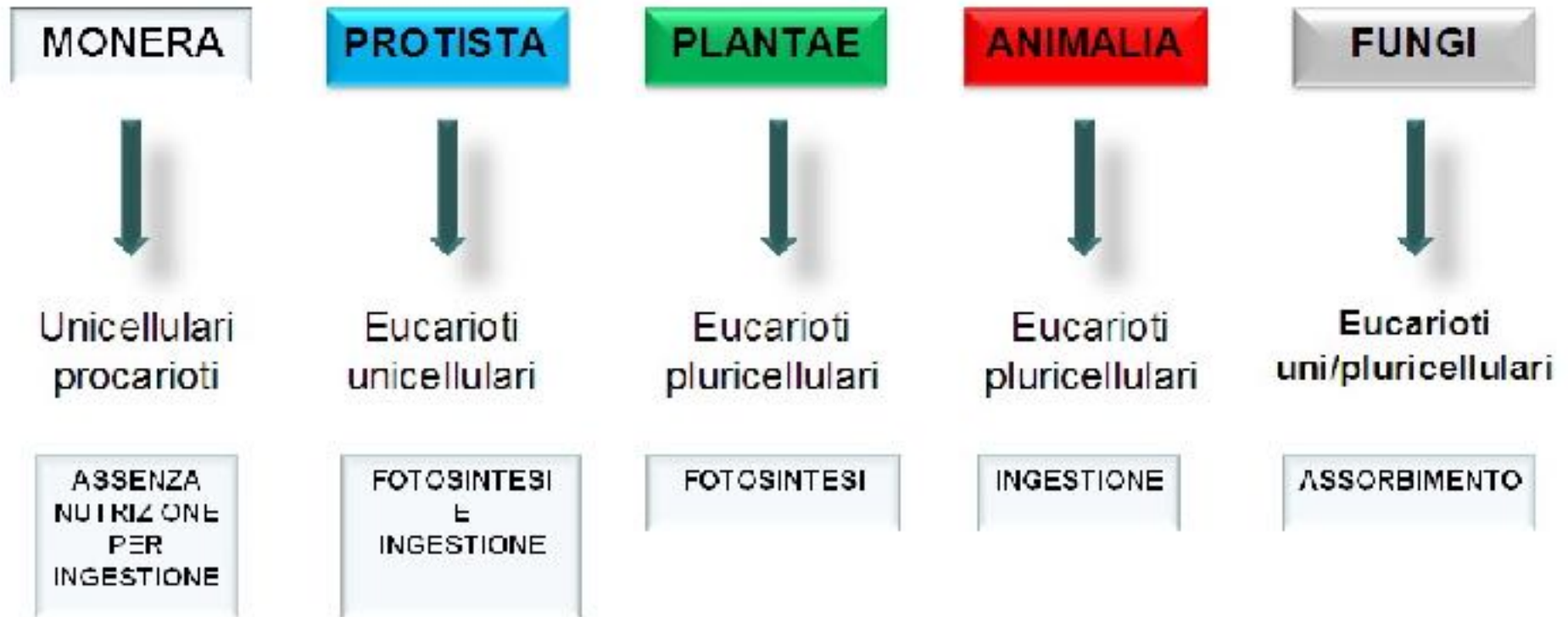
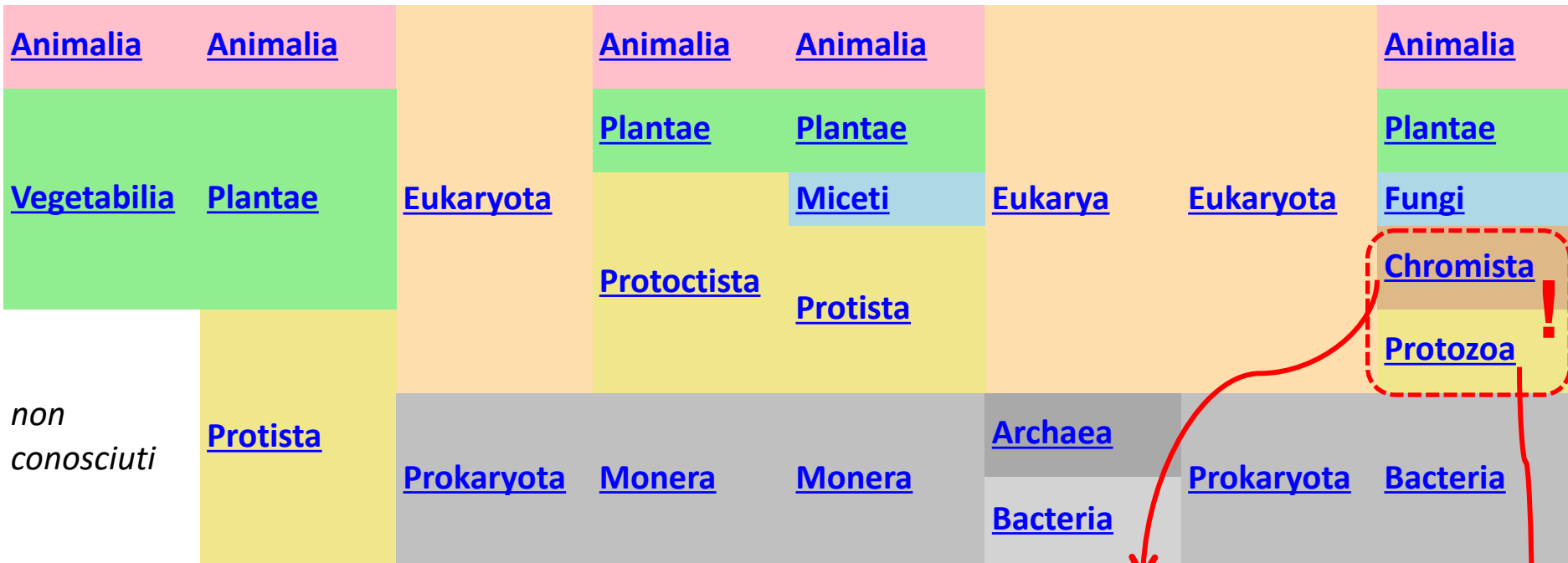


Originaria classificazione degli organismi viventi in 5 Regni



Progressione schematica della classificazione di Domini e Regni

<u>Linneo</u> (1735) Due regni	<u>Haeckel</u> (1866) Tre regni	<u>Chatton</u> (1925) Due gruppi	<u>Copeland</u> (1938-56) Quattro regni	<u>Whittaker</u> (1969) Cinque regni	<u>Woese</u> (1977-90) Tre domini	<u>Cavalier-Smith</u> (2003) Due domini e sei regni
--------------------------------------	---------------------------------------	--	---	--	---	--



fotosintetici

fotosintetici
e non !

Extant

Bacteria
Archaeobacteria
Archezoans
Euglenoids
Protozoans
Chrysophytes
Brown Algae
Red algae
Green Algae
Bryophytes
Tracheophytes
Slime Molds
Myxozoans
Multicellular
Animals
True Fungi

Protista refined

Protista appears

Extinct

**Long Time with
Prokaryotes only**

Original Cell

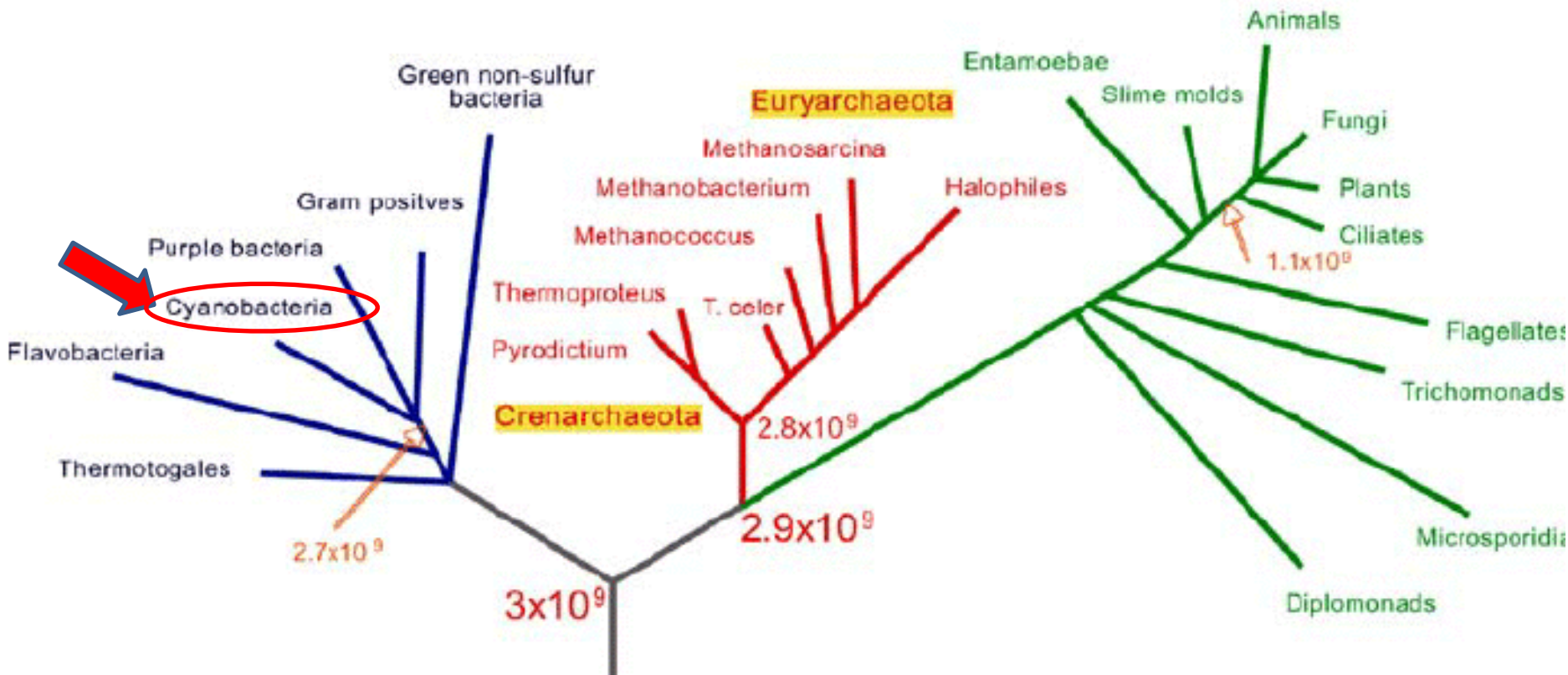
8
5
3
2
1




Bacteria

Archaea

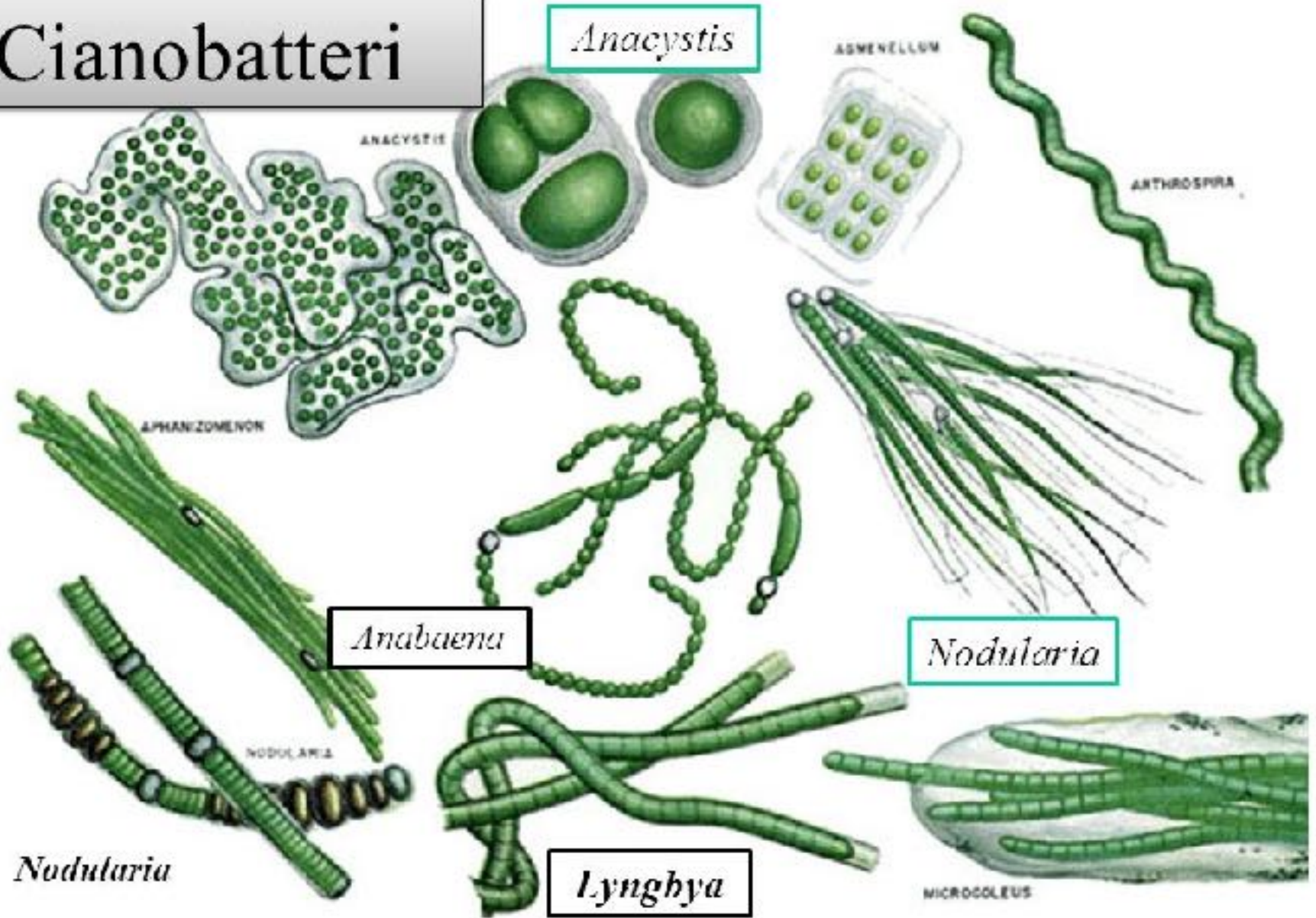
Eukarya



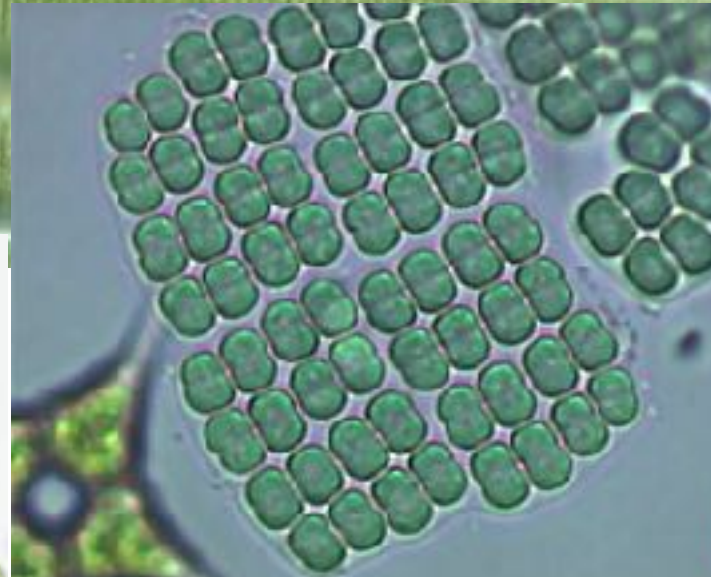
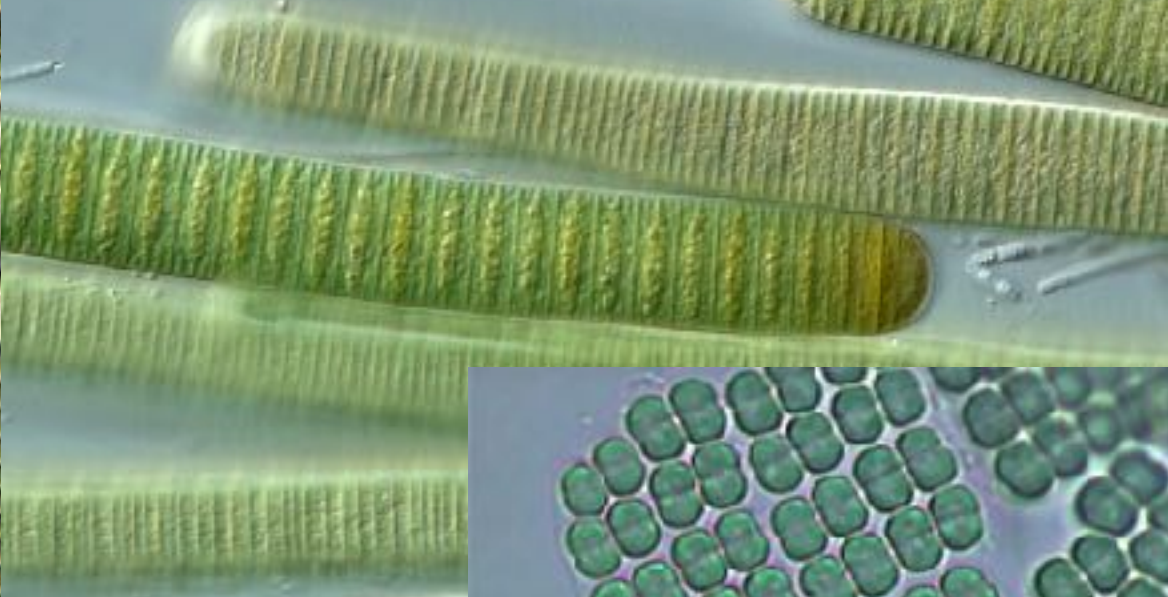
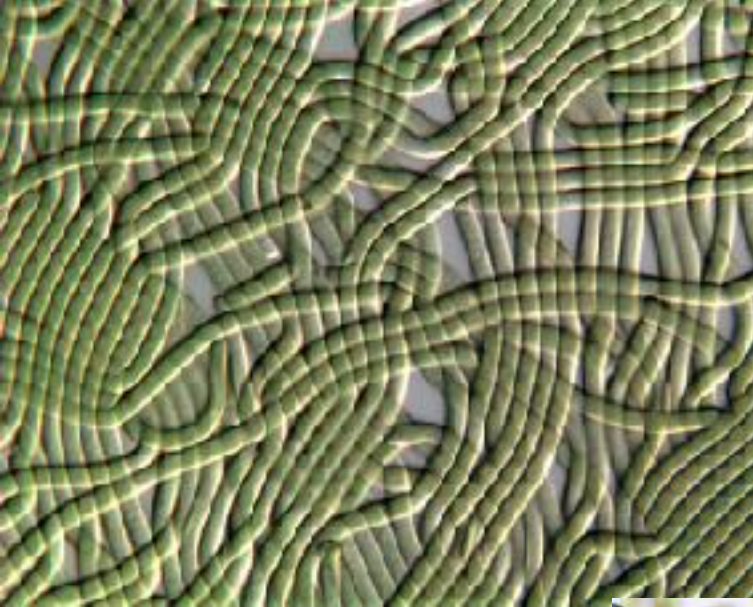
A microscopic image showing numerous chains of cyanobacteria. The chains are composed of small, spherical cells and are arranged in a complex, overlapping pattern. The overall color is a light blue-green. A white rectangular box is superimposed over the center of the image, containing the word "CYANOBACTERIA" in a black, hand-drawn font.

CYANOBACTERIA

Cianobatteri



- Fotosintesi ossigenica
- Riduzione dell'azoto ($N_2 \rightarrow NH_3$)



- Organismi unicellulari procarioti
- Non contengono organuli cellulari.
- Non ci sono specie flagellate.
- Solitari o riuniti in colonie di varia forma.
- **Tricòma:** forma coloniale filamentosa più caratteristica
- Comprendono c. 150 generi con oltre 2000 specie, distribuite su tutto il globo in habitats diversi:

AMBIENTI:

MARE (specie planctoniche & bentoniche)

ACQUE DOLCI (c.s.)

