

Trasporto ciclico di elettroni nel cloroplasto

I. INTRODUZIONE

La fotosintesi è il processo che converte l'energia luminosa in energia chimica e avviene all'interno del cloroplasto, organello tipico delle cellule vegetali.

La fase luminosa della fotosintesi ha luogo nelle membrane tilacoidali del cloroplasto e consiste nel trasferimento di elettroni dall'acqua al NADP^+ , con conseguente formazione di potere riducente (NADPH), produzione di ossigeno molecolare (O_2) e rilascio di protoni nel lume tilacoidale (H^+) (Arnon, 1991; Arnon et al., 1954; Hill e Bendall, 1960). Questo processo prende il nome di trasporto lineare di elettroni (LET) e coinvolge due reazioni fotochimiche che hanno luogo a livello del Fotosistema II (PSII) e del Fotosistema I (PSI) (fig. 1). Gli elettroni ottenuti dall'ossidazione dell'acqua, catalizzata dal PSII, sono trasferiti ai plastochinoni (PQ), al citocromo b_6f (Cyt b_6f) e quindi sono utilizzati per ridurre la plastocianina (PC). Successivamente, la plastocianina è ossidata dal PSI e gli elettroni sono trasferiti alla Ferredossina (Fd) per la produzione di NADPH grazie all'enzima Ferredossina-NADP⁺ reduttasi (FNR). Il trasporto lineare di elettroni genera, contemporaneamente, un gradiente protonico attraverso la membrana tilacoidale (ΔpH), che è utilizzato dal complesso proteico ATP-sintasi (ATPase) per produrre ATP (per una rassegna si veda Shikanai, 2007). NADPH e ATP sono, quindi, i prodotti primari della fase luminosa della fotosintesi e sono soprattutto utilizzati per la fissazione dell'anidride carbonica (CO_2), attraverso il ciclo di Calvin-Benson, nello stroma del cloroplasto. Si stima che in piante a metabolismo C3 occorra un rapporto ATP/NADPH pari a 1.66 per fissare l'anidride carbonica, mentre

* Dipartimento di Bioscienze, Università di Milano

la membrana tilacoidale e quindi produrre ATP, senza accumulare NADPH.

Seppur il trasporto ciclico di elettroni è noto da oltre 50 anni (Arnon et al., 1954; Arnon et al., 1958), alcune delle proteine coinvolte in questo processo sono state individuate soltanto di recente, grazie a studi di genomica funzionale eseguiti sulle piante modello *Arabidopsis thaliana* e *Nicotiana tabacum* (per una rassegna si veda Shikanai, 2007). A oggi si conoscono due vie parzialmente ridondanti del trasporto ciclico di elettroni intorno al PSI: i) la via dipendente dalla Ferredossina e inibita da Antimicina A; ii) la via dipendente dal complesso della NAD(P)H deidrogenasi (NDH) (fig. 1).

In questo manoscritto cercheremo di fornire un quadro, il più possibile esaustivo, dello stato dell'arte della ricerca sul trasporto ciclico di elettroni, insieme a possibili impieghi biotecnologici per migliorare l'efficienza fotosintetica e quindi la produttività delle piante superiori.

2. LE PROTEINE COINVOLTE NEL TRASPORTO CICLICO DI ELETTRONI DIPENDENTE DALLA FERREDOSSINA E SENSIBILE ALL'ANTIMICINA A

I primi lavori in cui sono riportati dati che evidenziano l'esistenza di un trasporto tilacoidale di elettroni responsabile di sintetizzare ATP, senza produzione di O₂ e NADPH, risalgono al 1954 grazie alle ricerche di Daniel I. Arnon (Arnon et al., 1954). Soltanto nel 1958, tuttavia, lo stesso autore parlerà per la prima volta di trasporto ciclico di elettroni (Arnon et al., 1958).

Successivamente nel 1963, Arnon insieme ai suoi collaboratori individuerà il ruolo essenziale della Ferredossina nel trasporto ciclico di elettroni oltre a sottolineare l'importanza del citocromo *b₆f* e il fatto che il trasporto ciclico mediato dalla Ferredossina è inibito da un metabolita secondario prodotto da batteri del genere *Streptomyces* che prende il nome di Antimicina A (AA) (Tagawa et al., 1963) (fig. 1).

