de las dihidroxiacetonas reacciona con un gliceraldehido para producir la fructosa. De esta manera quedan en el ciclo 2 moléculas de gliceraldehido y 1 de dihidroxiacetona. La fructosa reacciona con otro gliceraldehido (quedan 1 gliceraldehido y una dihidroxiacetona) para dar una pentosa y la eritrosa. Esta última reacciona con la última molécula de dihidroxiacetona restante y produce la sedoheptulosa, que consume el último de las 5 moléculas de gliceraldehido y produce dos pentosas-fosfato. Finalmente todas las pentosas-fosfato son transformadas en Ribulosa-5-fosfato por isomerización o por epimerización.

Finalmente, las tres moléculas de Ribulosa-5-fosfato consumen 3 moléculas más de ATP para convertirse en las tres moléculas originales de Ribulosa-1,5-bisfosfato. La reacción neta del ciclo de Calvin, sin considerar las moléculas de H₂O podría escribirse como sigue:



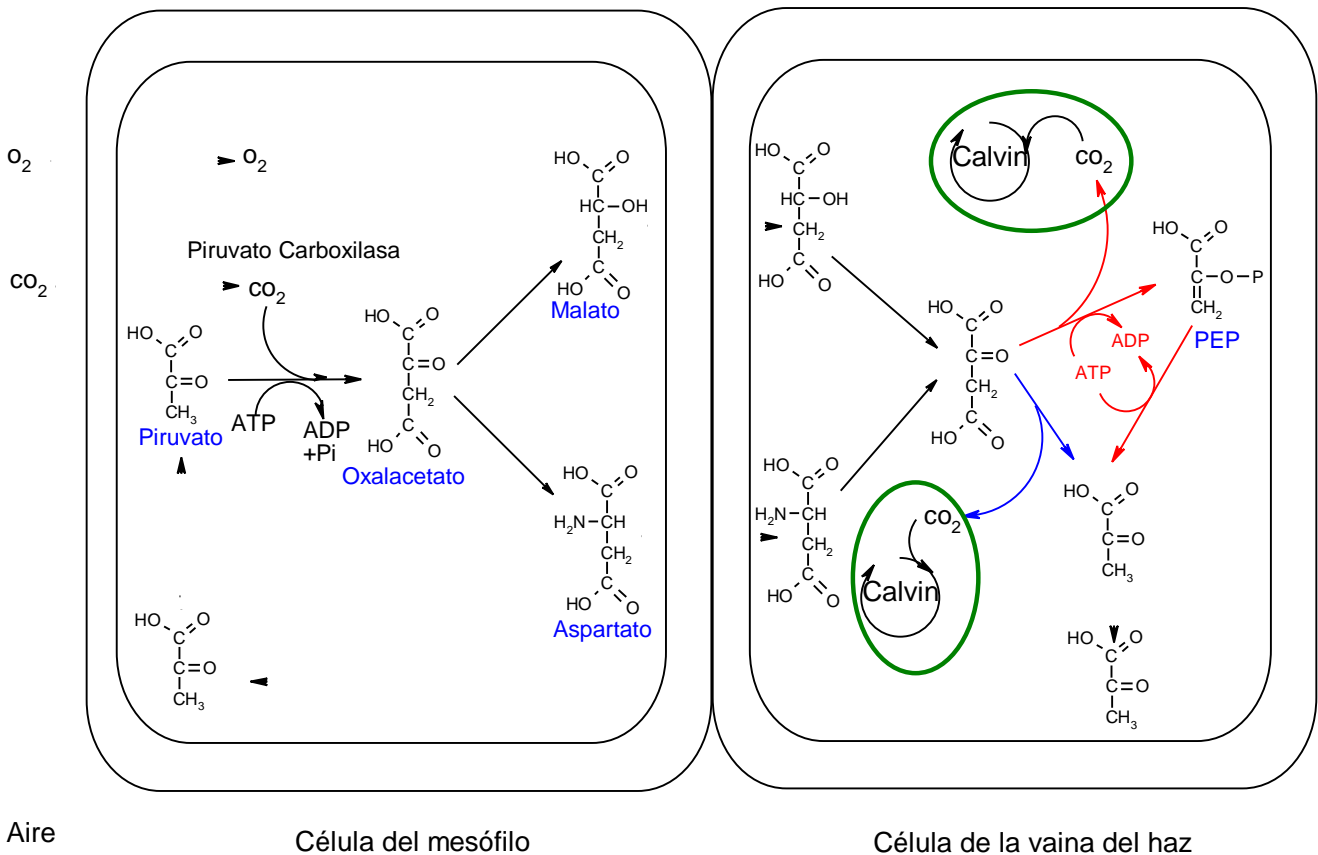
Esto nos permite calcular el gasto energético para producir la fijación de una única molécula de CO₂, el que corresponde a la tercera parte del gasto representado en la ecuación global. O sea para fijar un átomo de CO₂ se deben