SUOLO (nei primi strati del terreno, sino a qualche centimetro di profondità)

ROCCE (specie endolitiche)

SORGENTI TERMALI (le acque termali più ricche di ciano-batteri sono quelle alcaline, pH = 9)



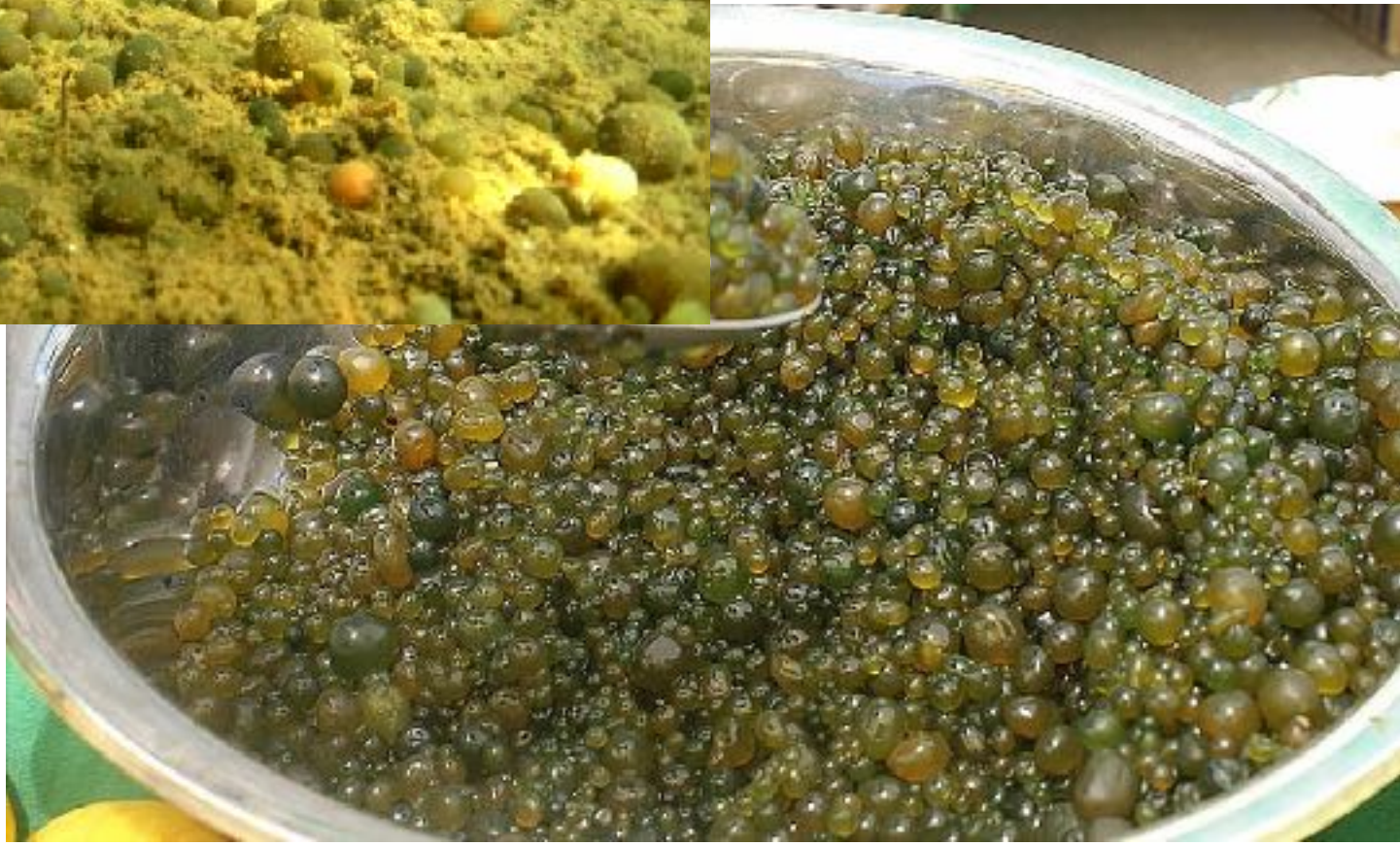
**Hotsprings
(Yellowstone)**





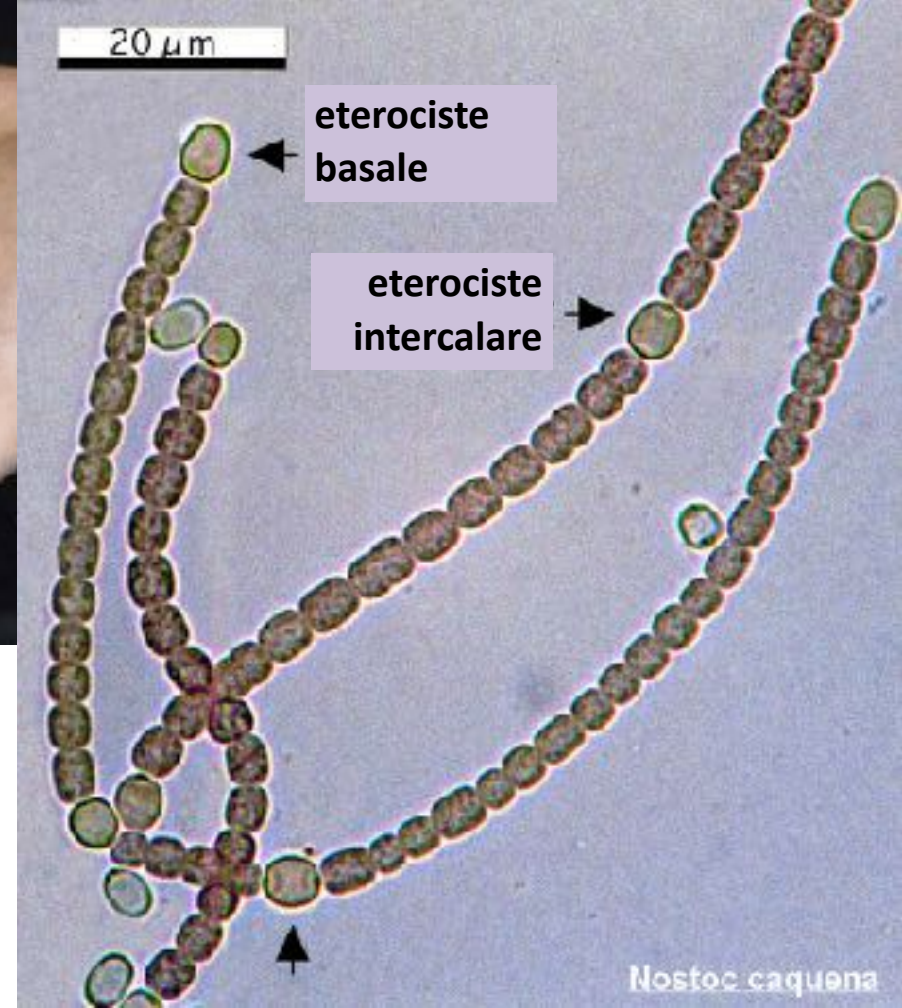
CUSHURO

murmunta, llullucha, llayta
Nostoc commune spp.



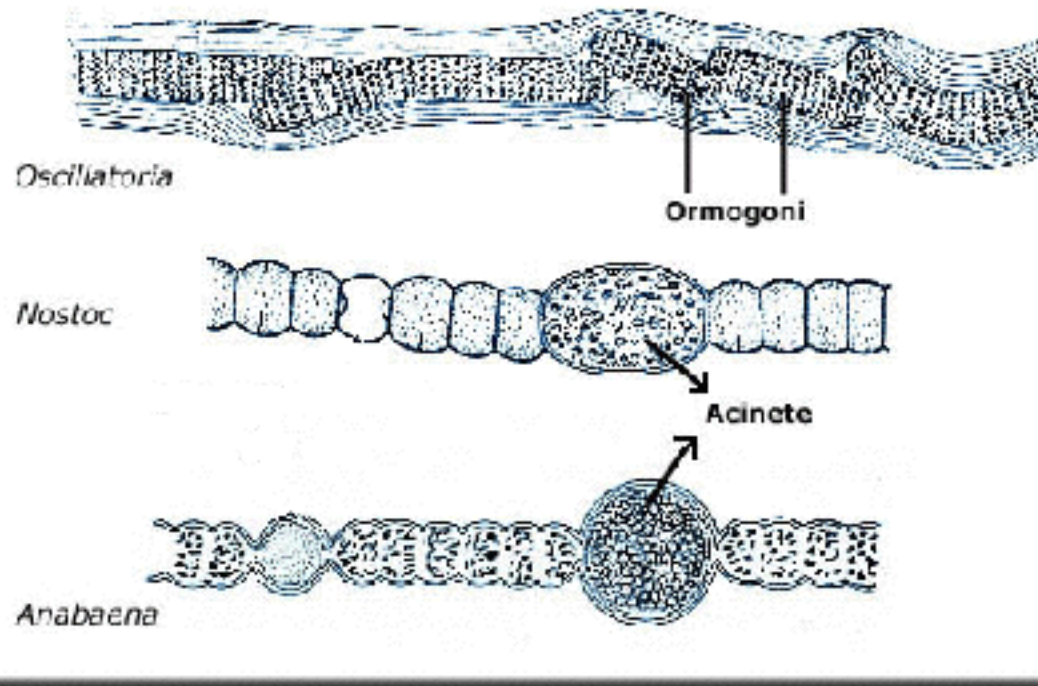
Nostoc sp.

free living &
symbiotic



Eterocisti: cellula differenziata
che non si divide più, fissazione
N con **nitrogenasi** ($\text{N}_2 \rightarrow$
 $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{-NH}_2$), protoplasto

Ormogoni: segmenti di tricoma che si separano dalla colonia madre



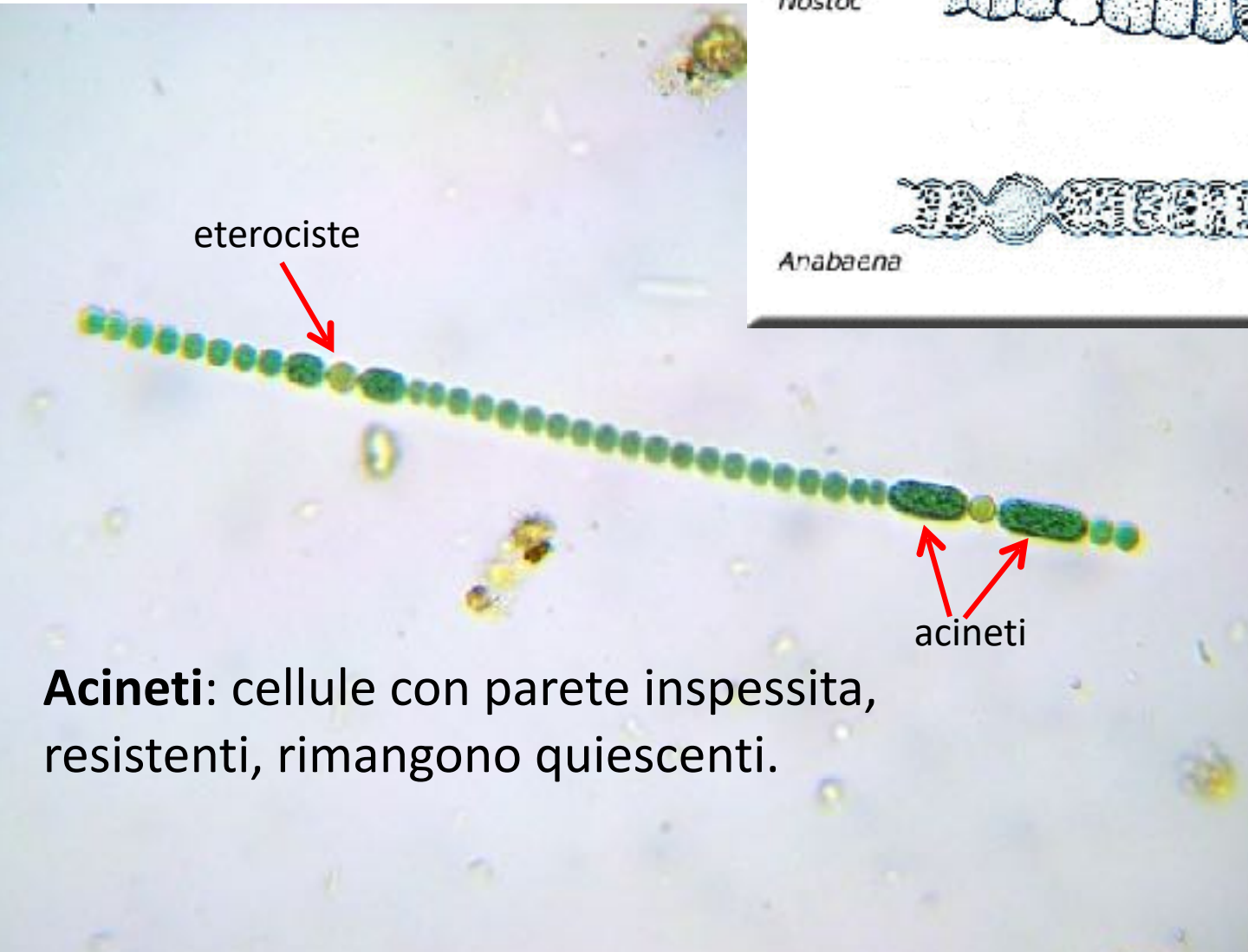
eterociste



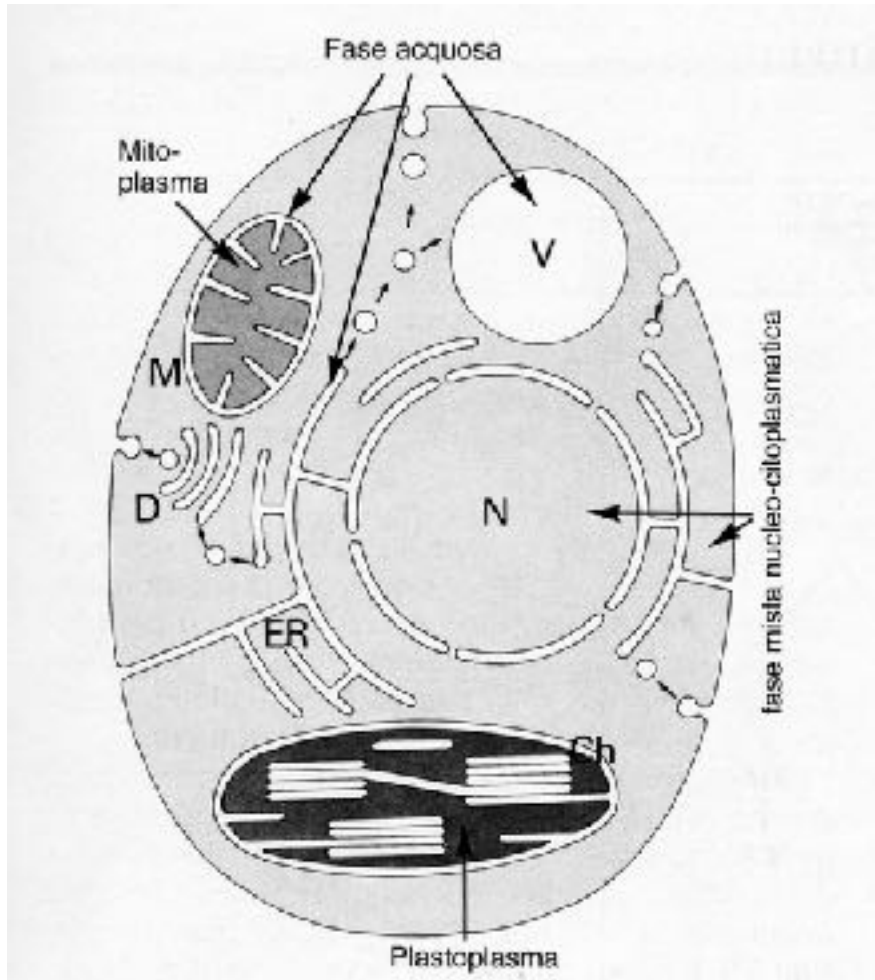
acineti



Acineti: cellule con parete inspessita, resistenti, rimangono quiescenti.

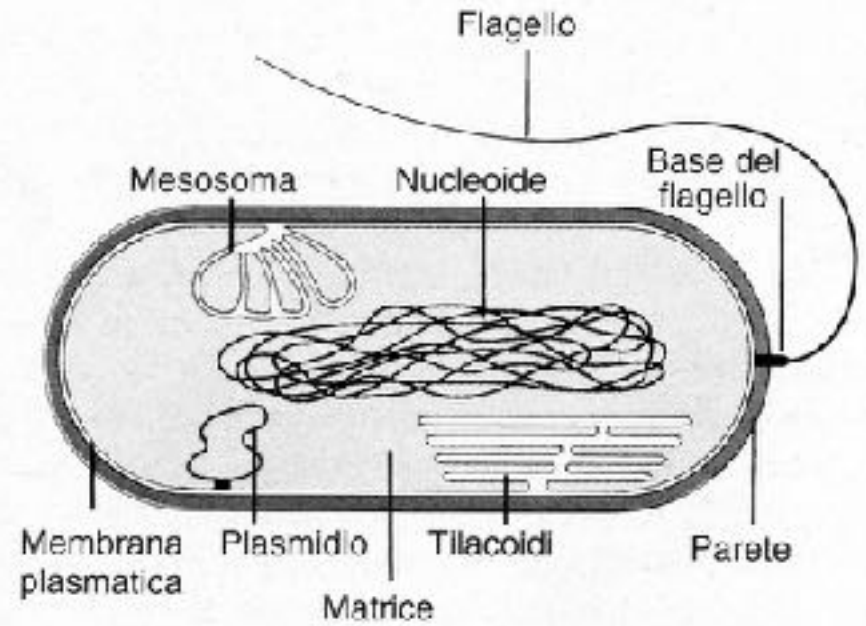


Cellula eucariotica



Schema di compartimentazione nella cellula eucariotica secondo E. SCHNEPF con fasi acquose e tre fasi plasmatiche: fase mista nucleo-citoplasmatica, mitoplasma (= «matrice» dei mitocondri) e plastoplasma (= «stroma» dei cloroplasti).
 Ch, cloroplasto; D, dittiosoma; ER, reticolo endoplasmatico; M, mitocondrio; N, nucleo; V, vacuolo.

Cellula procariotica



gura 1.5 Schema di una cellula batterica.

ATTENZIONE! I due schemi non sono in scala!

Il colore delle cellule dei Cianobatteri: blu-verde, rosso, violaceo \leftrightarrow **proporzioni dei pigmenti fotosintetici** ed pigmenti protettivi depositati a livello della guaina gelatinosa esterna.

- **clorofilla a**;

- carotenoidi: **b-carotene**; **xantofille** comuni come la zeaxantina; xantofille particolari quali echinenone, mixoxantina, caloxantina, nostocxantina, oscillaxantina;

- ficobiliproteine: **C-ficocianina**, **allo-ficocianina**, **C-ficoeritrina**.

Processi ossido-riduttivi a livello del plasmalemma o membrane dei tilacoidi.

Parete cellulare: colorazione Gram+ vs. **Gram-** (cianobatteri)

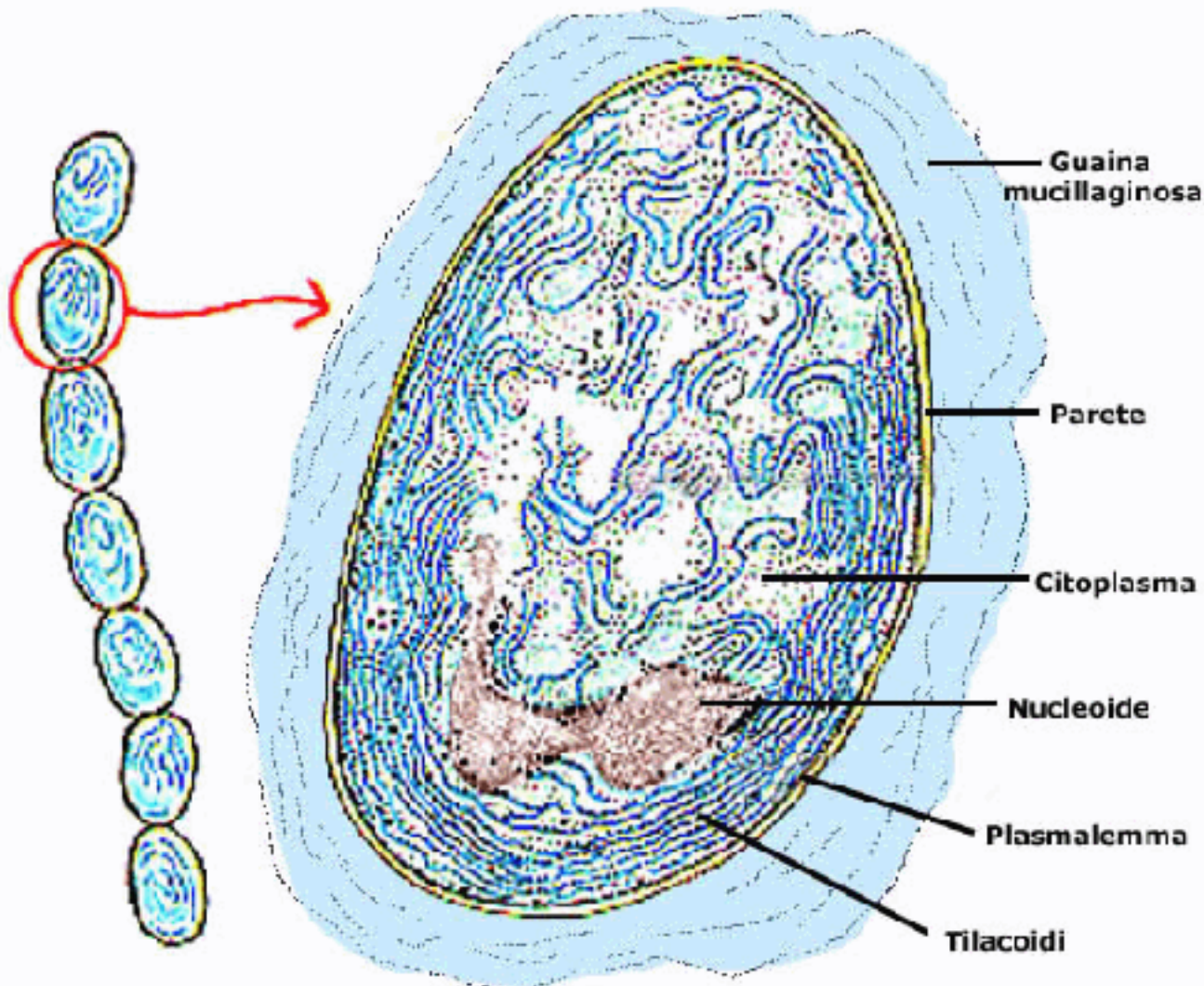
1

! 3 particolarità :

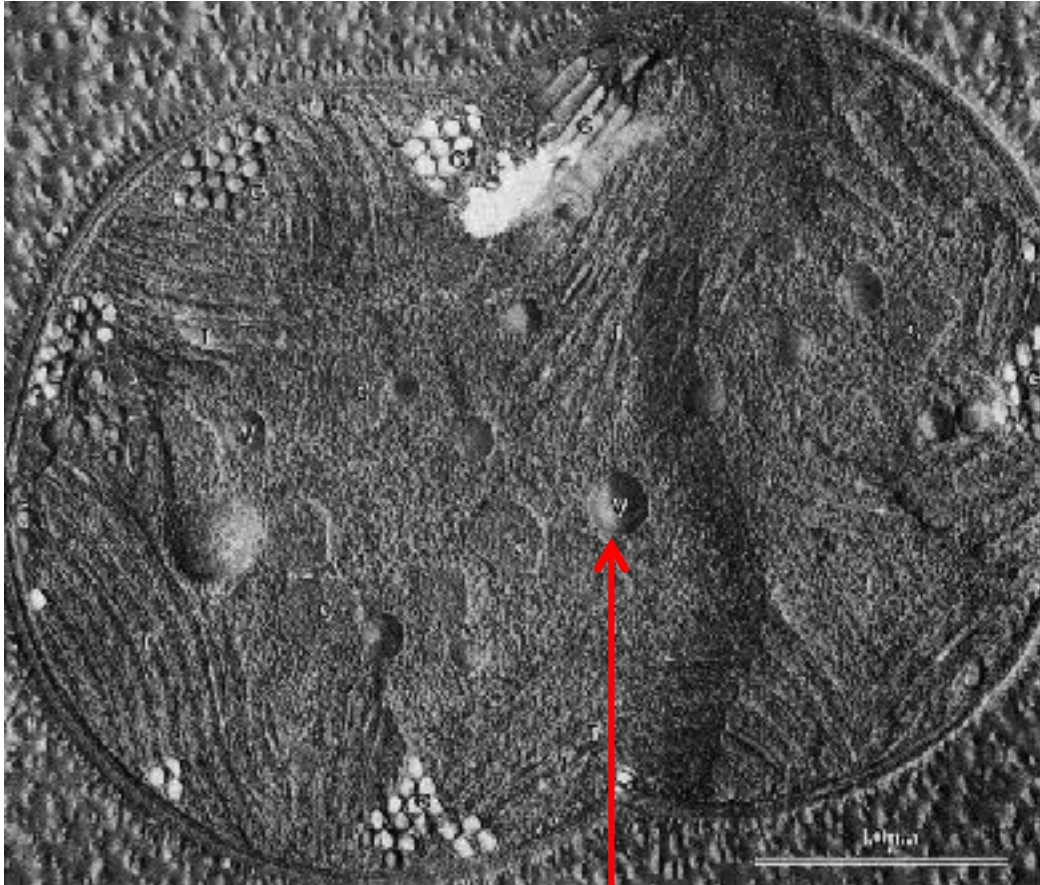
➤ Membrane tilacoidali in zona periferica (NON in grana!)