2.1 La scoperta della proteina "Protein Gradient Regulation 5" (PGR5)

Dovranno passare quasi 40 anni per arrivare a conoscere i primi dettagli molecolari alla base del trasporto ciclico di elettroni sensibile all'Antimicina A (Shikanai et al., 1999; Munekage et al., 2002). Questo importante risultato è ottenuto grazie a uno screening messo a punto da Toshiharu Shikanai, basato sull'individuazione di mutanti di *Arabidopsis* caratterizzati da un ridotto smorzamento della fluorescenza emessa dalla clorofilla (Non-Photochemical

Quenching, NPQ; Shikanai et al., 1999). In particolare, sulla base della considerazione che lo smorzamento della fluorescenza è indotto dall'acidificazione del lume tilacoidale e che anche il trasporto ciclico contribuisce a creare il gradiente protonico che attraversa la membrana tilacoidale, Shikanai insieme ai suoi collaboratori intuirono che l'individuazione di mutanti alterati nel meccanismo di fotoprotezione NPQ (Demmig-Adams et al., 1996; Niyogi et al., 2005), possa portare all'individuazione di geni e proteine coinvolti nel trasporto ciclico di elettroni. Il mutante di *Arabidopsis pgr5* (Munekage et al., 2002), infatti, oltre a essere caratterizzato da un ridotto NPQ, mostra le stesse caratteristiche di piante selvatiche di *Arabidopsis* trattate con Antimicina A. In particolare, il rapporto P700⁺/P700 (centro di reazione del PSI ossidato/ridotto) è più basso nel mutante *pgr5* rispetto al controllo selvatico e tale rapporto può essere ripristinato al valore di controllo per aggiunta di Metil-Viologeno, un accettore artificiale di elettroni provenienti dal PSI. Inoltre, l'assenza della proteina PGR5 non altera in alcun modo il trasporto lineare di elettroni, indicando chiaramente che PGR5 è coinvolta nella via di trasporto ciclico di elettroni sensibile all'Antimicina A e alternativa al trasporto lineare (fig. 2). Ulteriori analisi hanno dimostrato che PGR5 è una proteina estrinseca associata alla membrana tilacoidale e coinvolta nel trasferimento di elettroni dalla Ferredossina ai plastochinoni, quindi nella via del trasporto ciclico identificata da Arnon nel 1954.

2.2 La scoperta della proteina "Protein Gradient Regulation 5-Like 1" (PGRL1)

Alcuni anni dopo la scoperta di PGR5, il gruppo di ricerca coordinato da Dario Leister, presso la Ludwig-Maximilians-Universität di Monaco, Germania, individua una nuova proteina coinvolta nel trasporto ciclico di elettroni sensibile all'Antimicina A (DalCorso et al., 2008). Si tratta della proteina PGRL1, chiamata in questo modo in quanto il fenotipo del mutante corrispondente *pgr1* era del tutto simile al fenotipo delle piante prive di PGR5. Il gruppo identifica i due geni di *Arabidopsis*, codificanti la proteina PGRL1 (*PGRL1a* e *PGRL1b*), grazie a studi di trascrittomici e alla definizione di "regoloni", intesi come gruppi di geni la cui espressione è altamente co-regolata, anche in condizioni molto diverse tra loro. In particolare, i dati di trascrittomici indicano che i due geni *PGRL1a* e *PGRL1b* sono espressi in modo del tutto simile a *PGR5* e fanno parte di un regolone che contiene gran parte dei geni nucleari codificanti proteine cloroplastiche coinvolte nella fase luminosa della fotosintesi (Biehl et al., 2005). Pertanto, il coinvolgimento di PGRL1 nella fotosintesi, e più in par-

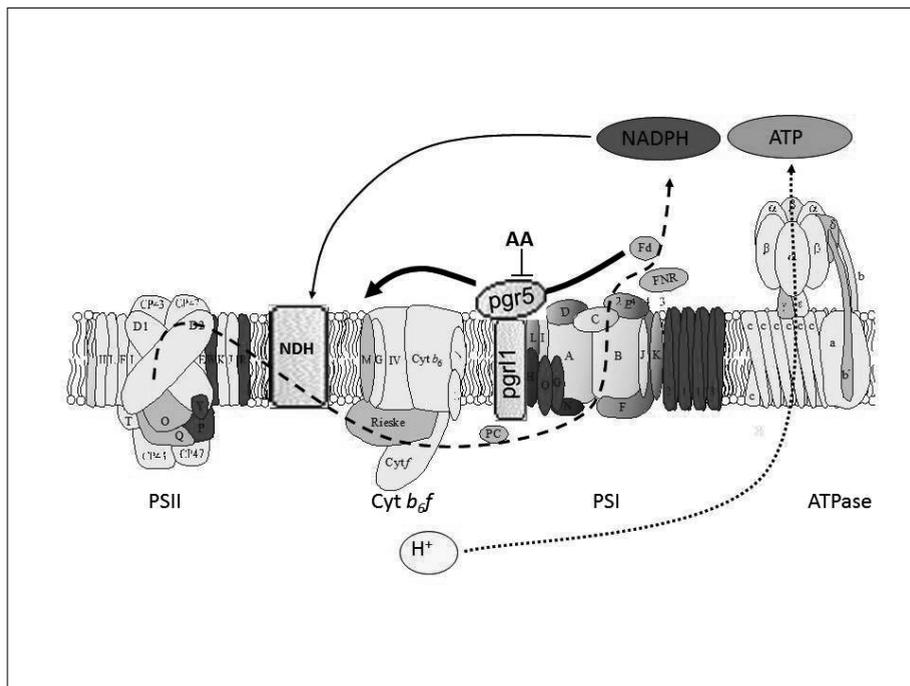


Fig. 2 Schema raffigurante i principali complessi proteici presenti nelle membrane tilacoideali così come descritto in figura 1. PGRL1 e PGR5 sono le due proteine coinvolte nel trasporto ciclico di elettroni mediato dalla Ferredossina e sensibile all'Antimicina A, sino a ora identificate