gastar 3 enlaces de alta energía del ATP y consumir 2 equivalentes de poder reductor en la forma de NADPH.

XIV. Ruta del C4 y CAM

Plantas C4. Los organismos que como único mecanismo de fijación de CO₂ utilizan el ciclo de Calvin que describimos en la sección anterior se conocen con el nombre de organismos C3, debido a que el primer compuesto de carbono que aparece como producto de la fijación es un compuesto de 3 carbonos, el 3-fosfoglicerato.

Como mencionamos en la sección donde describimos la actividad de la RubisCO, hay algunos organismos (por ahora sólo se conocen plantas que lo realicen) que favorecen la reacción de carboxilación por encima de la de oxigenación provocando un aumento de la concentración local del CO₂. Este aumento se produce en el sitio donde se realiza el ciclo de Calvin. Para ello, estas plantas poseen un sistema de células con actividades diferenciales en sus hojas. Sólo las células más internas que no están en contacto directo con la atmósfera poseen cloroplastos y por lo mismo pueden realizar la ruta de Calvin. Las células más externas, en contacto con la atmósfera, son capaces de fijar el CO₂ sólo transitoriamente sobre un compuesto de 3 carbonos. El producto de esta reacción, será entonces, un ácido orgánico de 4 carbonos. Por esta razón Las plantas que poseen este mecanismo de fijación biológica reciben el nombre de C4.



El compuesto de 3 carbonos sobre el que se produce la fijación transitoria de CO_2 puede ser, como se muestra en la figura de arriba, el piruvato. Este, por medio de la reacción de la piruvato carboxilasa, tal como vimos en la gluconeogénesis, se convierte en oxalacetato, con el gasto de una molécula de ATP.

En algunas plantas, como el maíz o la caña de azúcar, la reacción inicial se produce sobre el fosfoenolpiruvato, que se convierte también en oxalacetato aunque sin gasto de energía. Sin embargo el fosfoenolpiruvato, en estas células es regenerado a partir de piruvato por un mecanismo especial donde se consumen dos enlaces de alta energía del ATP para dar AMP.

En definitiva, el oxalacetato es transportado activamente a través de las membranas de las células externas (denominadas del mesófilo) hacia las células internas (o de la vaina del haz) que están en contacto con los vasos de la planta. Este transporte requiere de proteínas de membrana específicas que conecten la célula del mesófilo con las más internas de la vaina del haz. En realidad, no es el oxalacetato el que se transporta entre las células por la simple razón que la concentración intracelular del mismo es en general muy baja y por lo mismo, su transporte sería muy lento. El oxalacetato es reducido a malato o, alternativamente, transaminado a aspartato en diferentes plantas C4. El malato o el aspartato son transportados hacia las células internas de la hoja, donde son reconvertidos en oxalacetato utilizando la reacción inversa a la de su síntesis. Como coproducto de este transporte, la célula del mesófilo también pasa a la célula del interior equivalentes de poder reductor (en el caso de que la molécula transportada sea el malato) o de aminos orgánicos (en el caso de que la molécula transportada sea el aspartato). Esto es así, porque por ejemplo en el caso del malato, en la célula del mesófilo se consume un equivalente de poder reductor para generar malato, y, en la célula de la vaina del haz, el malato es convertido a oxalacetato, liberando ese equivalente de poder reductor consumido antes. Cualquiera de estos coproductos pueden ser utilizados en las rutas biosintéticas de la célula de la vaina del haz.