Cromatoplasma:
struttura lamellare di
tilacoidi singoli
concentrici e paralleli
senza interconnessioni.

**Lamellosomi o
mesosomi:**
protrusioni dei
tilacoidi specializzate
nella funzione
respiratoria.



Struttura di una cellula di cianobatterio

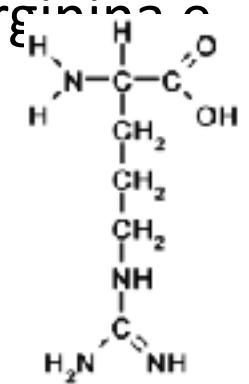
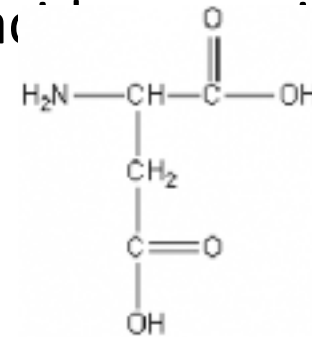


I cianobatteri planctonici sono dotati di **vacuoli gassosi** delimitati da un rivestimento proteico, f(x): galleggiamento, posizione ottimale per la luce, schermo di elevate radiazioni UV.

➤ Inclusioni cellulari:

Poliglucano (omopolimero di D-glucosio)

Cianoficina, un oligopeptide formato da 2 aa, arginina e acido glutammico



Volutina = polifosfati

Corpi poliedrici: con RUBISCO, stessa f(x) del pirenoide

3

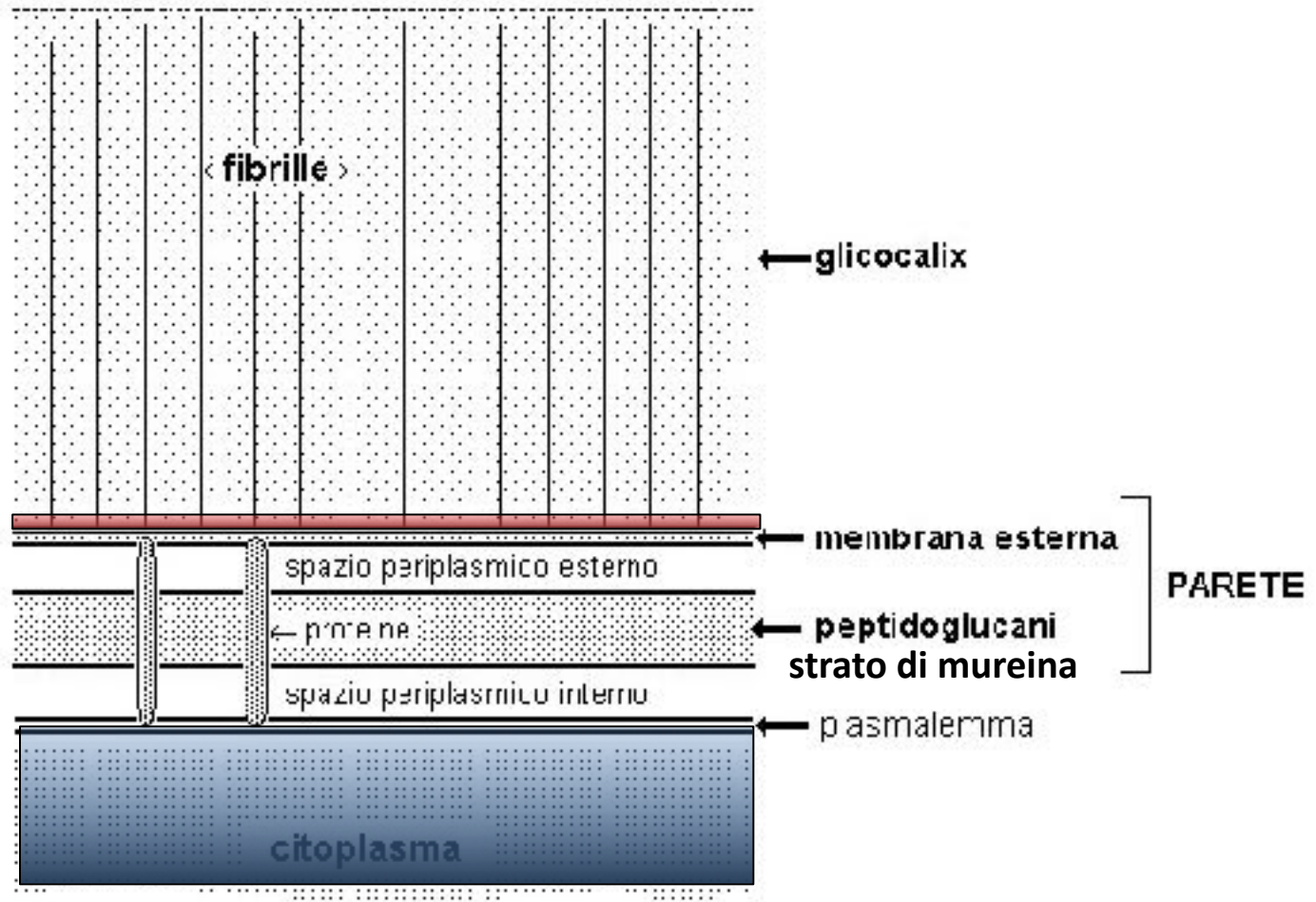
➤ **Strutture di protezione esterna:**

-membrana cellulare (plasmalemma)

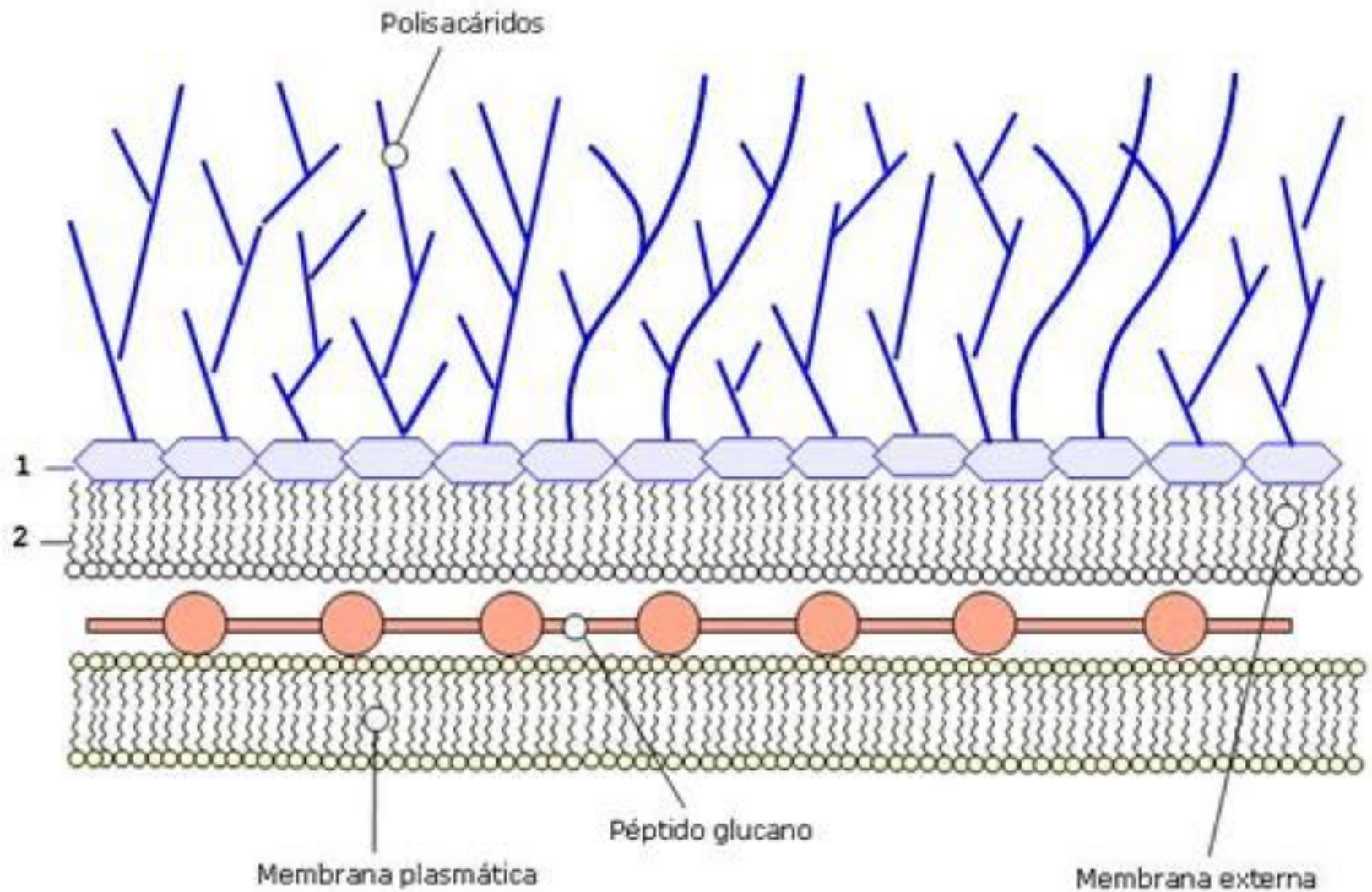
-parete composita (*sacculum* di peptidoglicani + membrana esterna)

-**glycocalix:** spessa guaina gelatinosa, visibile anche al microscopio

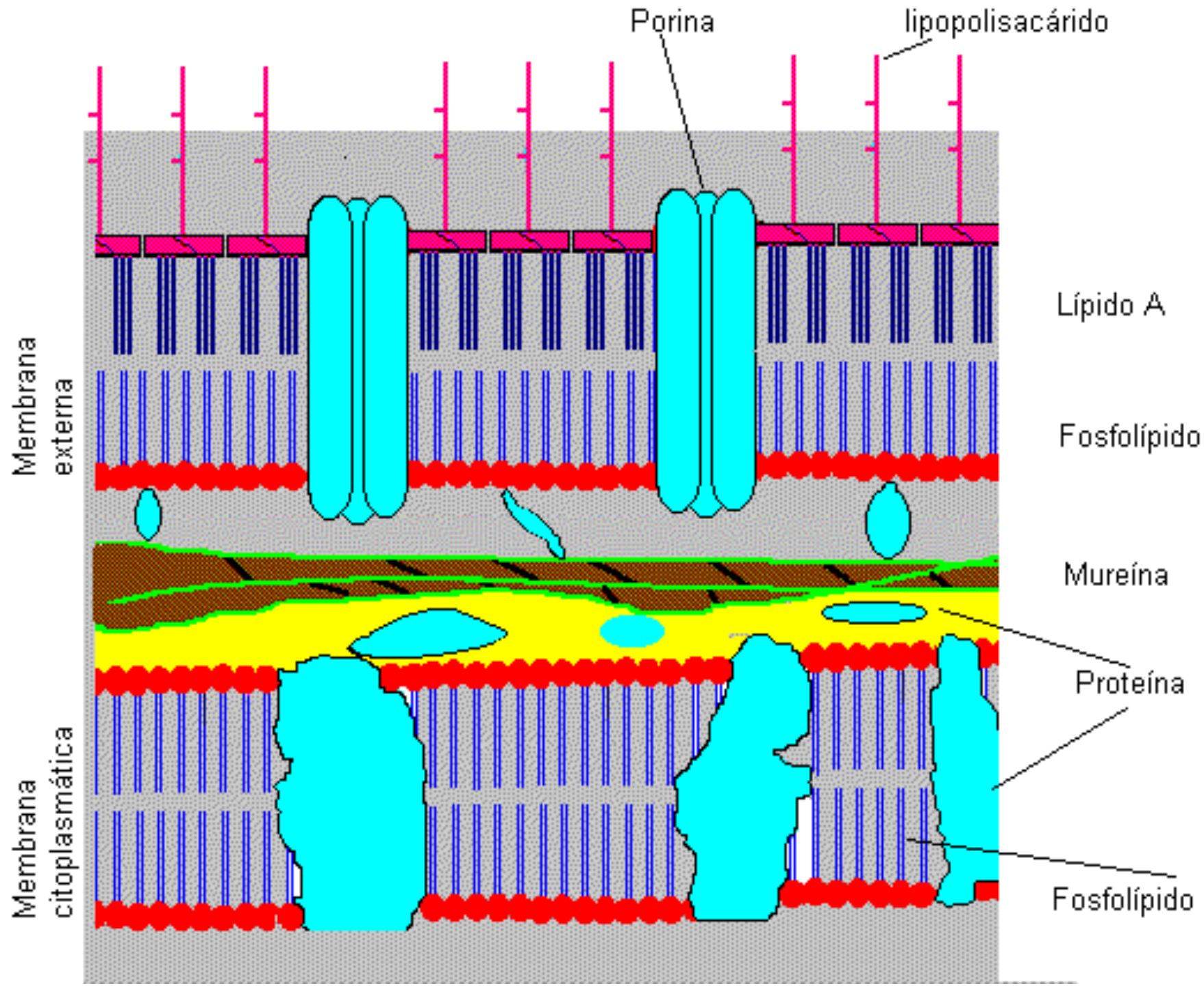
proteine
strutturali &
trasporto



Pared de una bacteria Gram -



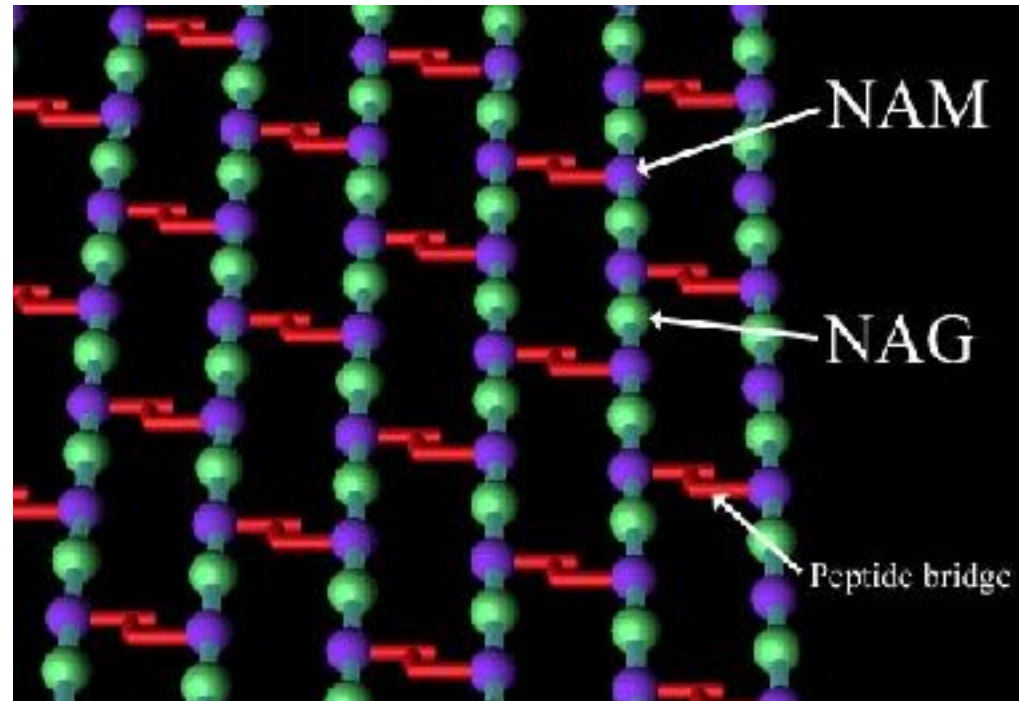
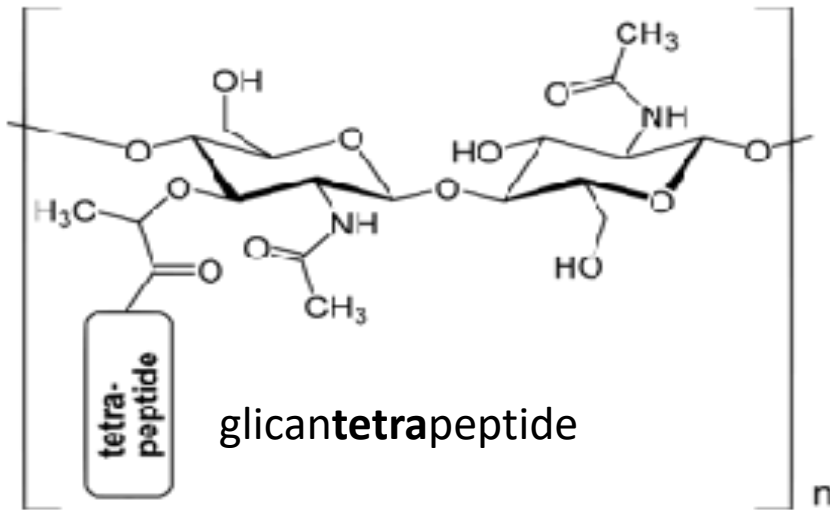
1) Glicolípidos. 2) Fosfolípidos y otros lípidos



Strato polimerico di **mureina** = **peptidoglicano** = **glicopeptide**:

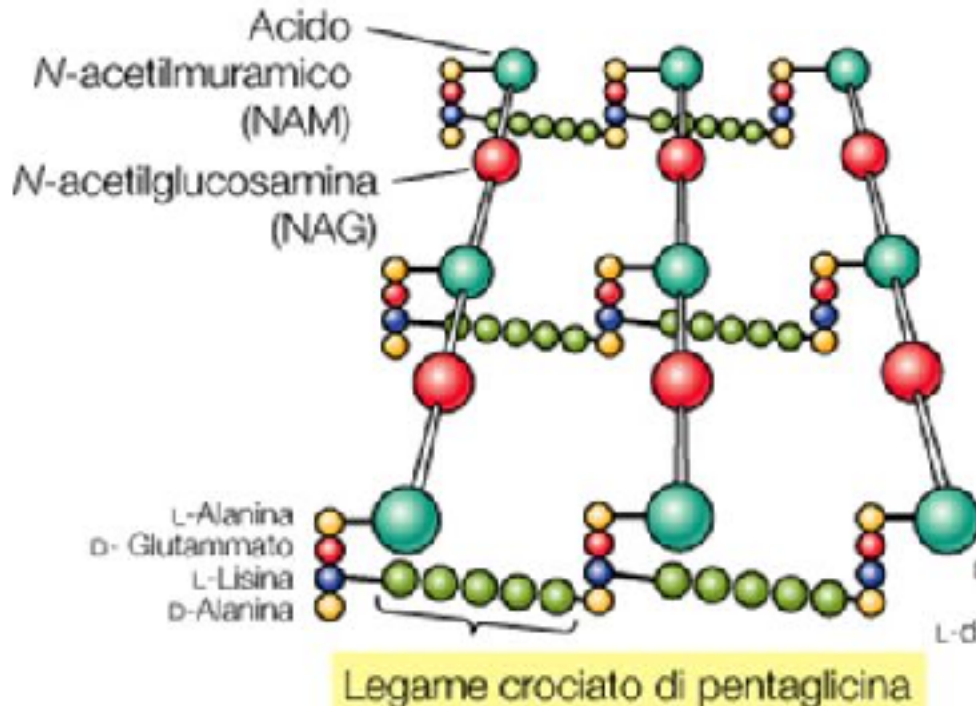
- **acido N-acetil-muramico (NAM)** + **N-acetil-glucosammina (NAG)** + 4 aa (ac. D-glutamico, L-alanina, D-alanina, ac. diaminopimelico, ASSENTI NELLE PROTEINE!!!)

- costituito da una ripetizione di lamine monomolecolari composte di glican-tetrapeptide legate insieme da legami crociati tetrapeptidici tra amminoacidi delle unità adiacenti.