icolare nel trasporto ciclico di elettroni, è facilmente ipotizzabile. Infatti, al pari del mutante PGR5, anche il doppio mutante *pgr1lab* è caratterizzato da un ridotto NPQ e da un basso rapporto P700⁺/P700. Inoltre, le quantità di PGRL1 e PGR5 aumentano in mutanti di Arabidopsis con un alto tasso di trasporto ciclico, a testimonianza del fatto che la proteina PGRL1, così come PGR5, è coinvolta nel trasporto ciclico sensibile all'Antimicina A (fig. 2). Ulteriori studi biochimici, dimostrano che PGRL1 è una proteina intrinseca di membrana e la sua presenza è indispensabile per l'accumulo di PGR5 (DaCorso et al., 2008). Inoltre, il complesso proteico PGRL1-PGR5 interagisce in lievito con altre proteine coinvolte nel trasporto ciclico, tra cui il citocromo *b₆*, la subunità D del PSI, la Ferredossina e la Ferredossina NADP⁺ Reduttasi, a supporto del fatto che la formazione di un complesso multiproteico, localizzato prevalentemente nelle lamelle stromatiche dei tilacoidei, è alla base del trasporto ciclico di elettroni sensibile all'Antimicina A. Tuttavia questo complesso multiproteico non è stato ancora individuato *in planta*. Più di recente, studi eseguiti sull'alga

modello *Chlamydomonas reinhardtii* hanno evidenziato la capacità di PGRL1 di agire contemporaneamente sia da sensore per il Ferro che da modulatore del trasporto ciclico di elettroni (Petroustos et al., 2009), insieme al fatto che la sua attività potrebbe essere regolata da una modificazione post-traduzionale (fosforilazione) mediata dalla chinasi STN8 (Reiland et al., 2011; Bonardi et al., 2005).

2.3 Isolamento del complesso multiproteico responsabile del trasporto ciclico di elettroni nell'alga verde *Chlamydomonas reinhardtii*

Il complesso multiproteico alla base del trasporto ciclico di elettroni, la cui esistenza è stata ipotizzata nella pianta modello *Arabidopsis thaliana*, è stato recentemente isolato nell'alga unicellulare *C. reinhardtii* (Iwai et al., 2010). Seppur il trasporto ciclico in *Chlamydomonas* presenta delle peculiarità rispetto alle piante superiori, in quanto coinvolge un ulteriore processo fotoprotettivo conosciuto come "Transizioni di Stato", che ha l'obiettivo di bilanciare l'energia assorbita dai due fotosistemi, attraverso la migrazione di parte dell'antenna del PSII verso il PSI (Finazzi et al., 2002), la composizione del complesso multiproteico isolato in *Chlamydomonas* è del tutto simile a quella ipotizzata in *Arabidopsis*. In particolare, esso contiene subunità del PSI (PsaA/B, PsaD, PsaE, PsaF) e dell'antenna del PSI (LHCI), insieme al citocromo b_6 , il citocromo f , la subunità Rieske (PetC), l'enzima FNR e la proteina PGRL1. Tuttavia, la proteina PGR5 e la Ferredossina non sono state individuate nel complesso isolato, molto probabilmente a causa delle interazioni troppo deboli di queste due proteine con il resto delle subunità.

3. LE PROTEINE COINVOLTE NEL TRASPORTO CICLICO DI ELETTRONI DIPENDENTE DAL COMPLESSO NDH

La seconda via di trasporto ciclico di elettroni intorno al PSI, individuata nelle piante superiori, dipende dall'attività del complesso cloroplastico indicato come NAD(P)H deidrogenasi (NDH). Una delle caratteristiche più sorprendenti dei genomi cloroplastici, infatti, è la presenza di 11 geni, indicati come *ndhA-ndhK*, che codificano proteine omologhe alle subunità che compongono la NADH deidrogenasi mitocondriale, conosciuta anche come Complesso I (Shinozaki et al., 1986; Matsubayashi et al., 1987; Ohyama et al., 1988; Sugiura, 1992). La funzione di queste subunità e il loro coinvolgimento nel tra-