En la célula de la vaina del haz, el oxalacetato es descarboxilado para regenerar un compuesto de 3 carbonos (en general fosfoenolpiruvato), que termina convirtiéndose en piruvato. Este proceso no consume energía en forma neta. Hay algunas células que poseen una enzima que es capaz de descarboxilar directamente el malato hasta piruvato, con la producción de NADPH. La suma de reacciones es la misma que en el caso anterior. Finalmente el piruvato termina siendo transportado hacia la célula del mesófilo donde está listo para comenzar otro ciclo de fijación.

Independientemente de la estrategia particular de cada uno de estos vegetales, lo que todos comparten es la posibilidad de transportar activamente al CO_2 , utilizando un mecanismo que gasta energía e involucra el transporte a través de las membranas plasmáticas involucradas de diferentes ácidos orgánicos, hasta un sitio en el organismo donde su concentración sea más elevada que la que se encuentra en la atmósfera. En estas células interiores la concentración del O_2 es necesariamente baja, ya que este gas solo puede llegar hasta allí, atravesando una gran cantidad de membranas donde no existen transportadores específicos para el mismo. De esta manera, la planta acopla un mecanismo que consume energía para generar en el interior del vegetal una atmósfera diferente con un alto contenido en CO_2 y un bajo

contenido en O_2 . Una vez que el CO_2 es liberado en la célula de la vaina del haz, es fijado por medio de las reacciones del ciclo de Calvin en los cloroplastos de estas células.

Plantas CAM. Las Crauseláceas (los cactus por ejemplo) son plantas tropicales que soportan la vida en temperaturas ambientes muy altas, en particular durante el día. Durante el día, cuando la ruta de fijación de CO_2 por medio del ciclo de Calvin está en funcionamiento debido a que tiene energía suficiente (aportada por la fase clara de la fotosíntesis), no pueden intercambiar gases con el ambiente. Esto es debido a que para que el intercambio de gases exista, estas plantas abren los estomas (poros especializados) de sus hojas. Si esta apertura ocurre durante el día, debido a las altas temperaturas, las plantas se deshidratarían.

Por lo mismo, estas plantas están obligadas a incorporar el CO_2 a temperaturas bajas, durante la noche, en un momento donde el ciclo de Calvin no funciona. Por ello, la fijación inicial del CO_2 , durante la noche, es transitoria y, de la misma manera que en las plantas C4, se realiza sobre el piruvato, con producción de oxalacetato. En estas plantas el oxalacetato es convertido en malato, el que es acumulado activamente en una vacuola especial que ocupa casi el 90% del volumen celular. En esta vacuola la concentración de malato llega a ser de hasta 0,1M. El malato es eliminado de esta manera del citosol donde un aumento de su concentración hasta esos niveles podría modificar el equilibrio osmótico de la célula vegetal.

Durante el día, el malato es extraído de la vacuola y después de su conversión en oxalacetato es descarboxilado para regenerar durante el día, en el interior de la célula, el CO_2 que fuera captado durante la noche.

Este CO_2 termina siendo fijado por la ruta de Calvin en los cloroplastos de las células de las plantas CAM (nombre que proviene de “metabolismo ácido de las crauseláceas”) de la misma forma que en las plantas C3 o C4.