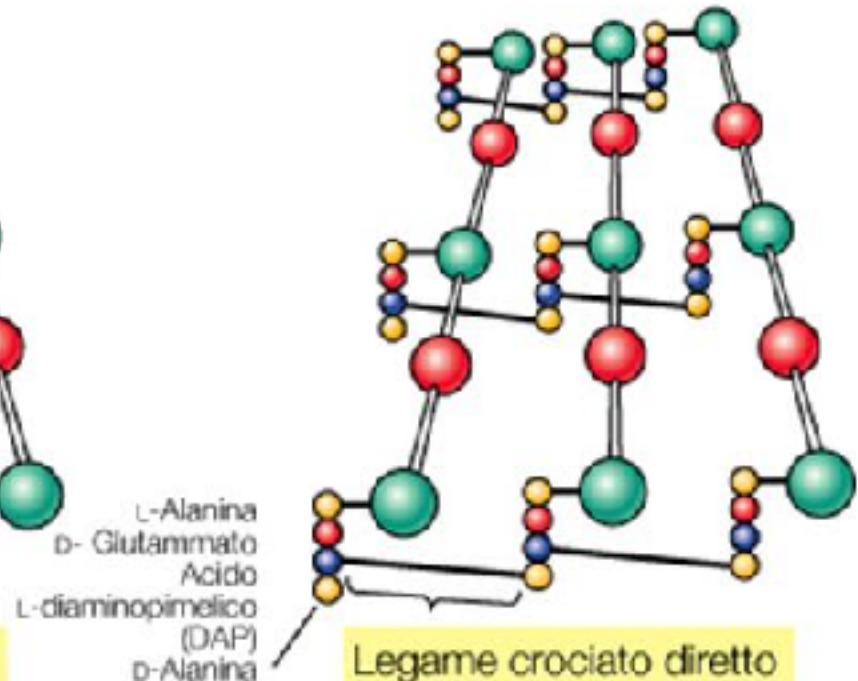


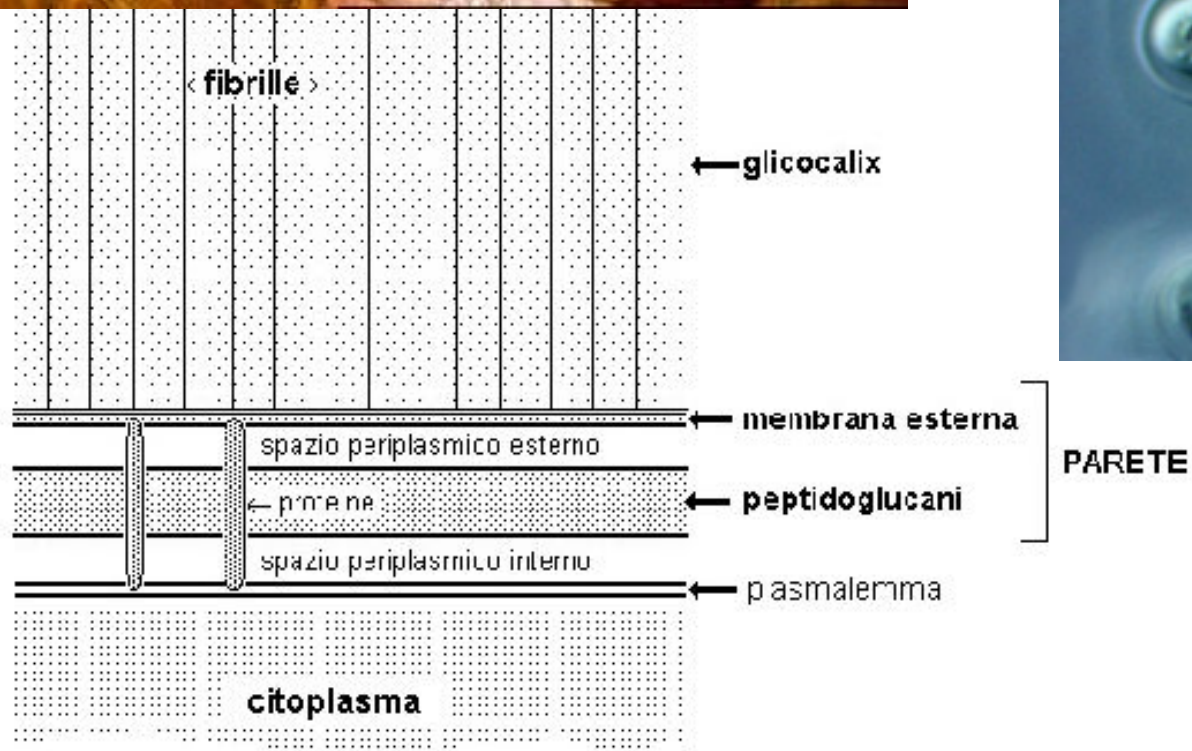
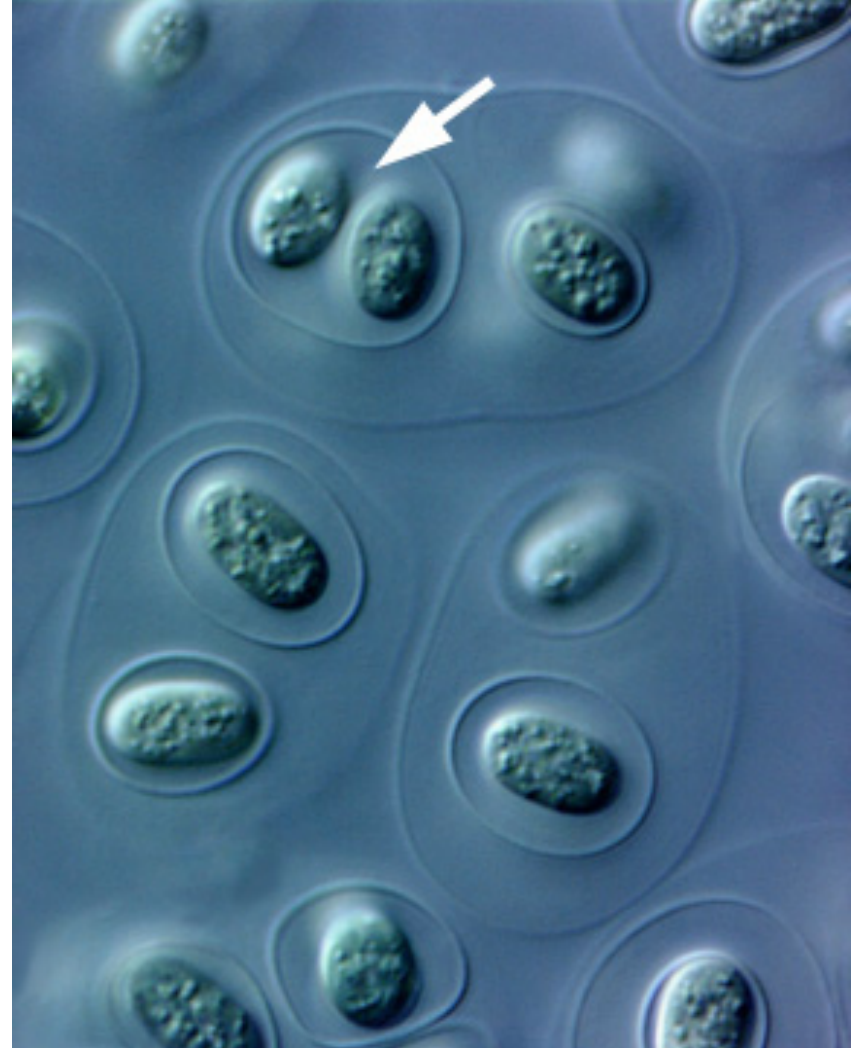
Struttura del peptidoglicano / mureina, polimero formante strati plurimi della parete cellulare degli Eubatteri:
ripetizione di lamine monomolecolari composte di glican-tetrapeptide legate insieme da legami crociati di **glicina** (5x) tetrapeptidici tra aminoacidi di unità adiacenti.

(A) Peptidoglicano dei gram-positivi



(B) Peptidoglicano dei gram-negativi

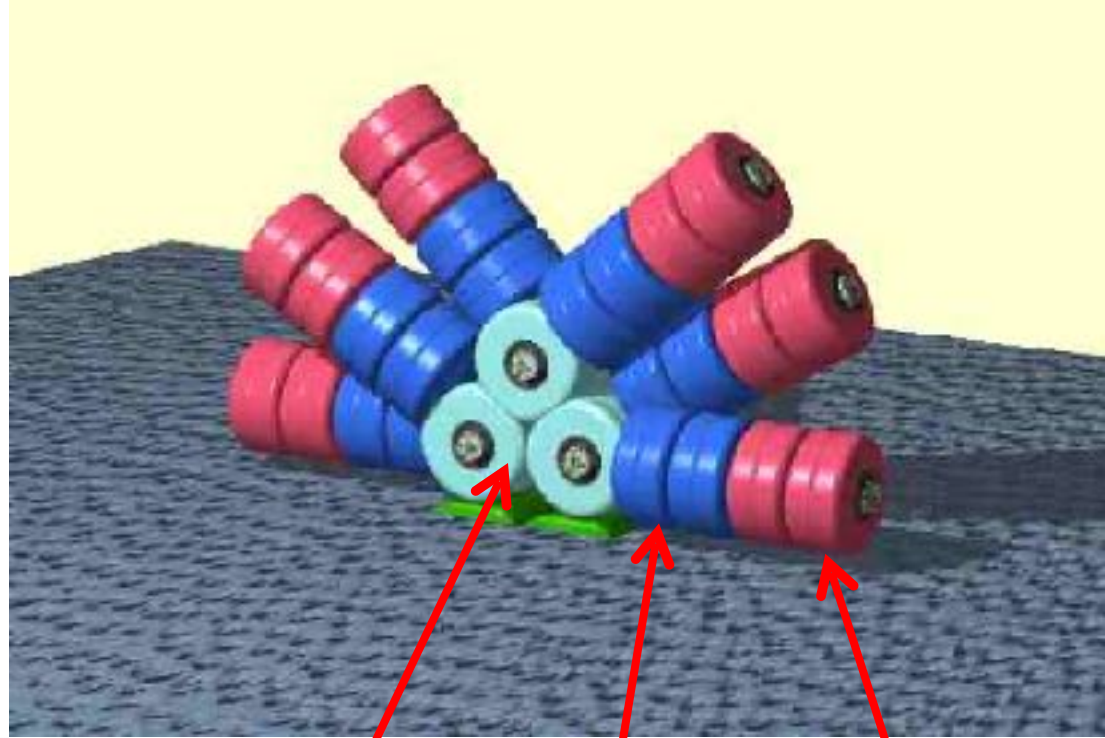




Pigmenti fotosintetici:

- **clorofilla a**;
- carotenoidi: **b-carotene**;
xantofille
(comuni=zeaxantina;
particolari = echinenone,
mixoxantina, caloxantina,
nostocxantina, oscillaxantina;

- **ficobiliproteine**: C-
ficocianina, allo-ficocianina,
C-ficoeritrina.

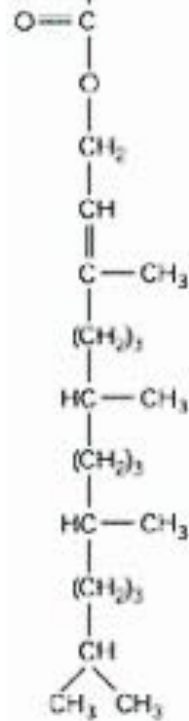
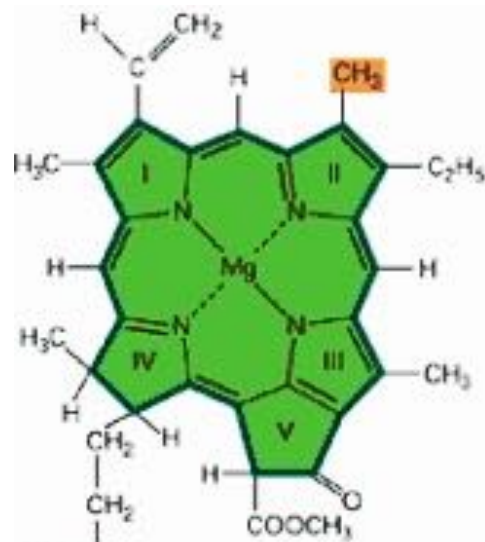


alloficocianina

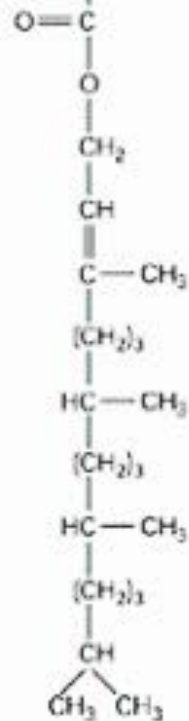
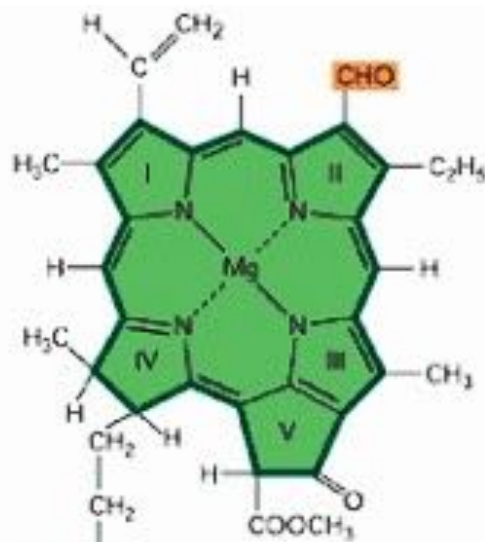
ficocianina

FICOBILISOMA

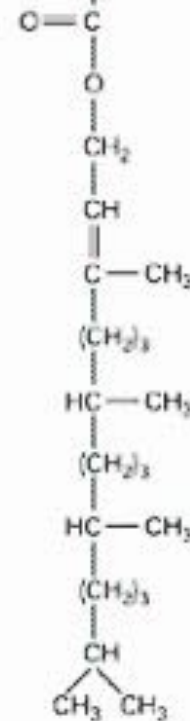
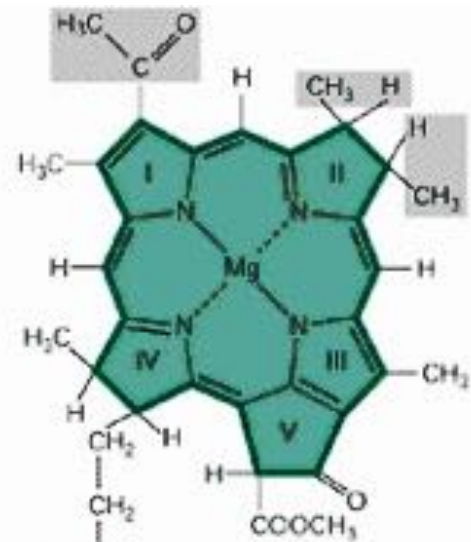
ficoeritrina



Chlorophyll a



Chlorophyll b

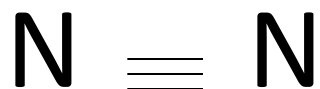


Bacteriochlorophyll a

• Riduzione dell'azoto ($\text{N}_2 \rightarrow \text{NH}_3$)

La fissazione consiste nella riduzione dell'azoto molecolare atmosferico N_2 ad NH_4^+ (ammonio) e quindi nella trasformazione di questo in radicale amminico, $-\text{NH}_2$, che viene per la maggior parte organicato negli amminoacidi e quindi nelle proteine.

La molecola dell' N_2 è particolarmente **stabile**, per la presenza del **triplo legame**:



La rottura avviene in condizioni di alta energia, per es. scariche elettriche.



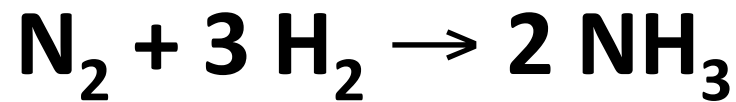
L'azoto assimilabile è fortemente limitante per gli ecosistemi e per la loro produttività primaria in particolare.

In agricoltura per incrementare la resa dei raccolti bisogna provvedere alla concimazione, con l'apporto di sostanze azotate di origine animale (deiezioni, letame, cascami, ecc.).

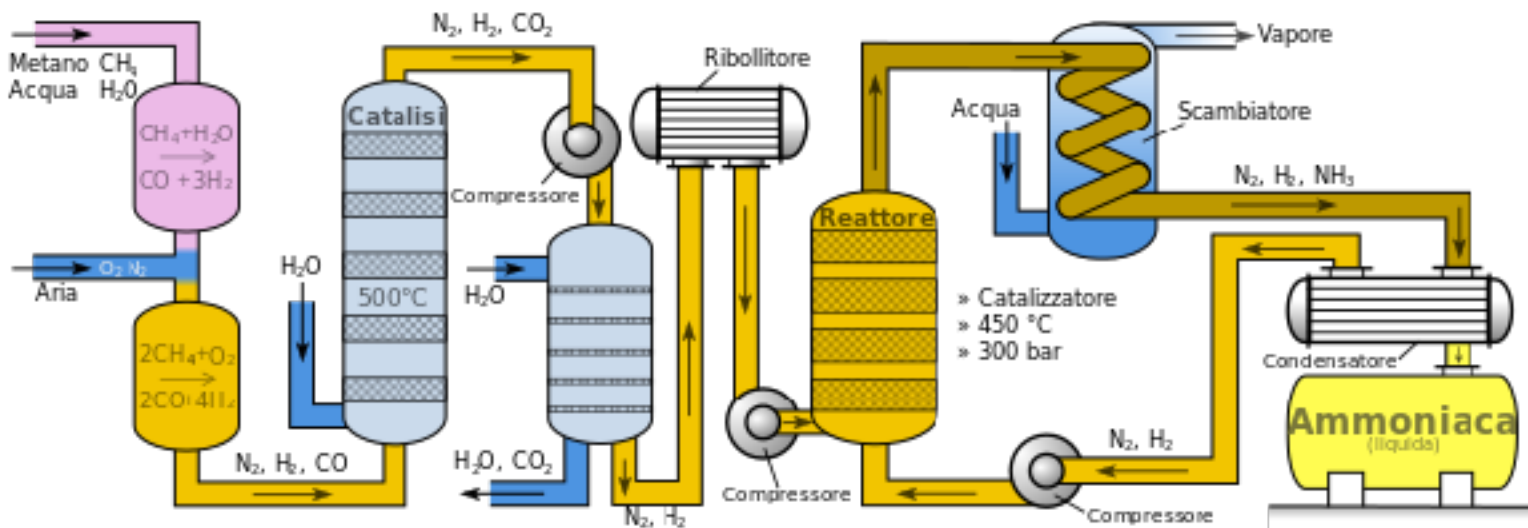


«rivoluzione»: la messa a punto di un processo artificiale, industrializzato, per la fissazione di N_2 a NH_3 (**HABER-BOSCH, 1910**), fortemente energivoro.

450 °C, 300 bar




$Fe/K_2O/Al_2O_3$



Il processo dipende ancora oggi dalla disponibilità di combustibili fossili: l'agricoltura moderna intensiva dipende dal petrolio....

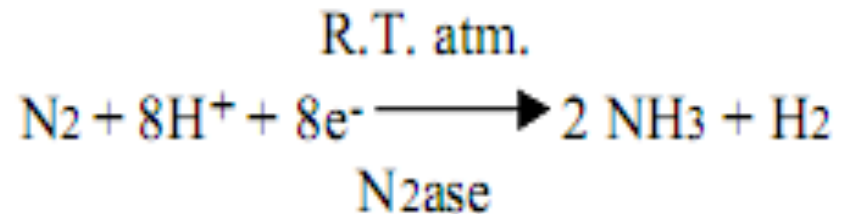


 Sharon Loxton

Severnside Fertilizer Works UK

Oltre a quello di origine atmosferica, gli ecosistemi naturali godono degli input da parte di pochi gruppi di organismi, che sono capaci di ridurre l'azoto molecolare (N₂) a NH₃ grazie a processi enzimatici.

1. Biological Nitrogen Fixation (BNF)



Questi gruppi sono:

- **Eubatteri liberi ed eterotrofi**, più frequentemente anaerobi obbligati, o aerobi facoltativi che operano in condizioni anaerobiche o con bassa P_[O₂], o ancora aerobi obbligati (es. *Azotobacter* sp.).
- **Eubatteri fotoautotrofi liberi** (es.: *Rhodospirillum rubrum*, anaerobo facoltativo, bacterioclorofille, fotosintesi senza produzione di O₂)
- **Cianobatteri**

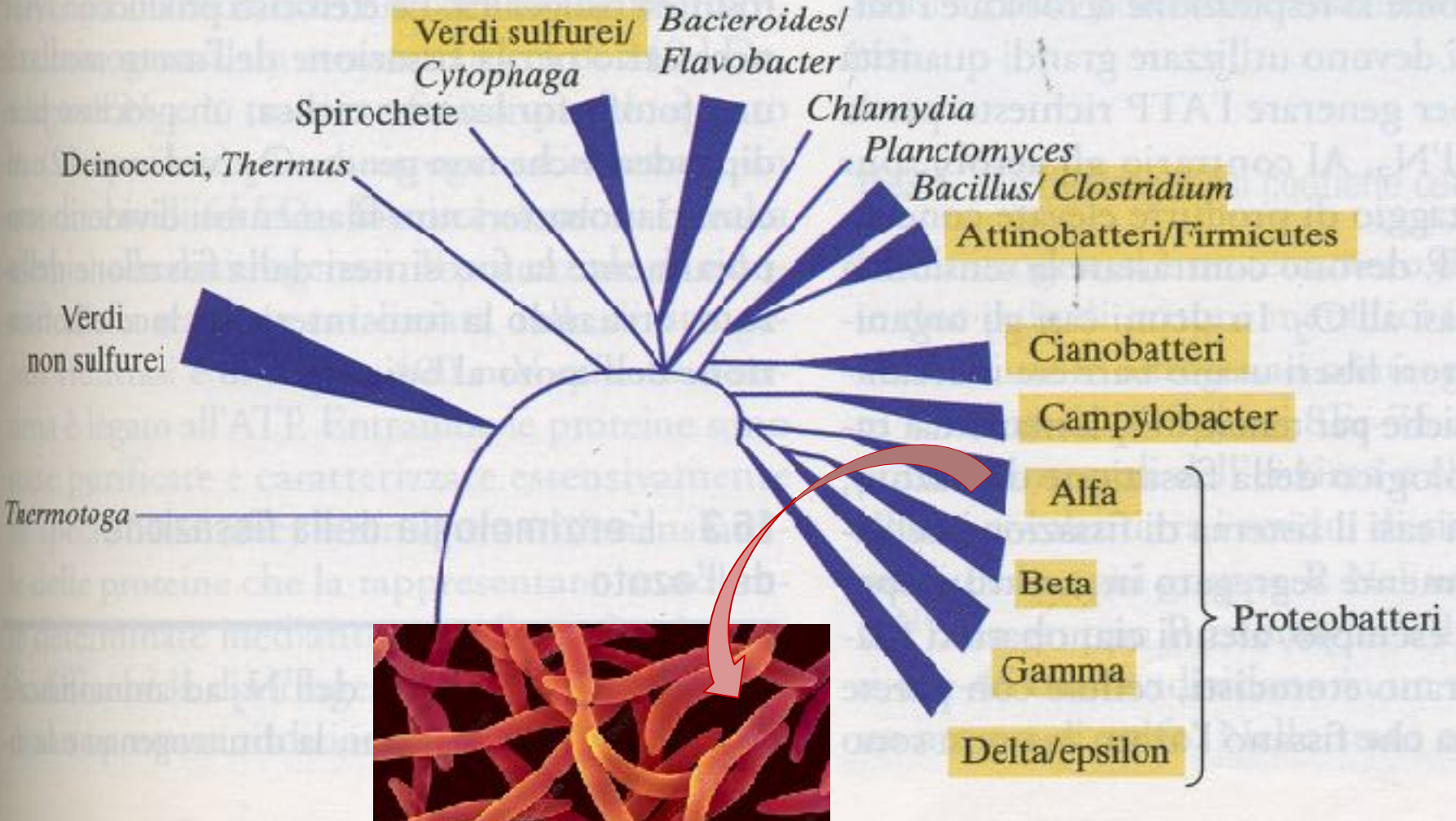


Figura 16.5 Distribuzione filogenetica di eubatteri azotofissatori. Una tassonomia semplificata di questi batteri mostra che, sebbene molti gruppi contengano specie azotofissatrici (evidenziate in giallo), la fissazione dell'azoto non è condotta da tutti i rappresentanti di questo gruppo.