sporto ciclico di elettroni è stata studiata in dettaglio a partire dagli anni '90, grazie alla disponibilità di protocolli per la trasformazione del genoma cloroplastico della specie modello *Nicotiana tabacum* (Burrows et al., 1998; Kofler et al., 1998; Shikanai et al., 1998). Le diverse linee silenziata in ciascuno degli 11 geni non mostravano l'emissione transiente di fluorescenza subito dopo lo spegnimento della luce, tipica invece delle foglie selvatiche di tabacco. Questa alterazione indicava chiaramente che il complesso NDH è in grado di trasferire gli elettroni, presenti come potere riducente nello stroma del cloroplasto, al pool dei plastochinoni e quindi, attraverso il citocromo b_6/f_e la plastocianina, al PSI dando vita alla via alternativa di trasporto ciclico di elettroni. Il complesso NDH del cloroplasto può essere suddiviso in 4 diversi subcomplessi multiproteici che prendono il nome di subcomplesso di membrana, subcomplesso A, subcomplesso B, e subcomplesso del lume, ciascuno con una specifica funzione nell'ambito del trasporto ciclico di elettroni (per una rassegna si veda Peng et al., 2011).

In particolare, il subcomplesso di membrana è formato da sette subunità, NdhA-NdhG che hanno il compito di accettare elettroni dal NADPH e contemporaneamente trasportare protoni nel lume dei tilacoidi (Peng et al., 2009). Si calcola che per ogni 2 elettroni trasferiti dal NADPH al subcomplesso di membrana, 4 protoni siano pompati all'interno del lume tilacoidale. A questi si devono aggiungere altri 4 protoni trasferiti dallo stroma al lume tilacoidale a seguito del ciclo Q dei plastochinoni, per un rapporto finale elettroni:protoni trasferiti pari a 1:4 (Efremov et al., 2010).

Le subunità del subcomplesso A, NdhH-NdhO, formano invece il sito di legame per il plastochinone (Efremov et al., 2010), mentre meno chiara è la funzione delle subunità del subcomplesso B (NDF1, 2, 4, 6, NDH18) e del subcomplesso del lume (PPL2, CYP20-2, FKBP16-2), sebbene alcune evidenze sperimentali punterebbero a un ruolo chiave nell'accumulo e assemblaggio del complesso NDH (per una rassegna si veda Peng et al., 2011).

Come evidenziato nel caso del complesso PGR5-PGRL1 in *Chlamydomonas*, analisi immunologiche e di spettrometria di massa hanno evidenziato la presenza in *Arabidopsis* e mais di un supercomplesso proteico formato dall'interazione del complesso NDH con PSI (Peng et al., 2009).

4. LA FISIOLOGIA DEL TRASPORTO CICLICO DI ELETTRONI NELLE PIANTE SUPERIORI

Come già descritto nei paragrafi precedenti, esistono chiare evidenze bio-

chimiche e spettroscopiche che supportano l'esistenza di due vie distinte del trasporto ciclico di elettroni: la via dipendente da PGR5-PGRL1 e quella mediata dal complesso NDH. Inoltre, appare chiaro che queste due vie abbiano ruoli distinti e siano regolate in modo diverso, seppur una parziale ridondanza non può essere esclusa.

Spesso il trasporto ciclico dipendente dal complesso NDH è stato considerato trascurabile in piante a metabolismo C3 in quanto la quantità del complesso è molto bassa rispetto alle altre componenti del trasporto di elettroni (Johnson, 2011). A supporto di ciò, mutanti alterati nell'attività del complesso NDH non mostravano alcun difetto fotosintetico, diversamente da quanto osservato in piante prive del complesso PGR5-PGRL1 (DalCorso et al., 2008; Munekage et al., 2002). Tuttavia, mutanti di *Arabidopsis* alterati contemporaneamente nelle due vie del trasporto ciclico sono caratterizzati dal trasporto lineare di elettroni decisamente alterato e di conseguenza mostrano un tasso di crescita e un contenuto in pigmenti ridotti, a dimostrazione del fatto che il trasporto ciclico di elettroni riveste un ruolo fisiologico molto importante nelle piante superiori (Munekage et al., 2004).

4.1 *Funzione fotoprotettiva*

Sia i mutanti alterati nel complesso NDH, che privi delle proteine PGR5 e PGRL1 mostrano una maggiore suscettibilità a stress ambientali a testimonianza del fatto che il trasporto ciclico riveste un ruolo primario nella fotoprotezione. Mutanti di tabacco silenziati nei diversi geni cloroplastici codificanti proteine del complesso NDH sono, infatti, molto suscettibili a condizioni di alta luce (Endo et al., 1999), carenza idrica (Munné-Bosch et al., 2005) e temperature sia basse che elevate (Wang et al., 2006). Inoltre, il mutante privo della proteina PGR5 è stato individuato grazie a uno screening mirato a identificare mutanti alterati nel meccanismo fotoprotettivo NPQ (Shikanai et al., 1999; si veda anche paragrafo 2.1). Pertanto, si può asserire che uno dei ruoli primari del trasporto ciclico è sicuramente quello di generare un gradiente protonico responsabile di indurre la dissipazione termica dell'energia in eccesso attraverso NPQ. Un'altra importante funzione del trasporto ciclico dipendente da PGR5-PGRL1 è quella di proteggere il PSI dalla foto-ossidazione. Piante prive della proteina PGR5 sono, infatti, soggette a danni ossidativi a carico del PSI, se esposte ad alte intensità di luce (Munekage et al., 2002). La spiegazione di ciò risiede nella carenza di accettori alternativi di elettroni provenienti dal PSI che portano a una sovra-