La reazione è fortemente “energivora”:



NITROGENASI:

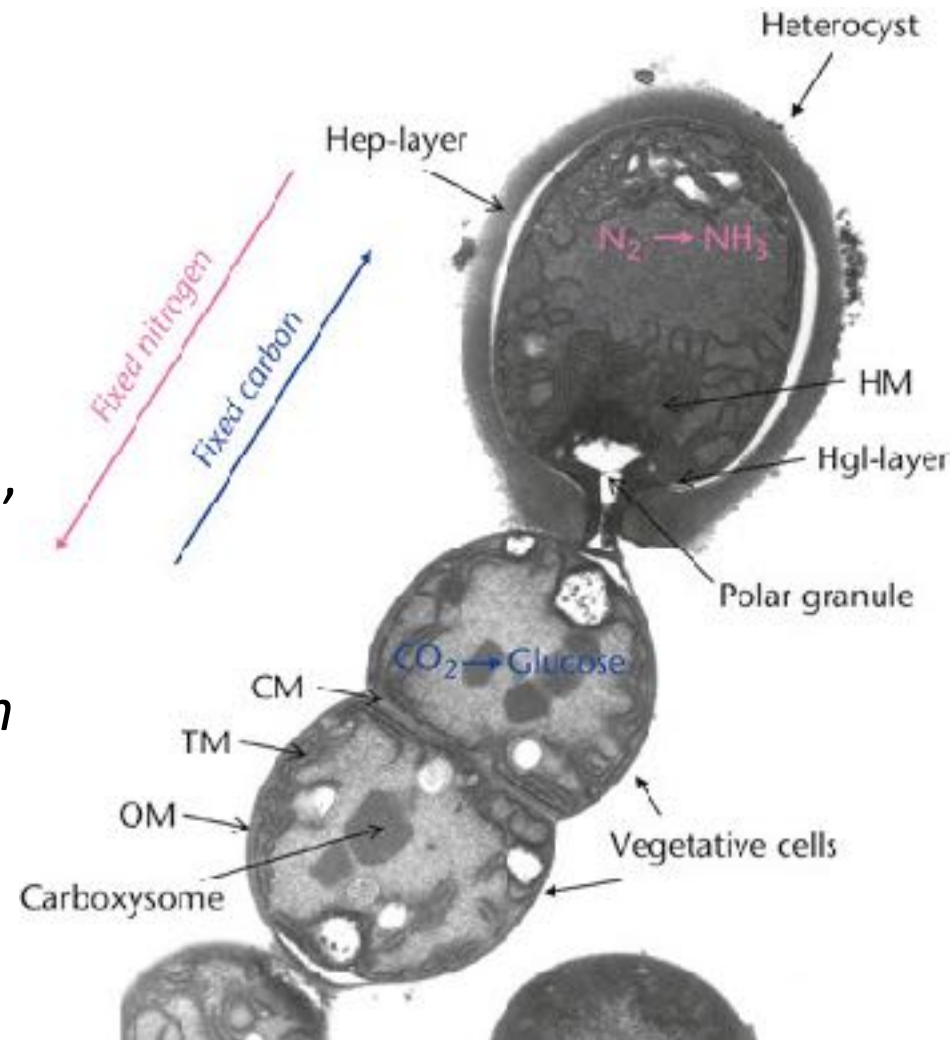
- Bassa specificità di substrato: riduce non solo N_2 , ma anche N_2O ($\rightarrow \text{N}_2 + \text{H}_2\text{O}$) e **acetilene** ($\text{C}_2\text{H}_2 \rightarrow \text{C}_2\text{H}_4$).
- Viene inattivata rapidamente e in modo irreversibile dall' O_2 .

problema = sensibilità all'ossigeno \rightarrow soluzioni evolute dai cianobatteri

- Il fenomeno è limitato a condizioni di **anossia**, o perché le cellule sono coperte dal sedimento o perché la fissazione viene svolta al buio, durante la notte;

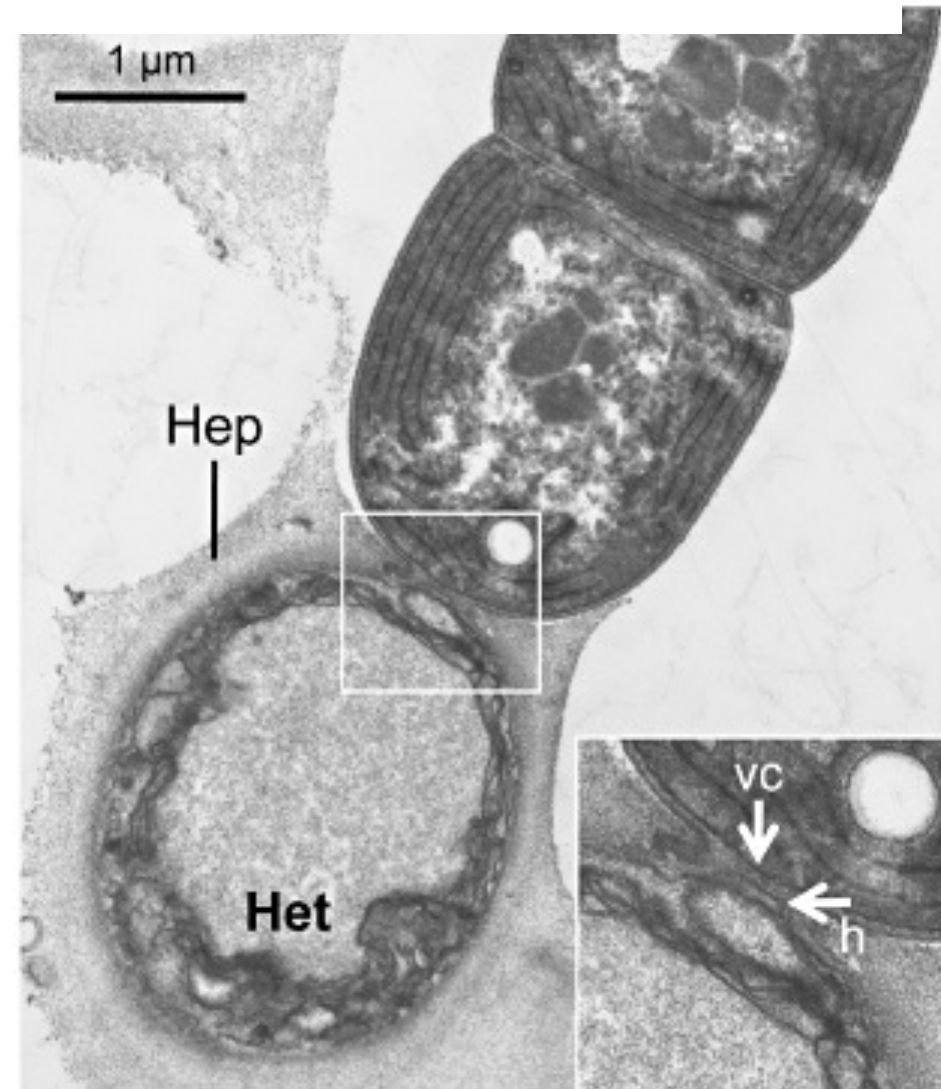
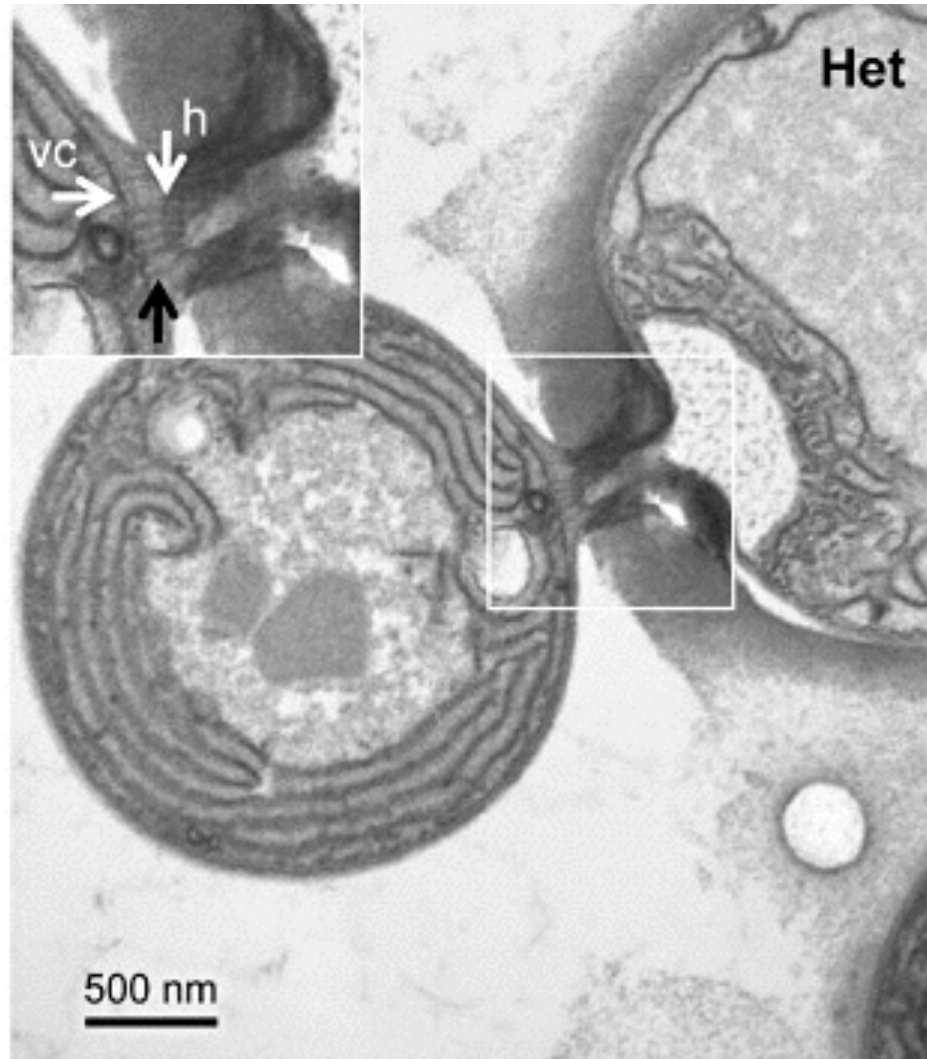
- Il fenomeno è **limitato a cellule coloniali povere di pigmenti fotosintetici**;

- È nata una super-specializzazione, con **suddivisione delle funzioni tra cellule** dello stesso filamento; per fare ciò deve esistere un *continuum* dei citoplasmi («**simplasto**») → **ETEROCISTI**



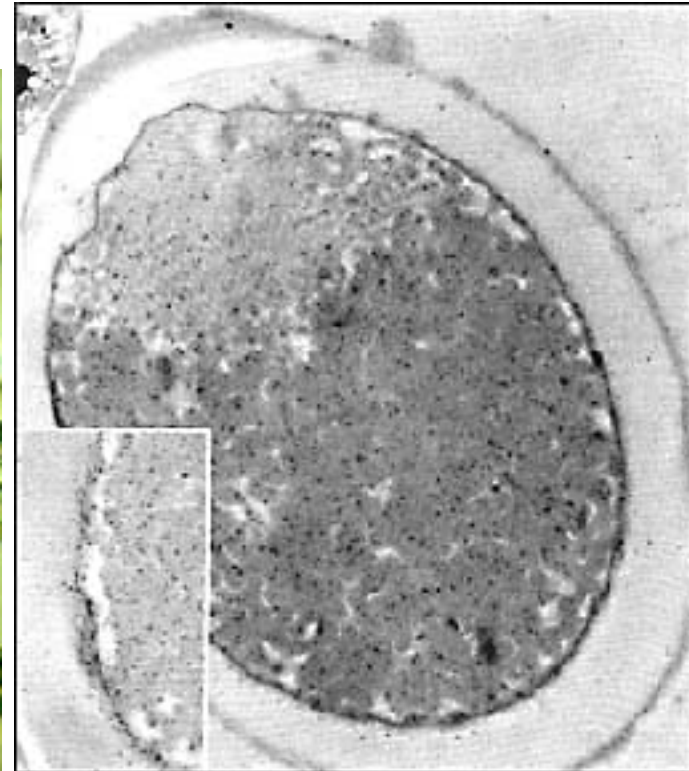
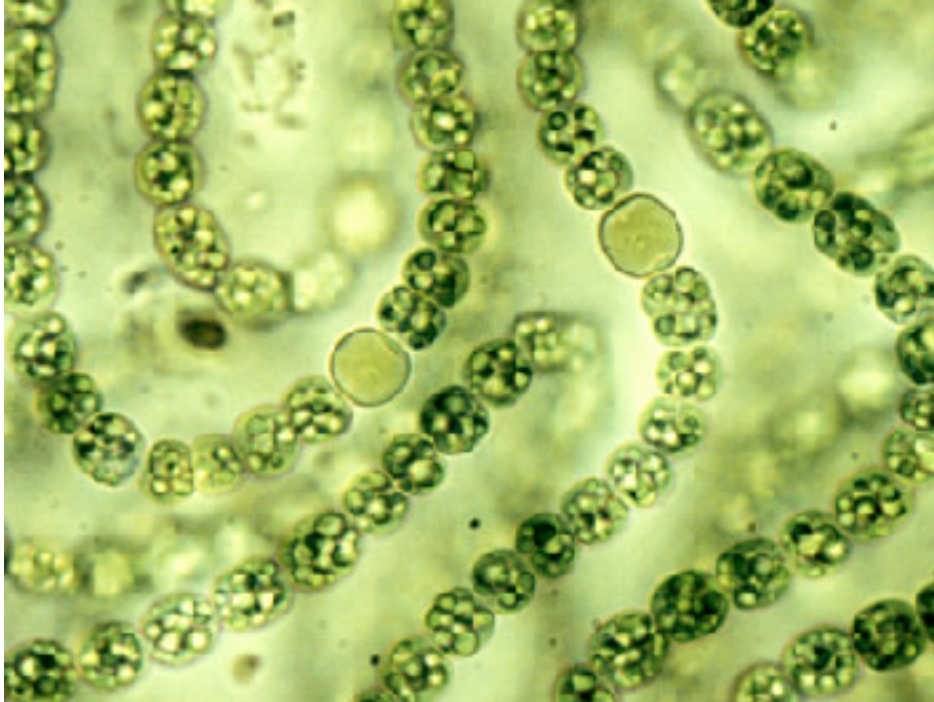
ETEROCISTI

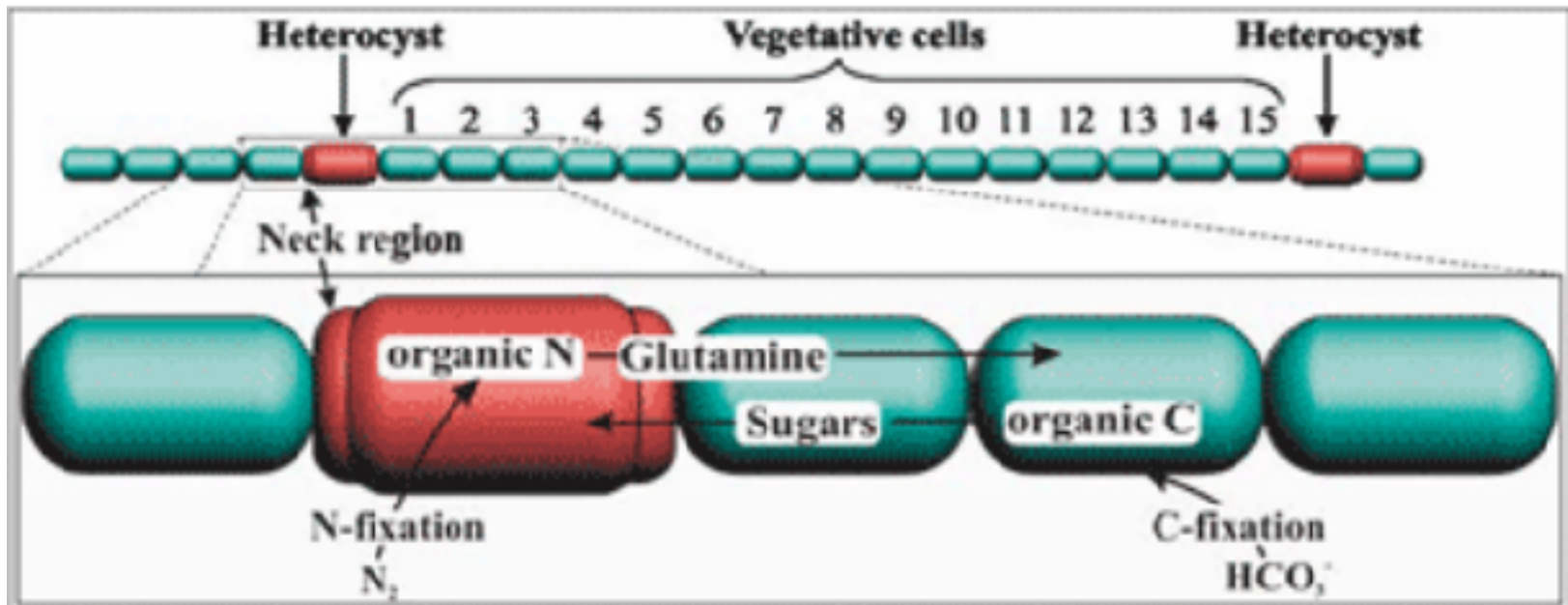
- forma tondeggiante,
- più grandi (da 2 a 12 volte) delle normali cellule del filamento
- connessione fisica tra l'eterocisti e le due cellule adiacenti, tramite una speciale punteggiatura attraversato da microtubuli



Heterocysts:

- produce three additional cell walls, including one of glycolipid that forms a hydrophobic barrier to oxygen
- produce nitrogenase and other proteins involved in nitrogen fixation
- lack photosystem II, which produces oxygen
- up-regulate glycolytic enzymes
- produce proteins that scavenge any remaining oxygen
- contain polar plugs composed of cyanophycin which slows down cell-to-cell diffusion



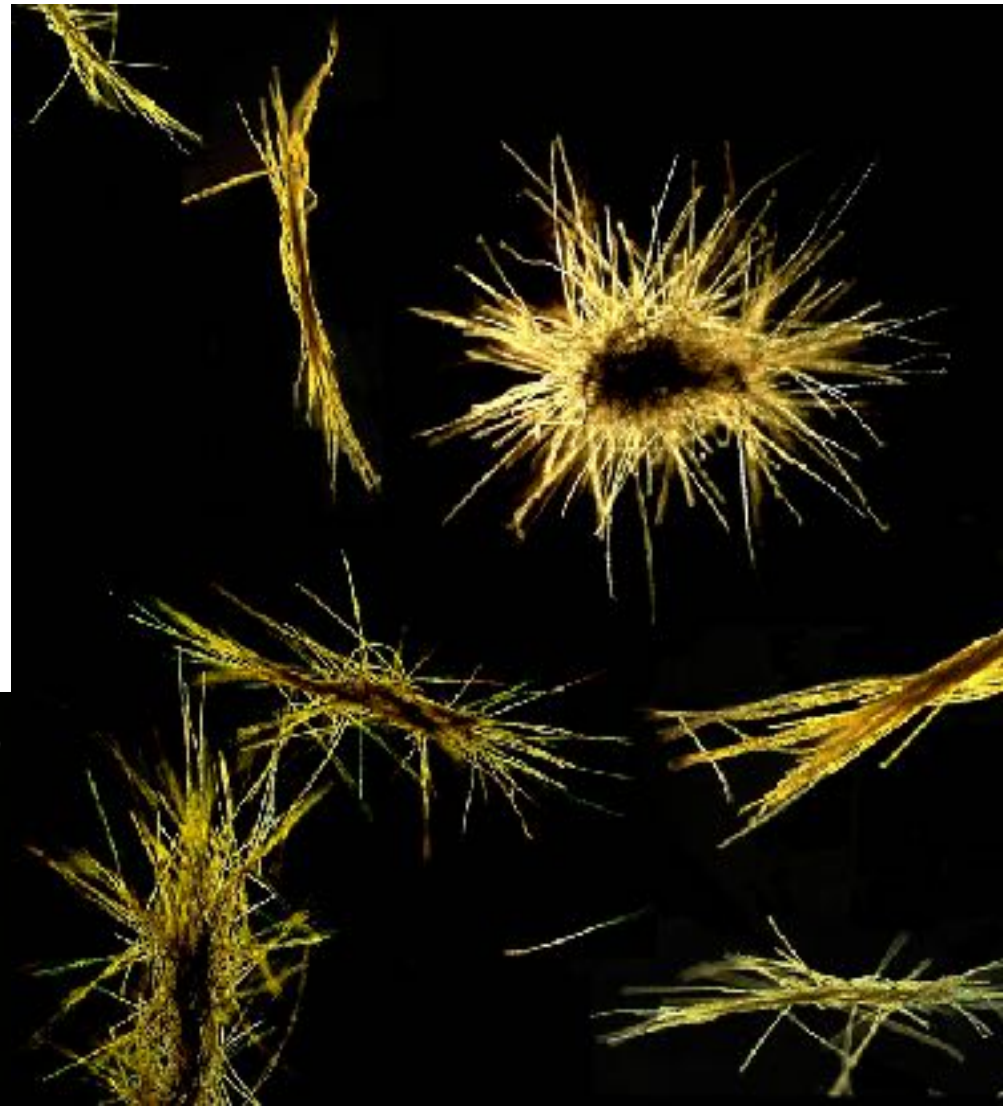


Il potere riducente (NADPH) e parte dell' ATP vengono forniti all'eterocisti dalle cellule adiacenti, tramite un flusso attivo di zuccheri, che viene "ripagato" con le molecole contenenti l'azoto ridotto di neo-formazione sotto forma di aa, il tutto grazie alle connessioni citoplasmatiche.



Per alcuni ecosistemi l'approvvigionamento di azoto da parte dei cianobatteri è fondamentale.

Si è dimostrato ad es. che il cianobatterio planctonico *Trichodesmium marinum* è la più importante fonte di azoto per la zona eufotica (=illuminata) dell'Atlantico tropicale.



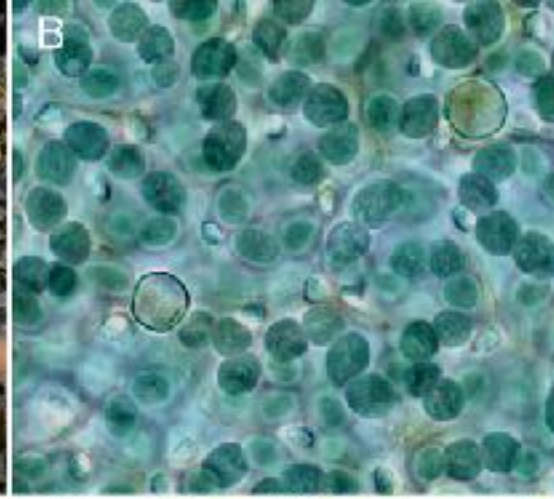
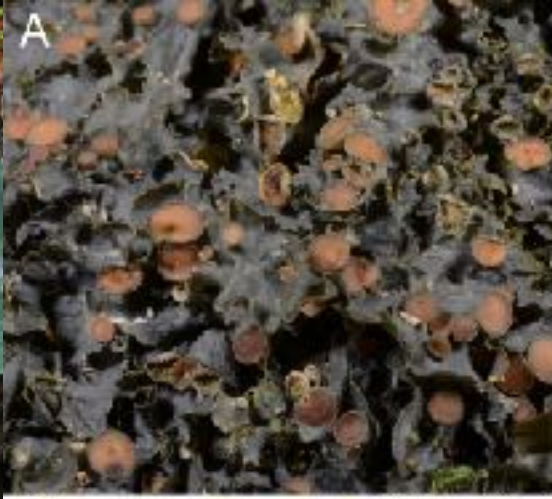
Capone D.G., Zehr J.P., Paerl H.W., Bergman B., Carpenter E.J. 1996. *Trichodesmium*, a Globally Significant Marine Cyanobacterium. *Science* 276: 1221-1229.

Berman-Frank I., Lundgren P., Chen Y., Ku-pper H., Kolber Z., Bergman B., Falkowski P. 2001. Segregation of Nitrogen Fixation and Oxygenic Photosynthesis in the Marine Cyanobacterium *Trichodesmium*. *Science* 294: 1534-1537.

Importanza evolutiva ed ecologica dei cianobatteri

- Precambriano (4,6 bya till 541 mya)
- **Stromatoliti**: rocce calcaree sedimentarie, stratificate, formate da batteri e cianobatteri
- **Teoria endosymbiontica** [Lynn Margulis (1967) *On the Origin of Mitosing Cells* → Gray (2017) *Lynn Margulis and the endosymbiont hypothesis: 50 years later.*
- Cianobatteri come **epibionti** (sul tallo di macroalghe)
- Cianobatteri come **simbionti** (ectobionti) in licheni, briofite, felci, angiosperme, diatomee, spugne, coralli, amebe
- Sintesi di **micosporine** (MAA, *microbial sunscreens*) → assorbimento di radiazioni UV alte → schermo/protezione; protezione da stress ossidativo e desiccamento

simbiosi **extracellulari**: uno dei due simbionti è sempre esterno alla membrana cellulare della cellula ospitante, quando non esterno anche alla sua parete



CYANOLICHENS

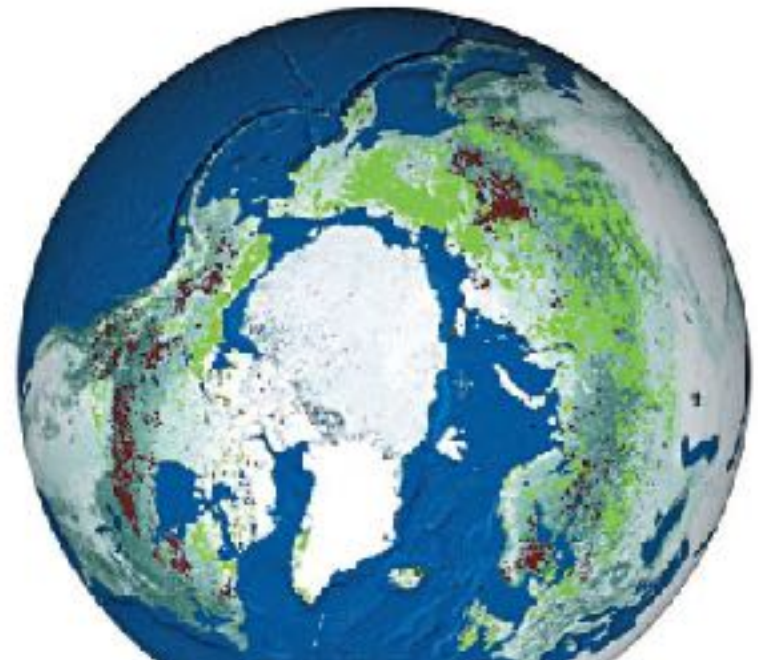




Collema sp.



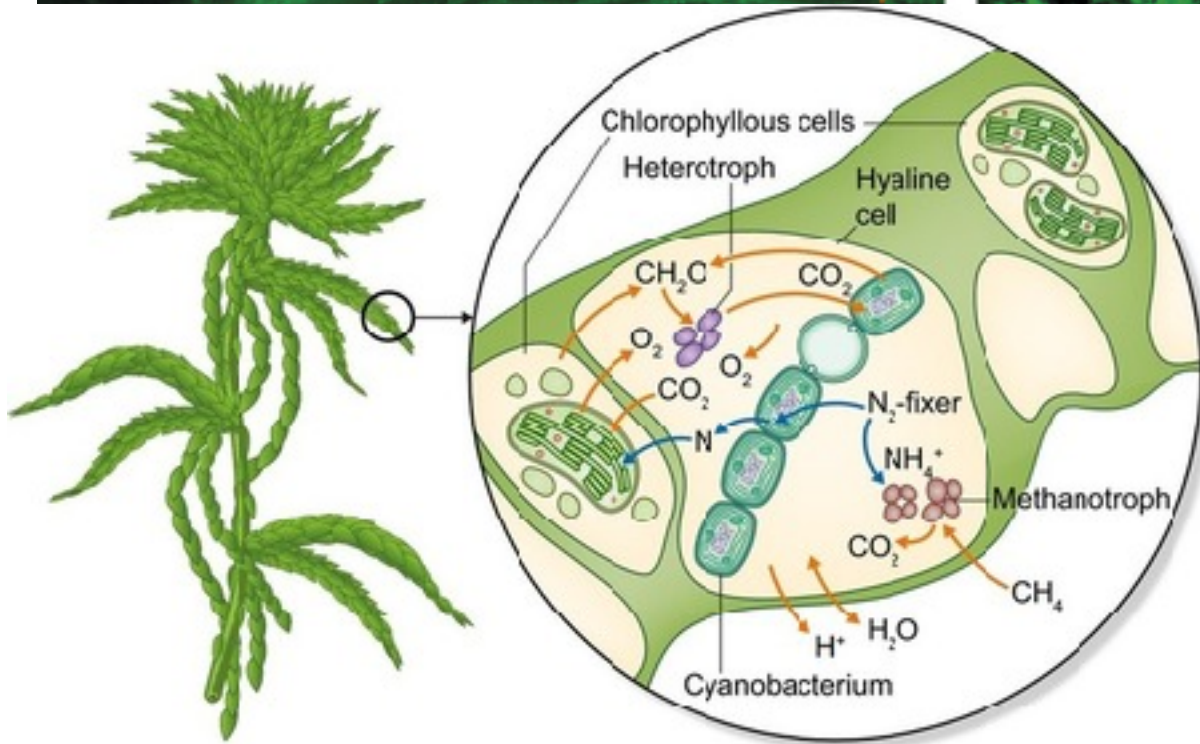
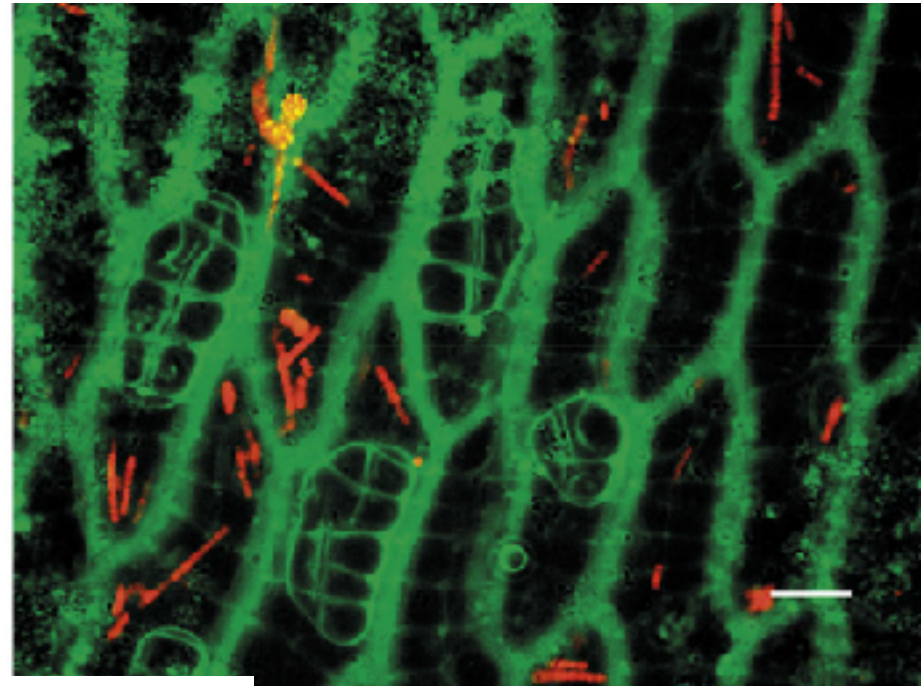
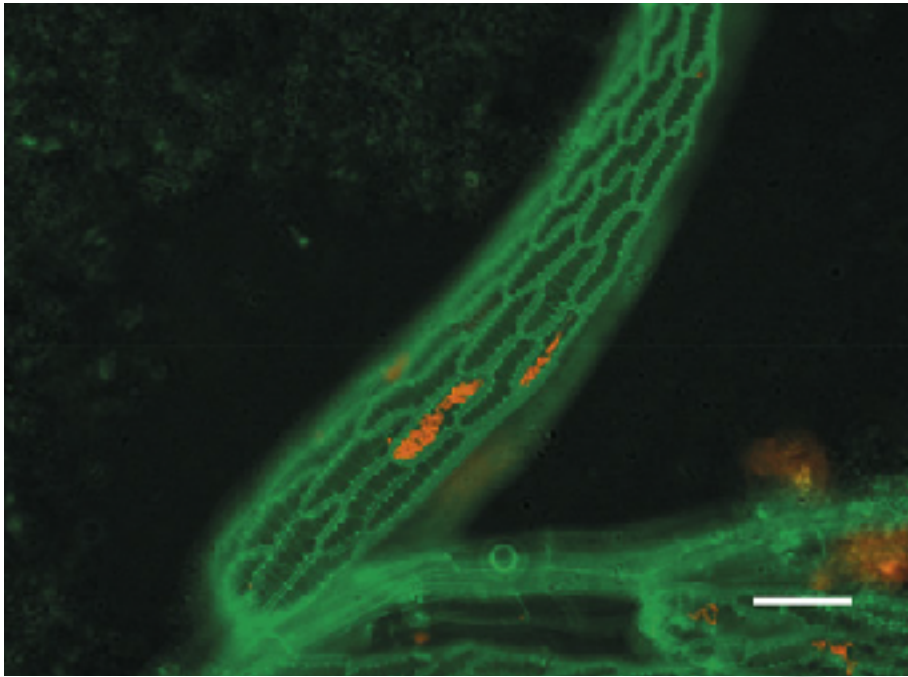
Briofite & cianobatteri



**...nelle cellule ialine (hyalocytes)
degli sfagni (peatmosses)**

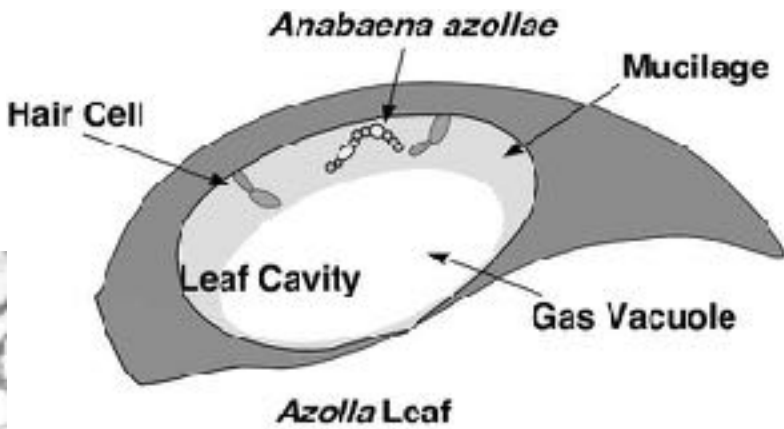
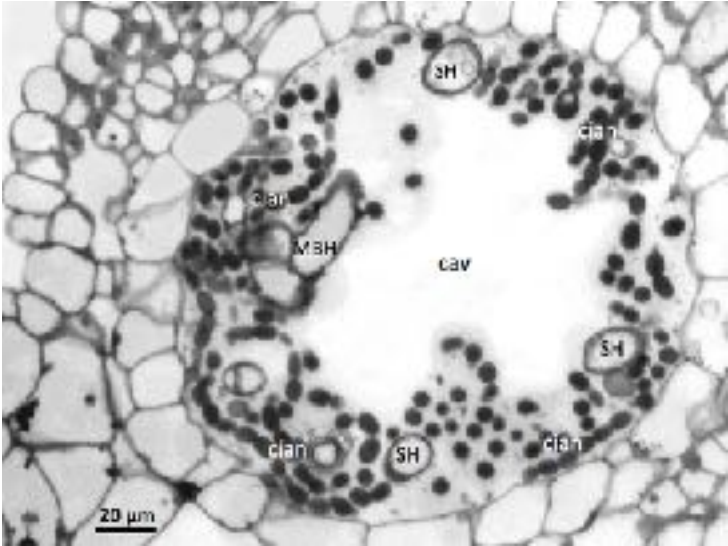
340 generi di briofite (e.g. *Blasia*, *Cavicularia*, *Anthoceros*, *Notothylas*, *Phaeoceros*) associati con cianobatteri (*Nostoc* spp.)





The *Sphagnum* microbiome: new insights from an ancient plant lineage.
Kostka et al. (2016)
New Phytologist

Pteridofite & cianobatteri



Felce acquatica *Azolla filiculoides* con cianobionte *Anabaena azollae*





Azolla filiculoides



Gunnera spp. (Angiosperme) & cianobatteri





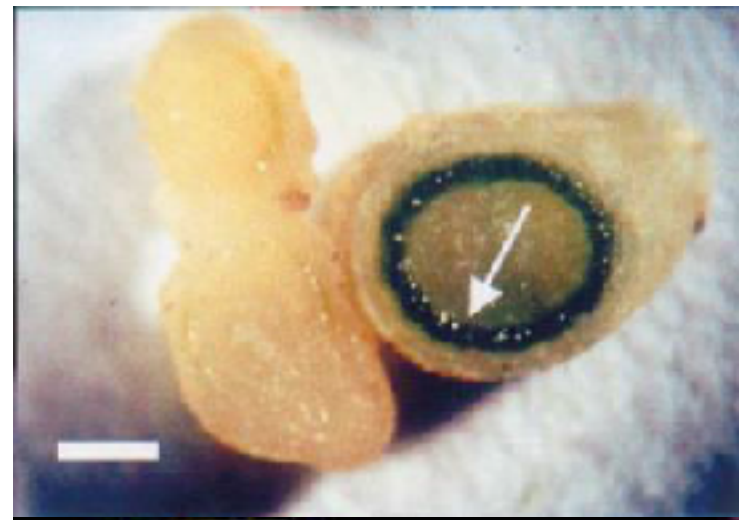
Una «falsa palma» del genere *Cycas*: quando fiorisce si forma una infiorescenza gigante a forma di pigna, che rivela la sua affinità evolutiva con le conifere (che producono pigne, dette anche «coni»).



Encephalartos sp. with precoralloid growth at root/shoot junction and contractile zone at top of large primary root.



Coralloid (C) and Precoralloid (PC) on a *Cycas revoluta* growing in the Frid Haupt Conservatory at the New York Botanical Garden. The green cyanobacterial zone [arrow] is clearly visible in a broken root as well as the green coloration in the precoralloid apices.



David Webb

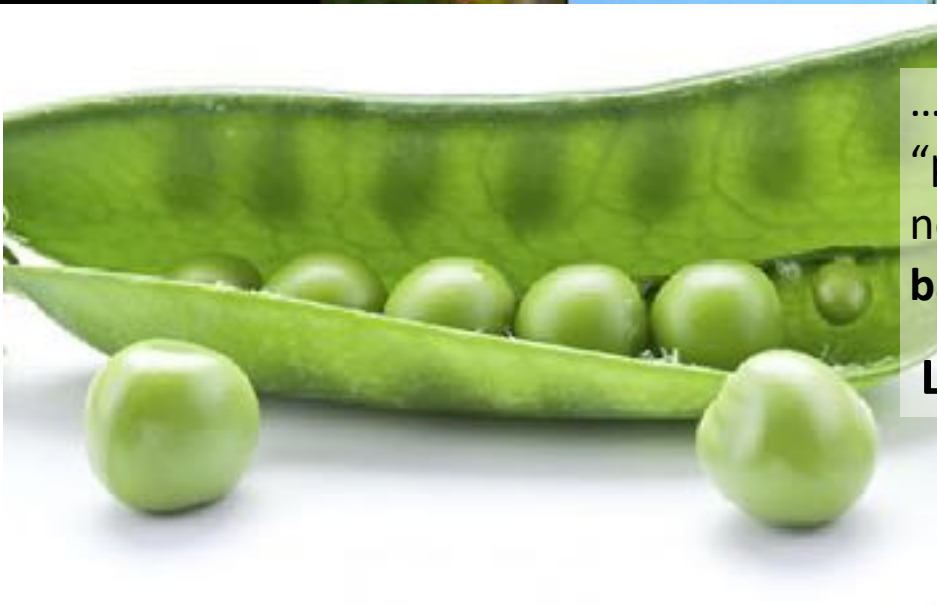
Nelle radici coralloidi, i cianobatteri sono in posizione **intercellulare**.

Alnus viridis (Angiosperme) & batteri (*Frankia* spp.)

N-fissatori però
Actinobacteria!!!!!!!!!!!!!!)

diazotrofi simbiotici ($N_2 \rightarrow NH_3$)

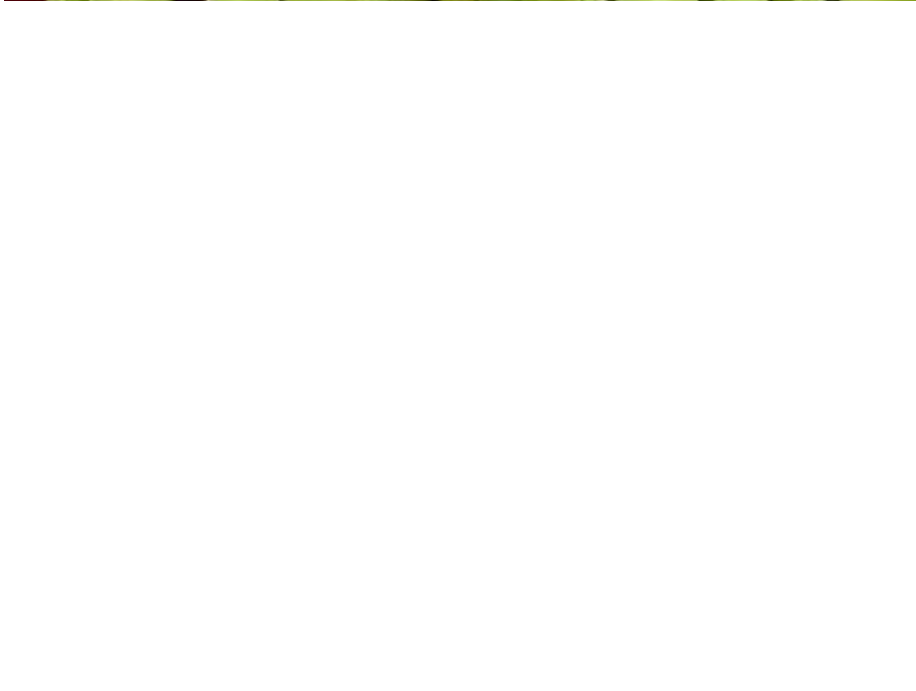




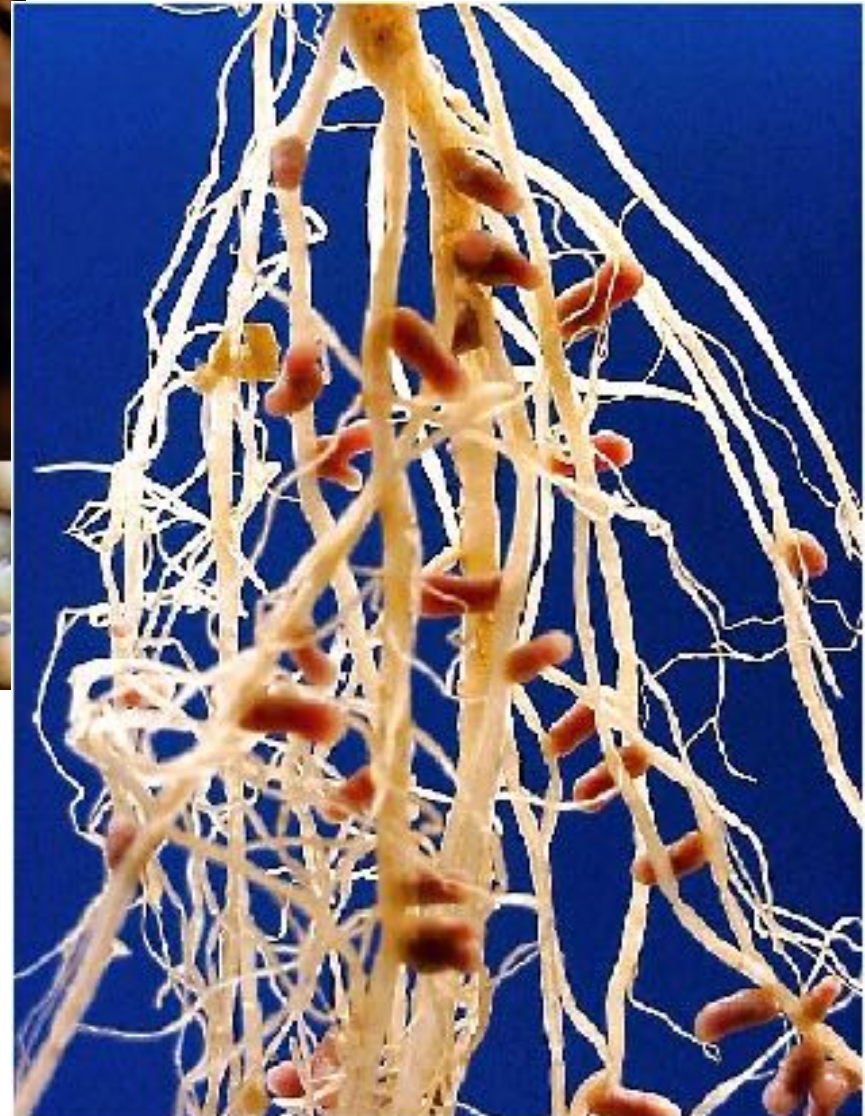
...altri gruppi di piante hanno
“preferito” contrarre simbiosi
non con i cianobatteri, ma con
batteri azotofissatori...