riduzione dell'intero fotosistema e conseguente produzione di radicali ossigeno e danni ossidativi. Molteplici evidenze supportano il ruolo protettivo del trasporto ciclico in condizioni di stress. Clarke e Johnson (2001), ad esempio, hanno dimostrato che il trasporto ciclico di elettroni aumenta in piante di orzo esposte a condizioni di alta luce e basse temperature. Inoltre, aumenti nell'accumulo dei trascritti e delle proteine PGR5 e PGRL1 sono stati osservati in piante di *Arabidopsis* esposte a stress idrico (Lehtimäki et al., 2010) o in mutanti di *Arabidopsis* (*psad1-1* e *psae1-3*) con difetti nel trasporto lineare di elettroni (DalCorso et al., 2008). Prese assieme, tutte queste evidenze indicano chiaramente che il trasporto ciclico nelle piante superiori ha un ruolo molto importante nella protezione da danni ossidativi.

4.2 *Essenziale per la produzione di ATP*

Il dibattito sul possibile ruolo fisiologico del trasporto ciclico nelle piante superiori è stato incentrato, soprattutto, sul suo possibile coinvolgimento nell'aggiustare la stechiometria NADPH/ATP a seconda delle richieste metaboliche del ciclo di Calvin-Benson (Allen, 2003). Oggi, tuttavia, sappiamo che il trasporto ciclico di elettroni e quindi la disponibilità di NADPH/ATP non sono strettamente ed esclusivamente collegate alle necessità del ciclo di Calvin-Benson. Diverse vie metaboliche, oltre al ciclo di Calvin-Benson, competono per la disponibilità di ATP e NADPH all'interno del cloroplasto. Inoltre, è sempre più evidente che il cloroplasto non è isolato energeticamente dal resto della cellula, in quanto ATP e NADPH possono attraversare la doppia membrana plastidiale in entrambe le direzioni a secondo delle necessità dell'intero metabolismo cellulare.

Tuttavia, i fenotipi marcatamente alterati, nonostante siano cresciuti in condizioni ottimali, dei mutanti di *Arabidopsis* privi di entrambe le vie di trasporto ciclico di elettroni indicano chiaramente che il trasporto ciclico ha un ruolo fondamentale nel metabolismo energetico delle piante superiori e quindi nella produzione di ATP (Munekage et al., 2004).

A supporto di ciò, l'esempio che più spesso viene fatto, riguarda il ruolo fondamentale del trasporto ciclico nelle cellule della guaina del fascio, tipiche delle piante caratterizzate dal metabolismo C₄ (Johnson, 2011). In queste piante, la CO₂ è fissata nelle cellule del mesofillo sotto forma di uno zucchero a 4 atomi di carbonio, il malato, che è poi trasferito alle cellule della guaina del fascio dove è decarbossilato e la CO₂ è rilasciata in prossimità della RUBISCO che provvederà a fissarla attraverso il ciclo di Calvin-Benson. Durante questo processo

la decarbossilazione del malato produce NADPH nelle cellule della guaina del fascio con un rapporto NADPH:CO₂ pari a 1 e il trasporto ciclico di elettroni nella guaina del fascio, dove l'attività del PSII e quindi il trasporto lineare sono drasticamente ridotti, ha lo scopo di bilanciare il rapporto ATP:NADPH (Majeran and van Wijk, 2009). Infatti, sia il complesso NDH che le proteine PGR5-PGRL1 sono molto più abbondanti nelle cellule della guaina del fascio rispetto alle cellule del mesofillo di piante a metabolismo C₄ o nelle foglie di piante C₃ (Munekage et al., 2010; Takabayashi et al., 2005).

Il trasporto ciclico sembrerebbe avere un ruolo molto importante per la produzione di ATP anche in piante cresciute a bassa luce dove il rapporto PSI:PSII è molto alto (Bailey et al., 2001).

In conclusione, molteplici evidenze indicano che il trasporto ciclico ha un ruolo essenziale anche nella produzione di ATP e quindi nell'ottimizzare il rapporto NADPH:ATP in funzione delle necessità metaboliche della cellula e non solo del ciclo di Calvin-Benson.