Leguminose (Lathyraceae)





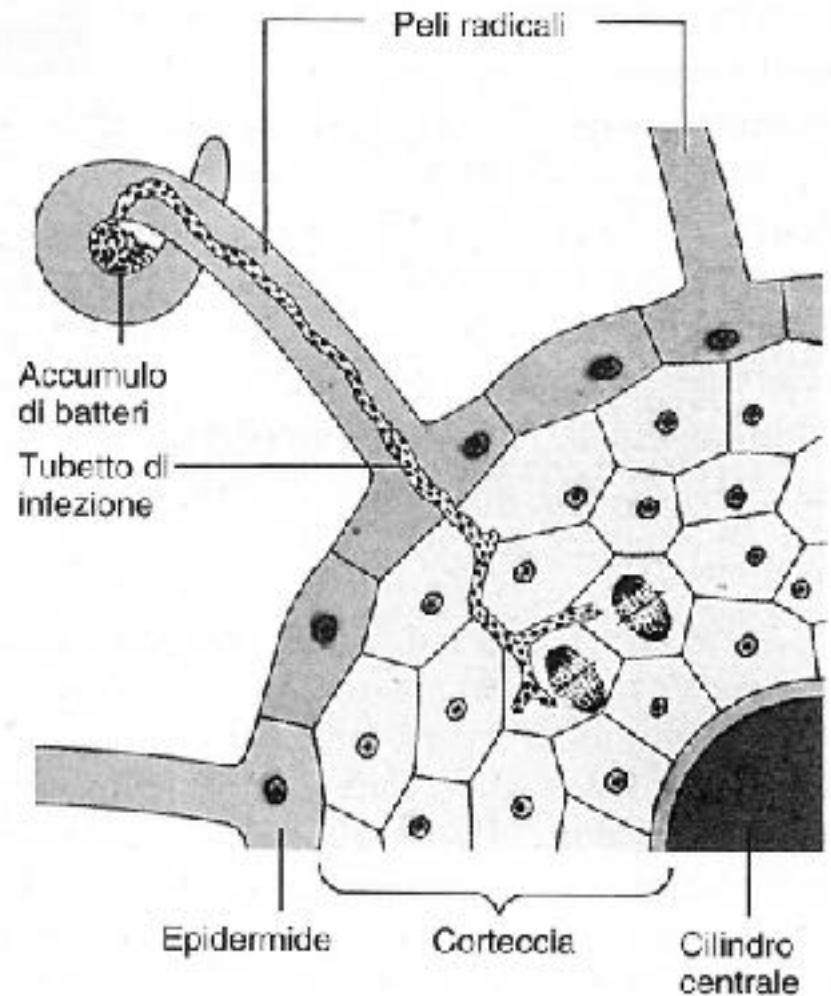
Le LEGUMINOSE formano una simbiosi con batteri azotofissatori a livello radicale, formando dei **NODULI RADICALI**.



Messaggeri molecolari tra pianta e batteri:

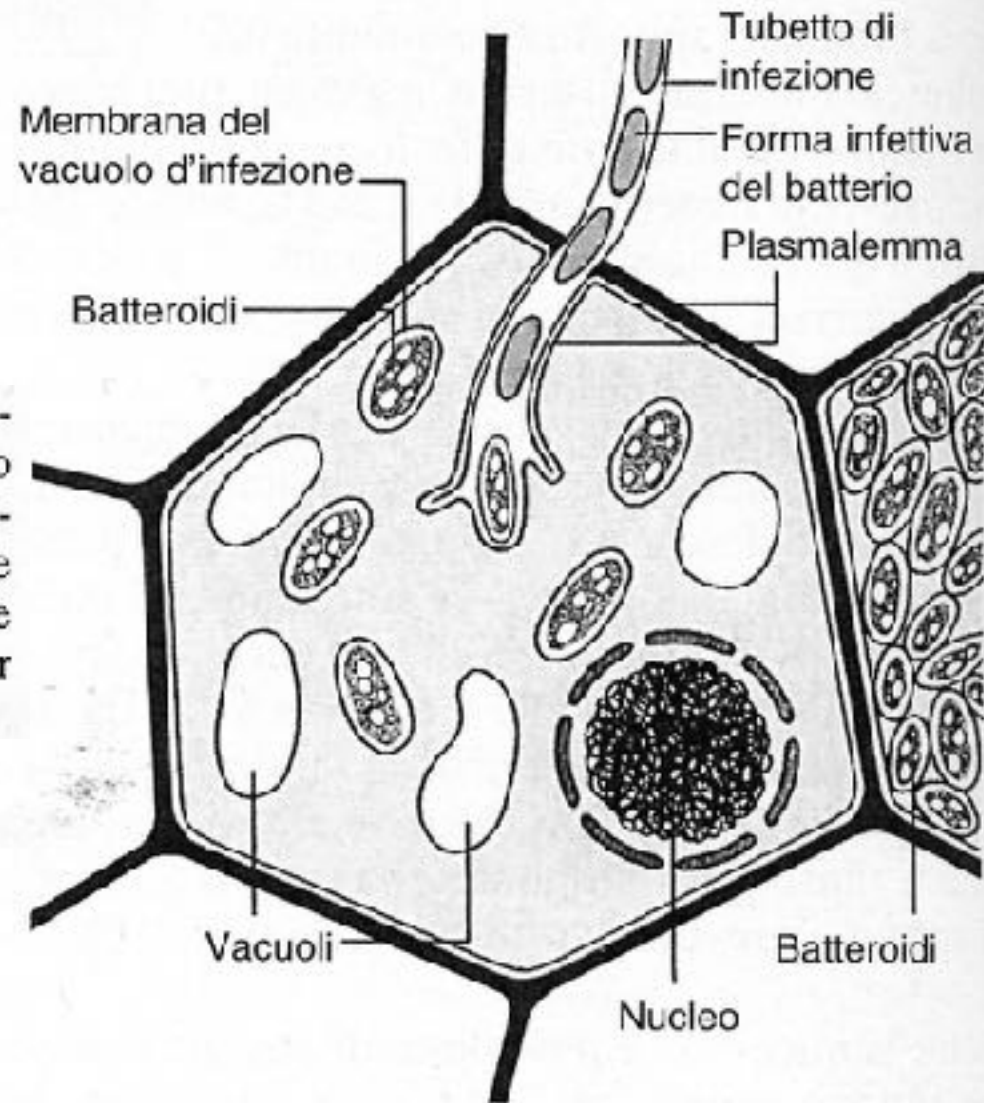
- la radice rilascia nel suolo derivati fenolici o flavonoidi, che stimolano nei batteri presenti nel terreno l'espressione di un gruppo di geni (**Nod**) che codificano per una serie di enzimi i quali a loro volta portano alla sintesi di particolari molecole.

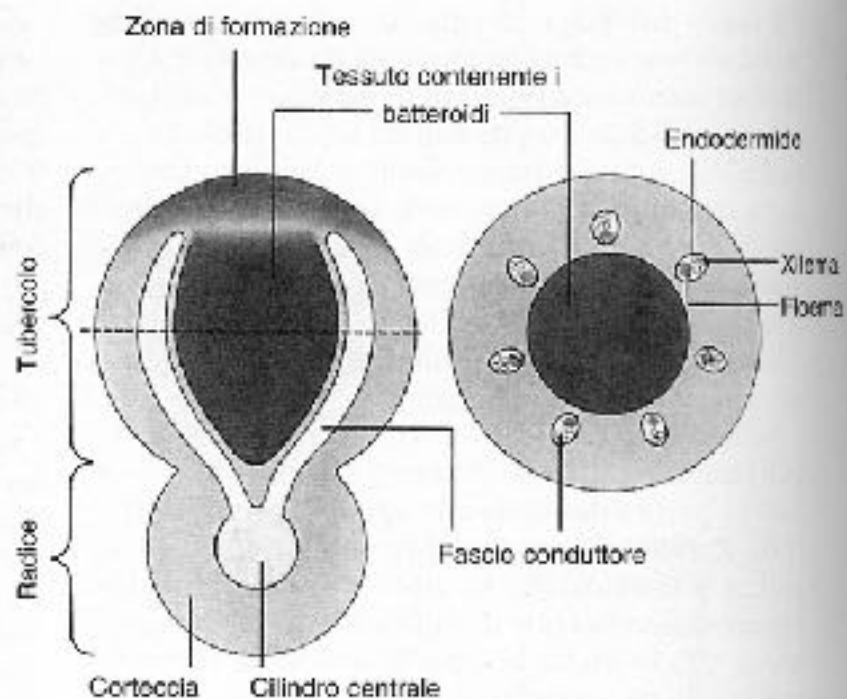
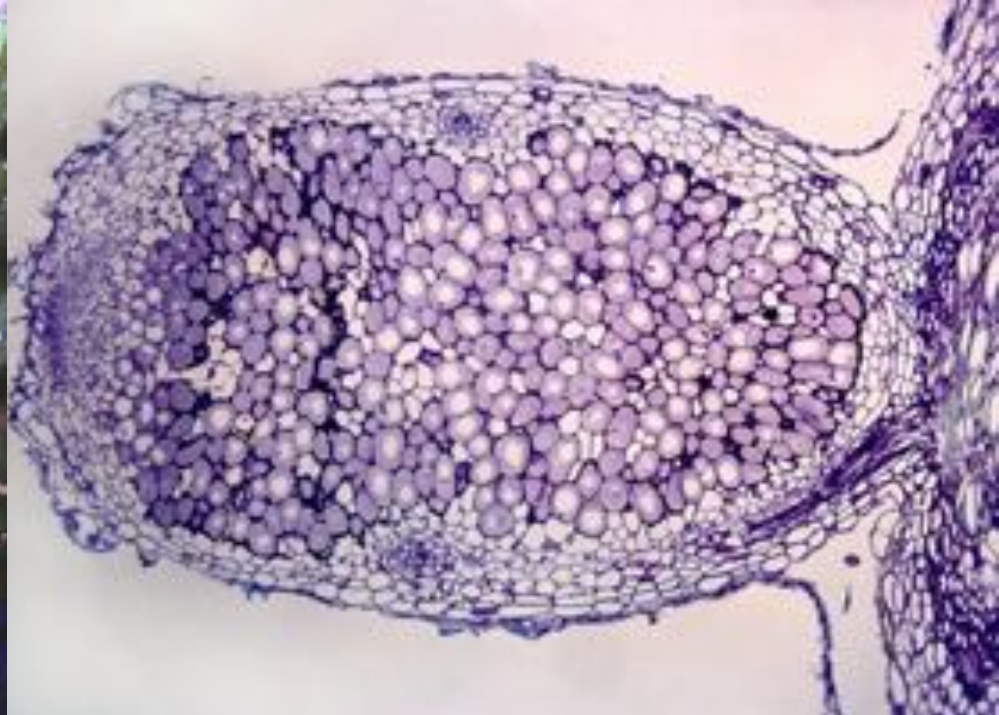
Tali molecole, degli oligomeri della N-acetilglucosamina, si legano ad un recettore del pelo radicale stimolandone la reazione.



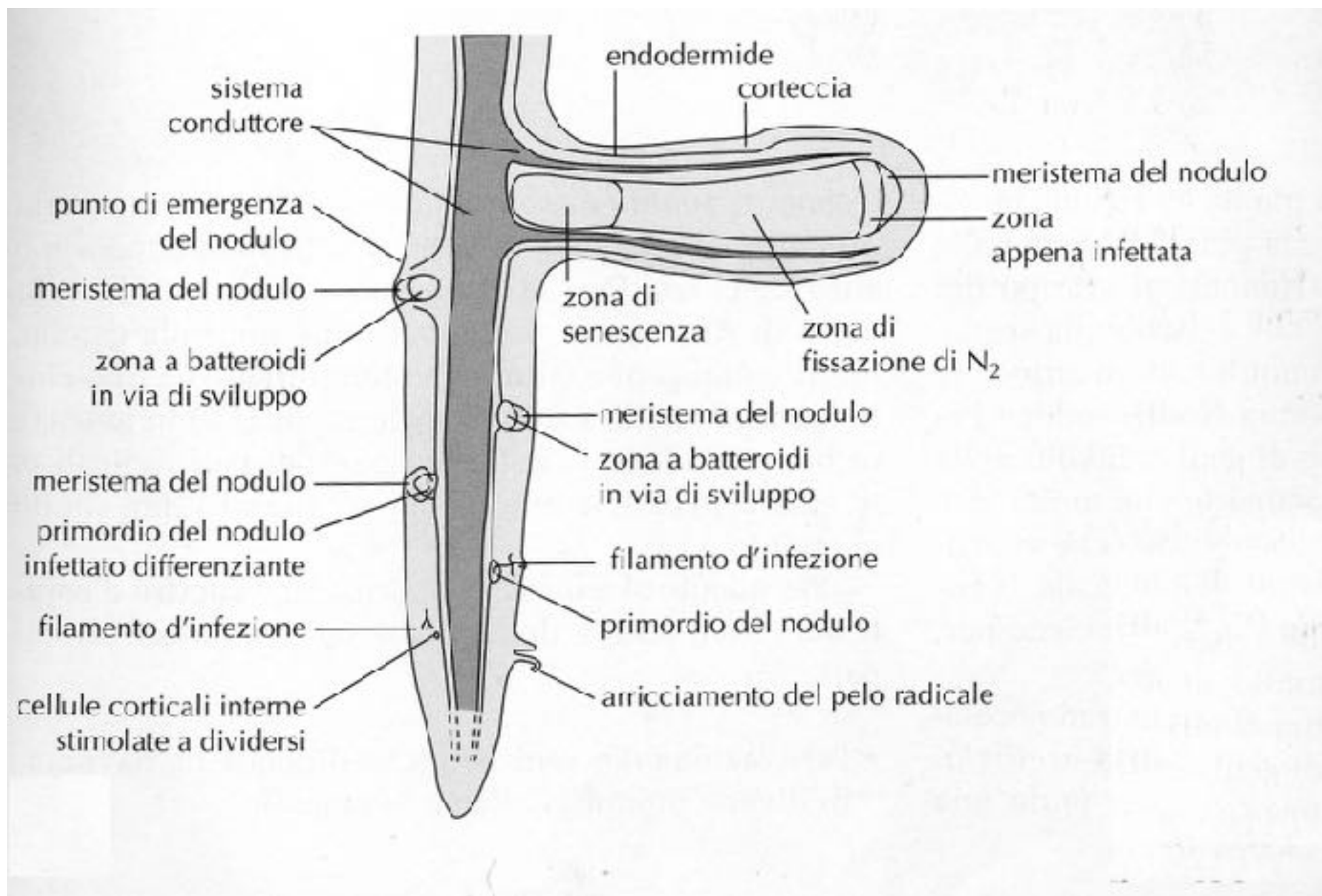
La simbiosi si stabilisce con l'adesione dei batteri ai *peli radicali* (verosimilmente mediante *lectine*, sostanze capaci di riconoscimento), a cui segue la penetrazione dei batteri nei peli stessi. All'interno dei peli i batteri vengono contornati da una struttura mucillaginosa, il *tubetto d'infezione*

Il filamento progredisce di cellula in cellula grazie a divisioni successive del batterio nello strato corticale della radice in direzione del cilindro centrale. Nell'attraversare la giovane parete cellulare dei peli le fibrille di cellulosa vengono lacerate, le protopectine e le emicellulose vengono digerite per via enzimatica.





Il filamento d'infezione, in prossimità del cilindro centrale, stimola la divisione cellulare dello strato corticale della radice. Si forma perciò un *meristema* che, mediante la produzione continua di cellule, dà origine a un caratteristico nodulo detto *tubercolo*. La porzione centrale del nodulo è contornata da un *anello di fasci conduttori* che prendono origine dal sistema conduttore della radice. Diversamente da quanto avviene nella radice, nel nodulo il legno si trova all'esterno e il libro all'interno.



Rhizobium sp. OKH-03



Rhizobium bacteroids in bean nodules

Le cellule dei noduli vengono rapidamente colonizzate dai batteri che si moltiplicano a ritmo sostenuto. Le forme d'infezione dei batteri penetrano nelle cellule mediante *invaginazioni membranarie (endocitosi)*

La forma d'infezione con aspetto di bastoncino, non fissatrice di N_2 , subisce una modificazione morfologica che conduce a *batteroidi*, forme sferiche più voluminose fissatrici di N_2 . I batteroidi sono contenuti in *vacuoli d'infezione*, delimitati da una membrana, e occupano una consistente porzione del volume cellulare

Più tardi le membrane dei vacuoli d'infezione vengono demolite e i batteroidi digeriti dalle cellule vegetali.

batteroidi

- *Rhizobium* e generi affini comprendono batteri gram-negativi, aerobi o microaerobi (!!!)
- Nel nodulo radicale vengono create le condizioni ottimali perché la nitrogenasi lavori in condizioni ottimali, in particolare viene **regolata la concentrazione di O₂** che funge da potente inibitore dell'attività enzimatica
- → controllo mediato dalla formazione di **leg-emoglobina**, presente in elevate concentrazioni nel citosol delle cellule infettate.
- Il gruppo eme (Fe), che lega l'O₂, è prodotto dal batteroide, mentre la globina è prodotta dalle cellule della pianta = proteina simbiotica.
- Inoltre, il tessuto periferico esercita una notevole resistenza alla diffusione dell'O₂, grazie anche all'assenza di spazi intercellulari, che sono occlusi da una specifica glicoproteina.
- → **concentrazione interna di ossigeno circa 100 volte inferiore di quella esterna (0,2% invece che 20%).**

Lo sviluppo dei noduli illustra che le simbiosi rappresentano un equilibrio nella competizione per la vita: all'inizio i batteri attraversano la pianta, fatto che conduce all'infezione. Ciò provoca una reazione di difesa da parte della pianta (cattura dei batteri in un filamento d'infezione, formazione del nodulo, trasformazione dei batteri in batteroidi). Nelle cellule dei noduli la vitalità dei batteri e la capacità di difesa delle piante sono mantenute in equilibrio (equilibrio simbiotico). Alla fine la pianta risulta vincitrice poiché digerisce i batteri e diviene così parasita di questi.

Nitrogen fixation is an energy expensive process that requires up to 22% of the plants net photosynthate.

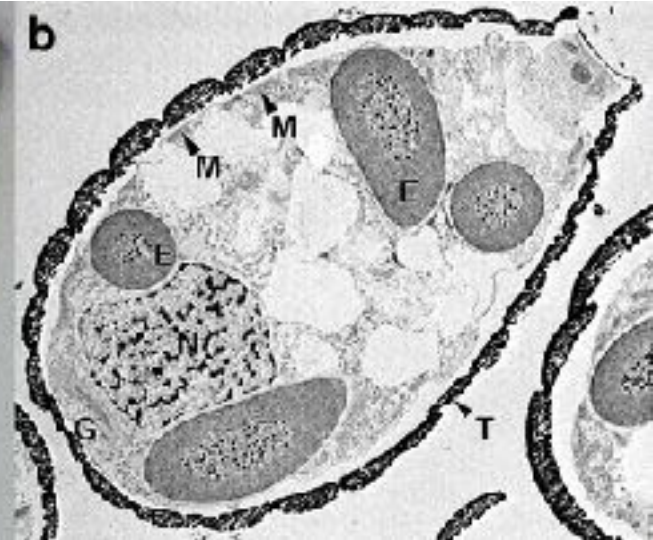
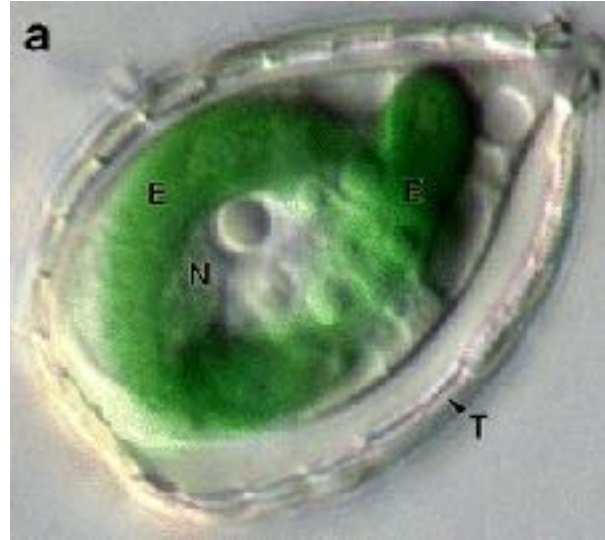
In nodules, the rhizobia bacteroids use carbon and energy from the plant in the form of dicarboxylic acids.

Recent studies shown that *Rhizobium* can use the amino acids from the plant to shut down their ammonium assimilation; however, the bacteria must provide the plant with ammonium in order to obtain the amino acids.

This alone would mean that the plant could regulate the amount of dicarboxylate that the bacteroids use by amino acid supply and dominate the relationship. This is not the case, however, because the bacteroids "act like plant organelles to cycle amino acids back to the plant for asparagine synthesis," making the plant dependent on them (Lodwig et al. 2003).