5. CONCLUSIONI

Grazie alle molteplici evidenze raccolte soprattutto negli ultimi anni per merito di studi di genomica funzionale, possiamo concludere che il trasporto ciclico di elettroni nelle piante superiori ha un ruolo molto importante sia nella protezione da danni ossidativi in condizioni di stress che nella produzione di ATP in condizioni ottimali di crescita. Nei prossimi anni acquisiremo sicuramente molti più dettagli in merito alla regolazione del trasporto ciclico di elettroni e alle proteine e cofattori coinvolti in questo processo. Tali conoscenze saranno di notevole importanza per migliorare la capacità delle piante di adattarsi, innanzitutto, alle diverse condizioni ambientali e proteggersi da danni ossidativi. Inoltre, visto il ruolo fondamentale del trasporto ciclico nelle piante a metabolismo C₄, la comprensione dettagliata di questo processo fornirà sicuramente spunti importanti per raggiungere uno degli obiettivi più ambiziosi che i biotecnologi vegetali di tutto il mondo si sono dati: la trasformazione di piante di interesse agronomico con metabolismo C₃ in piante molto più produttive con metabolismo C₄.

RIASSUNTO

La fase luminosa della fotosintesi ha luogo nelle membrane tilacoidali, all'interno del cloroplasto, e consiste del ben noto trasporto lineare di elettroni, che genera ossigeno

molecolare dall'acqua, ATP e NADPH, e del trasporto ciclico di elettroni che produce soltanto ATP e che per larghi tratti è un processo ancora sconosciuto.

Infatti, nonostante l'esistenza del trasporto ciclico di elettroni sia stata riportata più di 50 anni fa, soltanto negli ultimi 15 anni si è incominciato a comprendere alcuni dei dettagli molecolari alla base di questo processo, grazie soprattutto a studi di genomica funzionale eseguiti sulle piante modello *Arabidopsis thaliana* e *Nicotiana tabacum*. Oggi sappiamo che esistono due vie distinte, e in parte ridondanti, responsabili del trasporto ciclico di elettroni: la via che coinvolge il complesso della NAD(P)H deidrogenasi (NDH) e la via che richiede la presenza del complesso PGR5-PGRL1. Nelle piante con metabolismo C3, il trasporto ciclico mediato da PGR5-PGRL1, dipendente dalla Ferredossina e inibito dall'Antamicina A sembra prevalere sul trasporto ciclico dipendente da NDH, che risulta essere particolarmente attivo nelle cellule della guaina del fascio, tipiche delle piante con metabolismo C4.

Analisi genetiche e fisiologiche hanno permesso di stabilire che il trasporto ciclico di elettroni ha un ruolo molto importante nel proteggere le piante da condizioni ambientali di stress e prevenire danni ossidativi, oltre a ottimizzare la resa fotosintetica. La conoscenza dettagliata di questo processo sarà sicuramente utile per ottenere piante più resistenti agli stress ambientali e più produttive.

ABSTRACT

The light phase of photosynthesis takes place onto the chloroplast thylakoid membranes and is made of the well-known linear electron transport that leads to the production of oxygen from water, ATP and NAD(P)H and of the almost unknown cyclic electron transport around photosystem I, that exclusively generates ATP. Despite the cyclic electron transport has been reported more than 50 years ago, only recently few molecular details of this process have been revealed via functional genomics studies on the model species *Arabidopsis thaliana* and *Nicotiana tabacum*.

Nowadays, it is known that two independent and partially redundant cyclic electron transport pathways exist in higher plant chloroplasts: the NAD(P)H dehydrogenase-dependent pathway (NDH) and the PGR5-PGRL1-dependent pathway.

Plants characterized by C3-metabolism show a high activity of the PGR5-PGRL1-dependent pathway, whereas the NDH-dependent cyclic electron transport is highly active in the vascular bundle sheath cells, typical of C4-plants.

Genetic and physiological analyses have shown that cyclic electron transport plays a major role in protection from environmental stresses, preventing oxidative damages, and in the optimization of photosynthetic performance. It appears clear that the deep knowledge of this process will be extremely useful with respect to biotechnological approaches aimed to obtain plants more resistant to stress conditions and more productive, i.e. through the transformation of C3-plants into plants with a C4 metabolism.

BIBLIOGRAFIA

ALLEN J.F. (2003): *Cyclic, pseudocyclic and noncyclic photophosphorylation: new links in the chain*, «Trends Plant Sci.», 8, pp. 15-19.

- ARNON D.I., ALLEN M.B., WHATLEY F.R. (1954): *Photosynthesis by isolated chloroplasts*, «Nature», 174, pp. 394-396.
- ARNON D.I., ALLEN M.B., WHATLEY F.R. (1958): *Assimilatory power in photosynthesis*, «Science», 127, pp. 1026-1034.
- ARNON D.I. (1991): *Photosynthetic electron transport: Emergence of a concept*, «Photosynth. Res.», 29, pp. 117-131.
- BAILEY S., WALTERS R.G., JANSSON S., HORTON P. (2001): *Acclimation of Arabidopsis thaliana to the light environment: the existence of separate low light and high light responses*, «Planta», 213, pp. 794-801.
- BENDALL D.S., MANASSE R.S. (1995): *Cyclic photophosphorylation and electron transport*, «Biochim. Biophys. Acta», 1229, pp. 23-38.
- BIEHL A., RICHLI E., NOUTSOS C., SALAMINI F., AND LEISTER D. (2005): *Analysis of 101 nuclear transcriptomes reveals 23 distinct regulons and their relationship to metabolism, chromosomal gene distribution and co-ordination of nuclear and plastid gene expression*, «Gene», 344, pp. 33-41.
- BONARDI V., PESARESI P., BECKER T., SCHLEIFF E., WAGNER R., PEANNSCHMIDT T., JAHNS P., LEISTER D. (2005): *Photosystem II core phosphorylation and photosynthetic acclimation require two different protein kinases*, «Nature», 437, pp. 1179-1182.
- BURROWS P.A., SAZANOV L.A., SVAB Z., MALIGA P., NIXON P.J. (1998): *Identification of a function respiratory complex in chloroplasts through analysis of tobacco mutants containing disrupted plastid ndh genes*, «EMBO J.», 17, pp. 868-876.
- CLARKE J.E., JOHNSON G.N. (2001): *In vivo temperature dependence of cyclic and pseudo-cyclic electron transport in barley*, «Planta», 212, pp. 808-816.
- DALCORSO G., PESARESI P., MASIERO S., ASEEEVA E., NEMANN D.S., FINAZZI G., JOLIOT P., BARBATO R., LEISTER D. (2008): *A complex containing PGRL1 and PGR5 is involved in the switch between linear and cyclic electron flow in Arabidopsis*, «Cell», 132, pp. 273-285.
- DEMMIG-ADAMS B., ADAMS W.W. III, BAKER D.H., LOGAN B.A., BOWLING D.R., ET AL. (1996): *Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excessive excitation*, «Physiol. Plant.», 98, pp. 253-264.
- EFREMOV R.G., BARADRAN R., SAZANOV L.A. (2010): *The architecture of respiratory complex I*, «Nature», 465, pp. 441-445.
- ENDO T., SHIKANAI T., TAKABAYASHI A., ASADA K., SATO F. (1999): *The role of chloroplastic NAD(P)H dehydrogenase in photoprotection*, «FEBS Lett.», 457, pp. 5-8.
- FINAZZI G., RAPPAPORT F., FURIA A., FLEISCHMANN M., ROCHAIX J.D., ZITO F., FORTI G. (2002): *Involvement of state transitions in the switch between linear and cyclic electron flow in Chlamydomonas reinhardtii*, «EMBO Rep.», 3, pp. 280-285.
- FORK D.C., HERBERT S.K. (1993): *Electron transport and photophosphorylation by photosystem I in vivo in plants and cyanobacteria*, «Photosynth. Res.» 36, pp. 149-68.
- HILL R., BENDALL F. (1960): *Function of the cytochrome components in chloroplasts: A working hypothesis*, «Nature», 186, pp. 136-137.
- IWAI M., TAKIZAWA K., TOKUTSU R., OKAMURO A., TAKAHASHI Y., MINAGAWA J. (2010): *Isolation of the elusive supercomplex that drives cyclic electron flow in photosynthesis*, «Nature», 464, pp. 1210-1213.
- LEHTIMÄKI N., LINTALA M., ALLAHVERDIYEVA Y., ARO E.M., MULO P. (2010): *Drought stress-induced upregulation of components involved in ferredoxin-dependent cyclic electron transport*, «J. Plant Physiol.», 167, pp. 1018-1022.
- MAJEREN W., VAN WIJK K.J. (2009): *Cell-type-specific differentiation of chloroplasts in C4 plants*, «Trends Plant Sci.», 14, pp. 100-109.