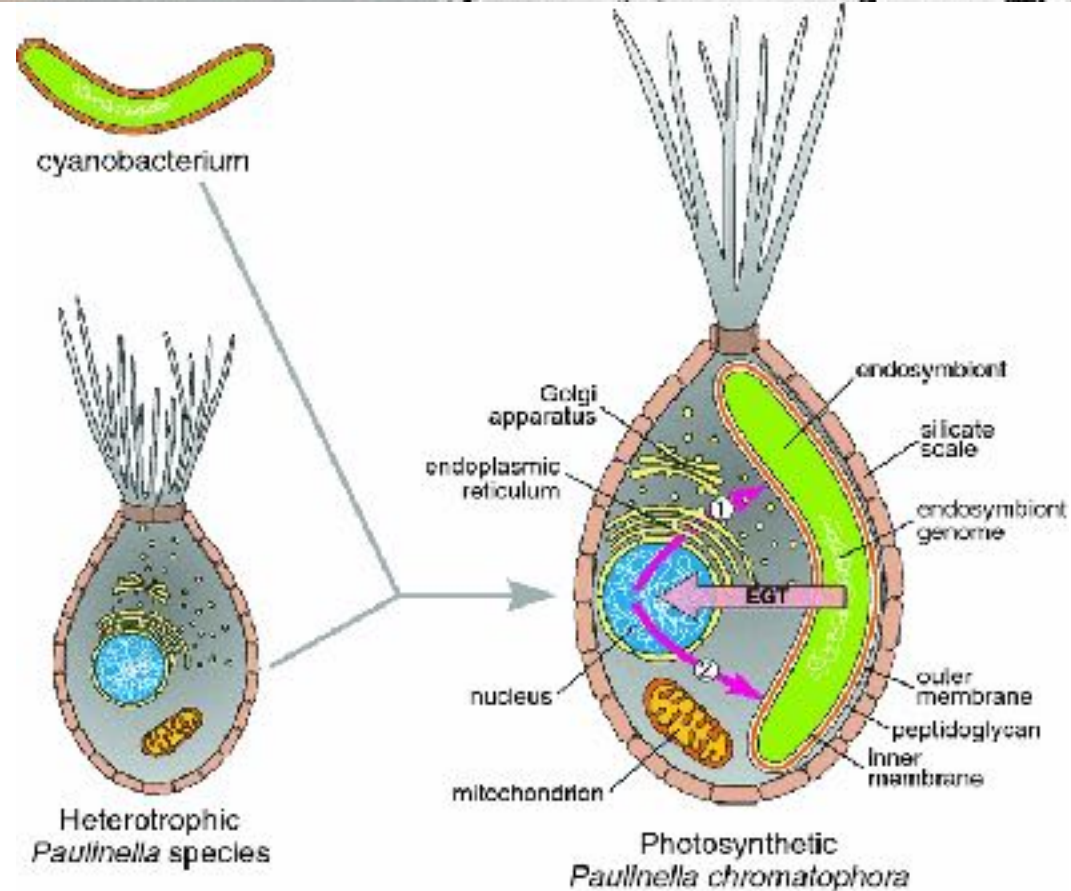
This system creates mutualism between the bacteria and the plant.

Ameba & cianobionti (“cleptoplastidi”)



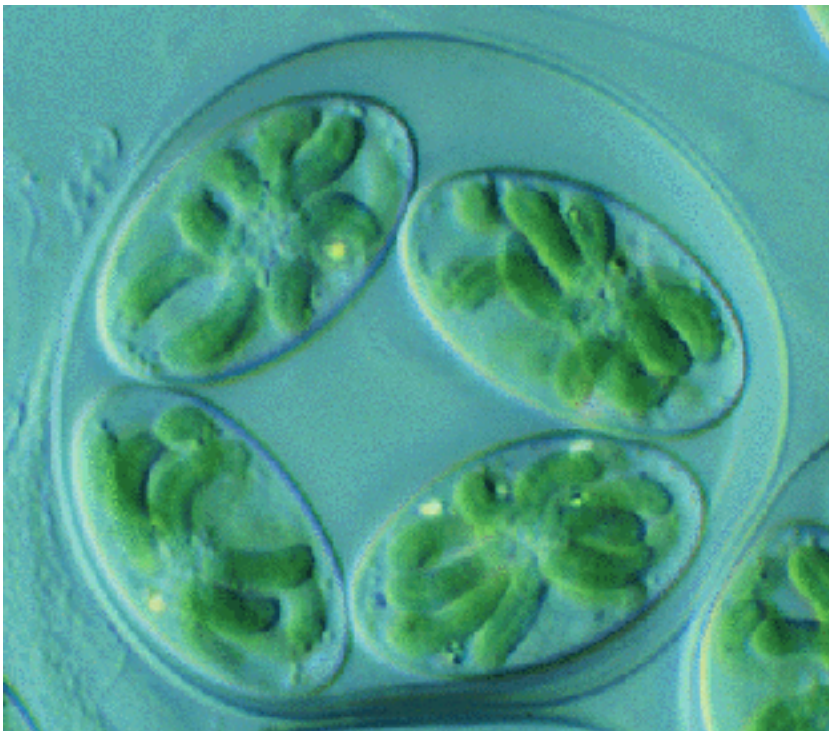
Pauliniella chromatophora (Euglyphide, ameba tecata) & cyanobacteria (very primitive ones with few DNA) = cleptoplastidi

simbiosi **intracellulare**: uno dei due simbionti cioè si trova all'interno del citoplasma della cellula ospitante

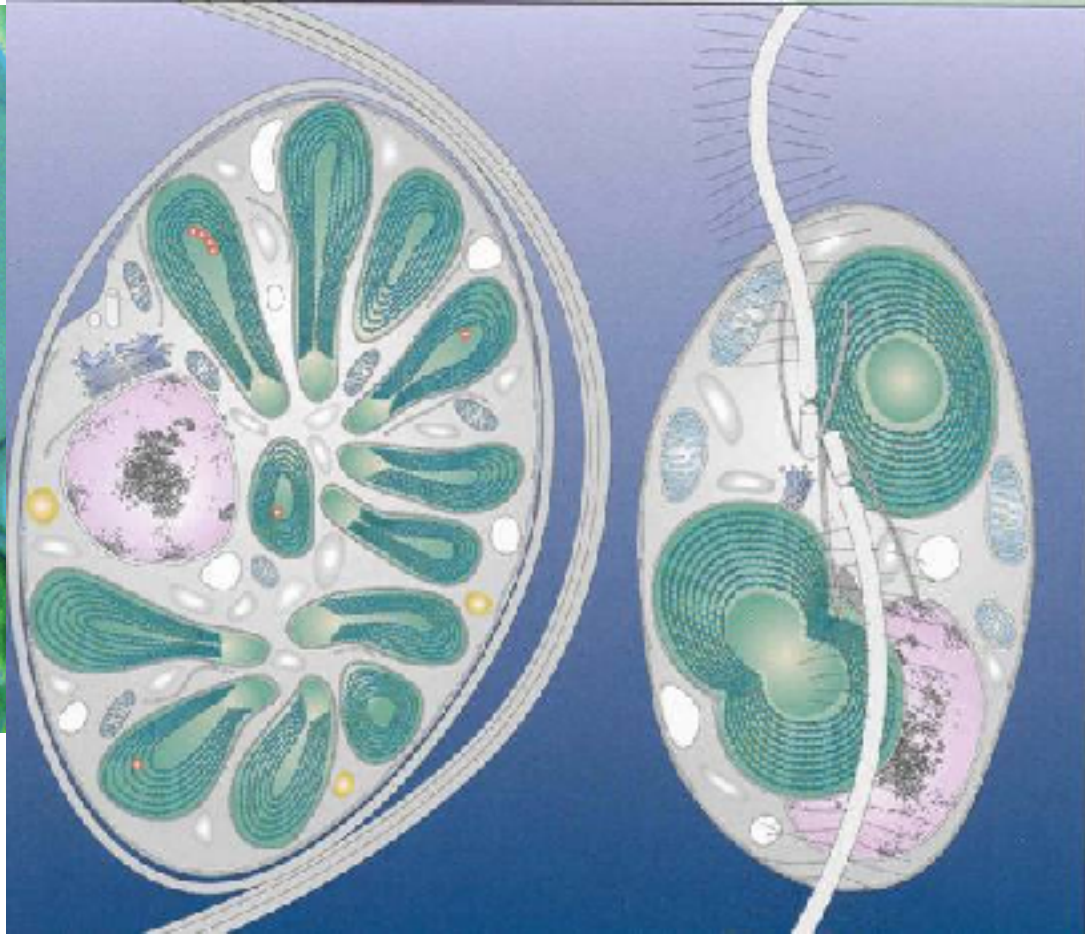


ENDOCIANOMI, organismi unicellulari (GLAUCOPHYTA) contenenti cianobatteri endociti indicati con il termine di **CIANELLE**, che hanno ancora una parete di peptidoglicano (dipendenza reciproca marcata tra endocitobionte ed ospite).

Cianella: DNA con solo 1/10 delle infos di un cianobatterio normale, la maggior parte delle proteine specifiche sono codificate sul DNA della cellula ospite.

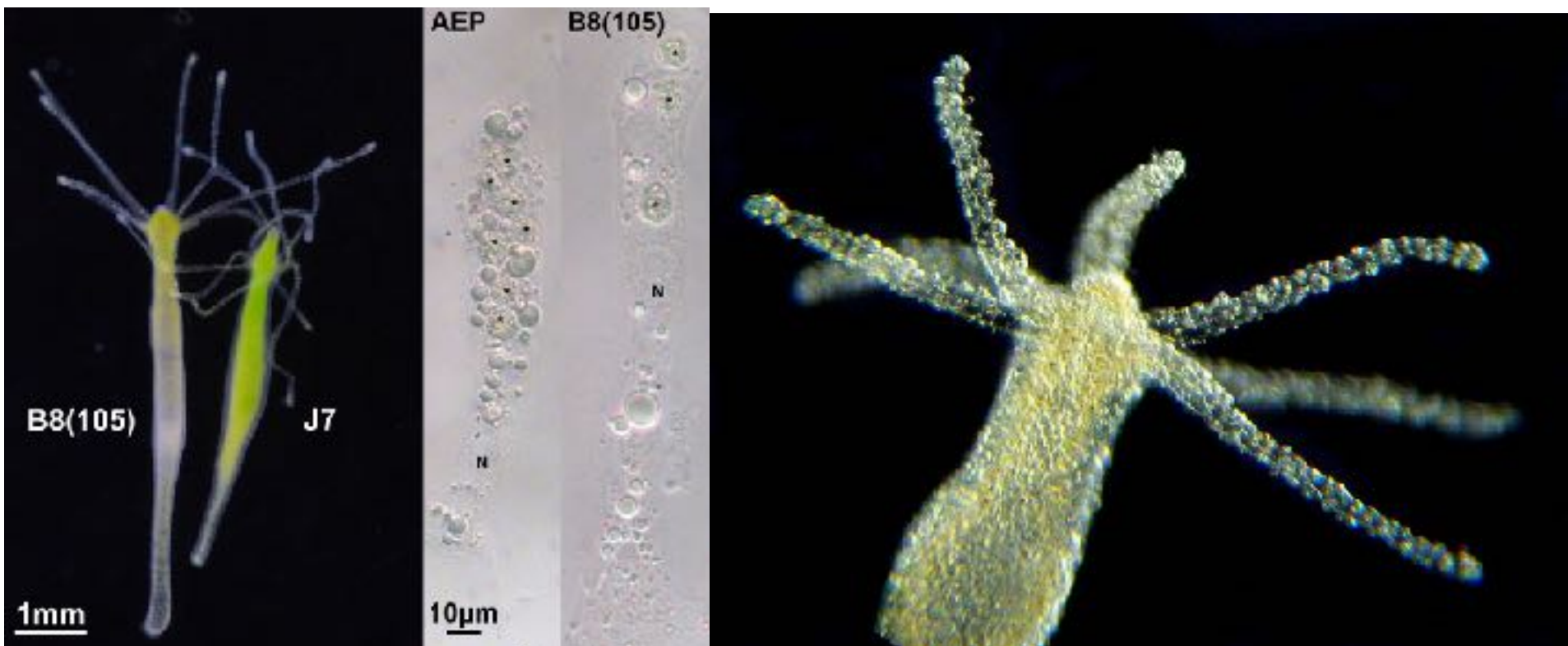


Glaucocystis nostochinearum



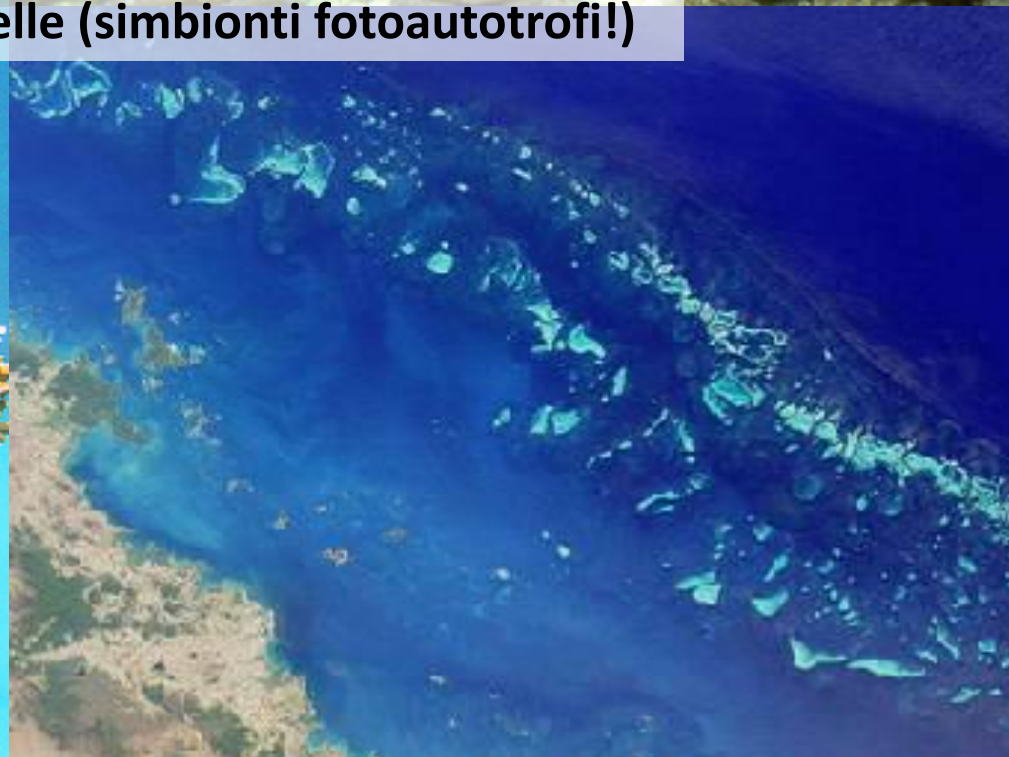
Endocitobiosi (stabile) in cui cellule fotosintetiche variamente ridotte nella loro complessità citologica sono partner di organismi animali uni- e pluricellulari → fenomeno ecologicamente significativo.

Madrepore, amebe, diversi ciliati, alcuni funghi, i polipi d'acqua dolce (*Hydra*) spesso contengono all'interno delle loro alghe che possono venire digerite, ma che forniscono abitualmente sostanze utili.





Coralli con Zooxanthelle (simbionti fotoautotrofi!)





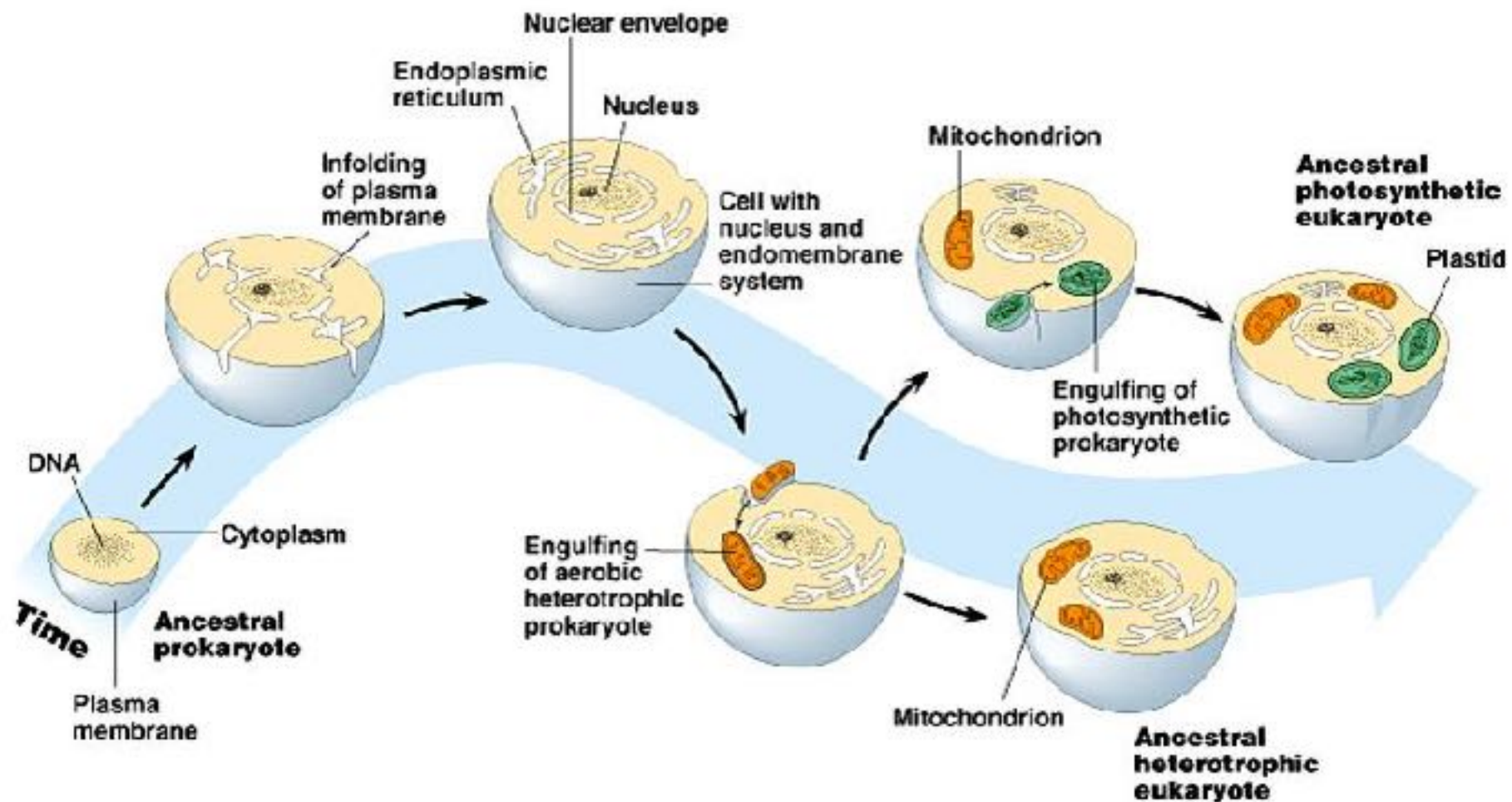
.... la primitiva ameba gigante *Pelomyxa palustris*

AL 5015 [RM] © www.visualphoto.com

- È priva di ditiostomi, vacuoli contrattili, centrioli, flagelli, mitocondri.
- Possiede svariati batteri endocitobiontici obbligati, con f(x) analoga ai mitocondri.



ORIGINE ENDOSIMBIONTICA

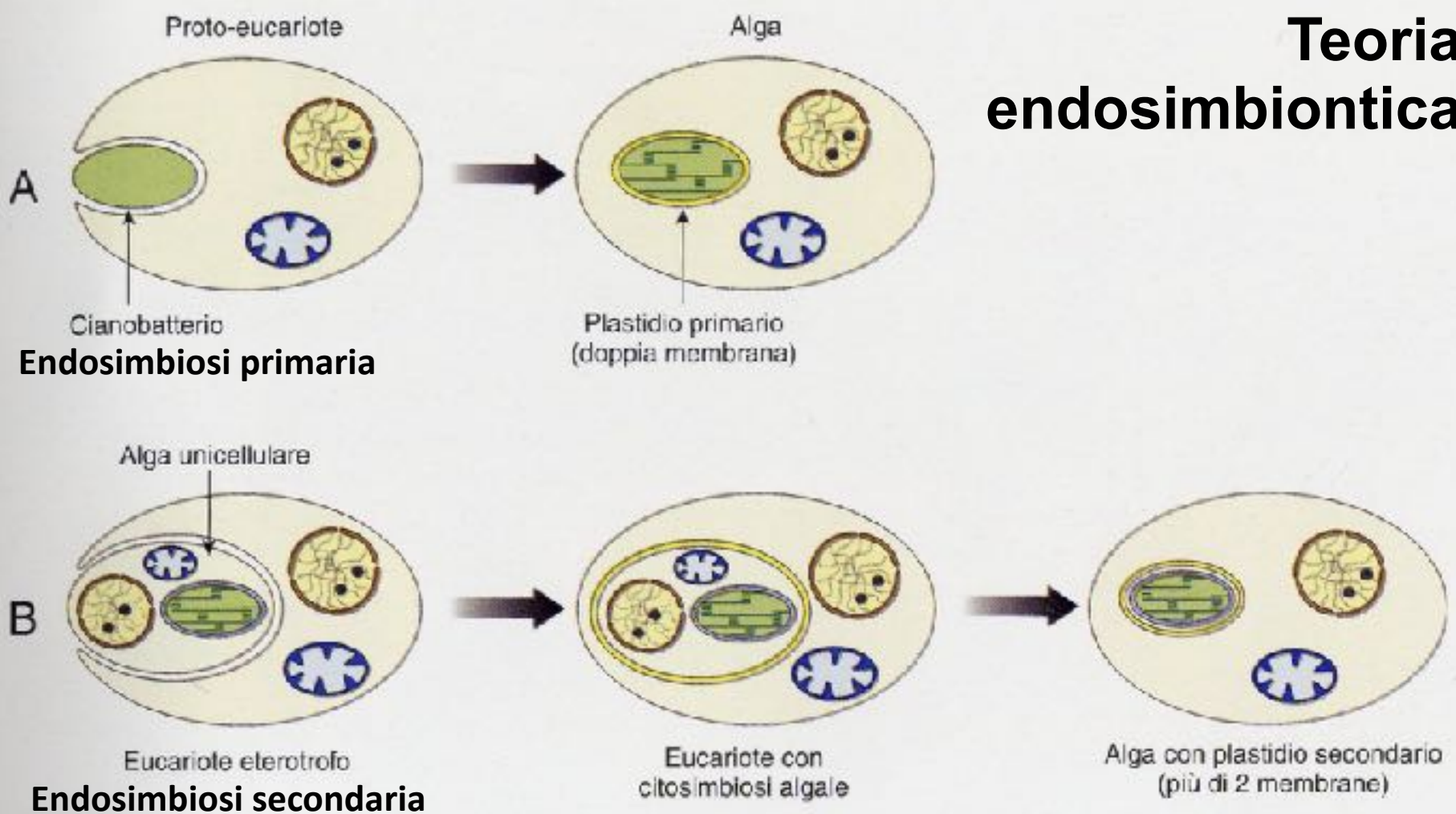


Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

... cianobatteri fotoautotrofi e non ...

Teoria

endosimbiontica



La cellula ospitante doveva possedere le seguenti caratteristiche “eucitarie”:

- Sistemi di endomembrane con involucro nucleare;
- Cromosomi lineari;
- Citoscheletro e motomolecole per mitosi e meiosi;
- Motilità ameboide;
- Capacità di fagocitosi.