- MATSUBAYASHI T., WAKASUGI T., SHINOZAKI K., YAMAGUCHI-SHINOZAKI K., ZAITA N., HIDAKA T., MENG B.Y., OHTO C., TANAKA M., KATO A., MARUYAMA T., SUGIURA M. (1987): *Six chloroplast genes (ndhA-F) homologous to human mitochondrial genes encoding components of the respiratory chain NADH dehydrogenase are actively expressed: determination of the splice sites in ndhA and ndhB pre-mRNAs*, «Mol. Gen. Genet.», 210, pp. 385-393.
- MUNEKAGE Y., HOJO M., MEURER J., ENDO T., TASAKA M., ET AL. (2002): *PGR5 is involved in cyclic electron flow around photosystem I and is essential for photoprotection in Arabidopsis*, «Cell», 110, pp. 361-371.
- MUNEKAGE Y., HASHIMOTO M., MIYAKE C., TOMIZAWA K., ENDO T., (2004): *Cyclic electron flow around photosystem I is essential for photosynthesis*, «Nature», 429, pp. 579-582.
- MUNEKAGE Y., SHIKANAI T. (2005): *Cyclic electron transport through photosystem I*, «Plant Biotechnol.», 22, pp. 361-369.
- MUNEKAGE Y., EYMERY D., RUMEAU S., CUINE M., OGURI M., NAKAMURA A., YOKOTA A., GENTY B., PELTIER G. (2010): *Elevated expression of PGR5 and NDH-H in bundle sheath chloroplasts in C-4 flaveria species*, «Plant Cell Physiol.», 51, pp. 664-668.
- MUNNÈ-BOSCH S., SHIKANAI T., ASADA K. (2005): *Enhanced ferredoxin-dependent cyclic electron flow around photosystem I and α -tocopherol quinone accumulation in water-stressed ndh-B-inactivated tobacco mutants*, «Planta», 222, pp. 502-511.
- JOHNSON G.N. (2011): *Physiology of PSI cyclic electron transport in higher plants*, «Biochim. Biophys. Acta», 1807, pp. 906-911.
- KOFER W., KOOP H.U., WANNER G., STEINMULLER K. (1998): *Mutagenesis of the genes encoding subunits A, C, H, I, J and K of the plastid NAD(P)H-plastoquinone-oxidoreductase in tobacco by polyethylene glycol-mediated plastome transformation*, «Mol. Gen. Genet.», 258, pp. 166-173.
- NIYOGI K.K., LI X.P., ROSENBERG V., JUNG H.S. (2005): *Is PsbS the site of nonphotochemical quenching in photosynthesis?*, «J. Exp. Bot.», 56, pp. 375-382.
- OHYAMA K., KOHCHI T., SANO T., YAMADA Y. (1988): *Newly identified groups of genes in chloroplasts*, «Trends Biochem Sci.», 13, pp. 19-22.
- PENG L., FUKAO M., FUJIWARA M., TAKAMI T., SHIKANAI T. (2009): *Efficient operation of NAD(P)H dehydrogenase requires the supercomplex formation with photosystem I via minor LHCl in Arabidopsis*, «Plant Cell», 21, pp. 3623-3640.
- PENG L., YAMAMOTO H., SHIKANAI T. (2011): *Structure and biogenesis of the chloroplast NAD(P)H dehydrogenase complex*, «Bioch. Biophys. Acta», 1807, pp. 945-953.
- PETROUTSOS D., TERAUCHI A.M., BUSCH A., HIRSCHMANN I., MERCHANT S.S., FINAZZI G., HIPPLER M. (2009): *PGRL1 participates in iron-induced remodeling of the photosynthetic apparatus and in energy metabolism in Chlamydomonas reinhardtii*, «J. Biol. Chem.», 284, pp. 32770-32781.
- REILAND S., FINAZZI G., ENDLER A., WILLIG A., BAERENFALLER K., GROSSMANN J., GERITS B., RUTISHAUSER D., GRUISSEM W., ROCHAIX J.D., BAGINSKY S. (2011): *Comparative phosphoproteome profiling reveals a function of the STN8 kinase in fine-tuning of cyclic electron flow (CEF)*, «Proc Natl Acad Sci U S A.», 108, pp. 12955-12960.
- SHIKANAI T., ENDO T., HASHIMOTO T., YAMADA Y., ASADA K., ET AL. (1998): *Directed disruption of the tobacco ndhB gene impairs cyclic electron flow around photosystem I*, «Proc. Natl. Acad. Sci. USA», 95, pp. 9705-9709.
- SHIKANAI T., MUNEKAGE Y., SHIMIZU K., ENDO T., HASHIMOTO T. (1999): *Identification and characterization of Arabidopsis mutants with reduced quenching of chlorophyll fluorescence*, «Plant Cell Physiol.», 40, pp. 1134-1142.

- SHIKANAI T. (2007): *Cyclic Electron Transport Around Photosystem I: Genetic Approaches*, «Annu. Rev. Plant Biol.», 58, pp. 199-217.
- SHINOZAKI K., OHME M., TANAKA M., WAKASUGI T., HAYASHIDA N., MATSUBAYASHI T. ET AL. (1986): *The complete nucleotide sequence of the tobacco chloroplast genome: its gene organization and expression*, «EMBO J.», 5, pp. 2043-2049.
- SUGIURA M. (1992): *The chloroplast genome*, «Plant Mol. Biol.», 19, pp. 149-168.
- TAGAWA K., TSUJIMOTO H.Y., ARNON D.I. (1963): *Role of chloroplast ferredoxin in the energy conversion process of photosynthesis*, «Proc. Natl. Acad. Sci. USA», 49, pp. 567-572 .
- TAKABAYASHI A., KISHINE M., ASADA K., ENDO T., SATO F. (2005): *Differential use of two cyclic electron flows around photosystem I for driving CO₂-concentration mechanism in C-4 photosynthesis*, «Proc. Natl. Acad. Sci. USA», 102, pp. 16898-16903.
- WANG P., DUAN W., TAKABAYASHI A., ENDO T., SHIKANAI T., ET AL. (2006): *Chloroplastic NAD(P)H dehydrogenase in tobacco leaves functions in alleviation of oxidative damage caused by temperature stress*, «Plant Physiol.», 141, pp. 465-474.