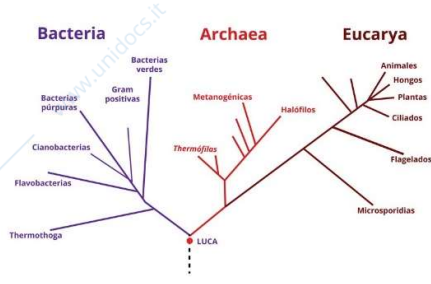
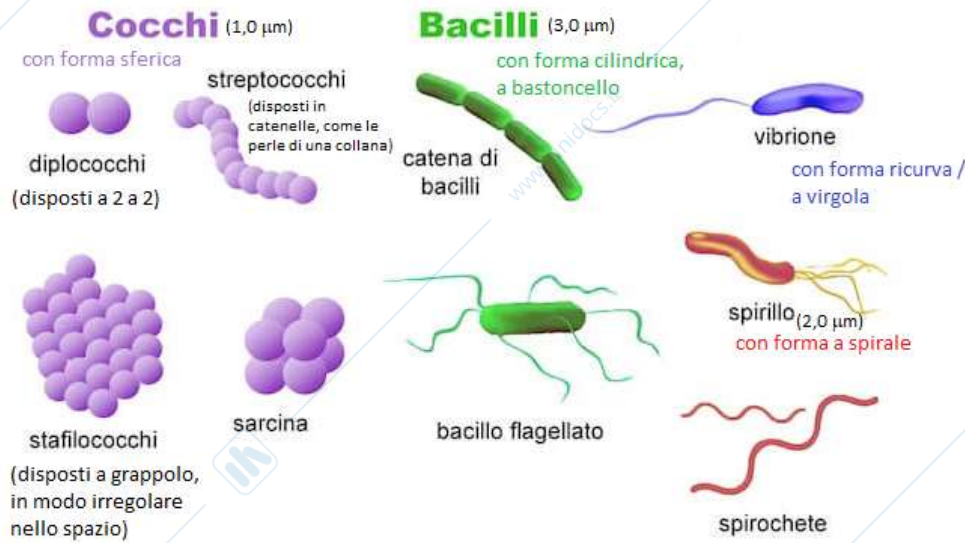


BATTERI – MORFOLOGIA e STRUTTURA



- Nel 1990 *Karl Woese*, un importante biologo statunitense, propose un ulteriore sistema di 3 domini, uniti da loro da un antenato comune, un progenitore universale: **L.U.C.A.** (*Last Universal Common Ancestor*). La classificazione è connessa all'analisi filogenetica/storia evolutiva delle specie:
 - procarioti: **bacteria** (eubatteri) e **archaea** (archeobatteri)
 - eucarioti: **eucarya**

- Nonostante **batteri** e **archaea** condividono lo stesso tipo di organizzazione cellulare, negli ultimi anni dall'analisi delle sequenze delle proteine, di DNA e RNA (in particolare di rRNA), è stata introdotta l'ipotesi che gli **archaea** si siano evoluti da una linea filetica più vicina agli **eucarya** piuttosto che ai **bacteria**.
- I batteri si classificano in base alla loro forma e possono esistere come **aggregazioni**, come "comunità", oppure come **singole cellule**. Nonostante le aggregazioni sono cellule una indipendente dall'altra.

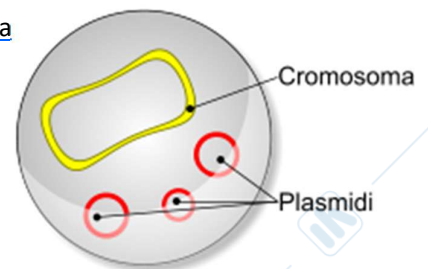


La morfologia dei batteri può essere osservata con **SEM**.

- Non tutti i batteri hanno la stessa struttura... in particolare, possono presentare:
 - **strutture costitutive** (*sostanza nucleare, citoplasma, membrana plasmatica, parete cellulare*)
 - **strutture accessorie/facoltativa** (*strato mucoso e capsula, pili o fimbrie, ciglia e flagelli, endospora*)

➤ **SOSTANZA NUCLEARE** (costitutiva)

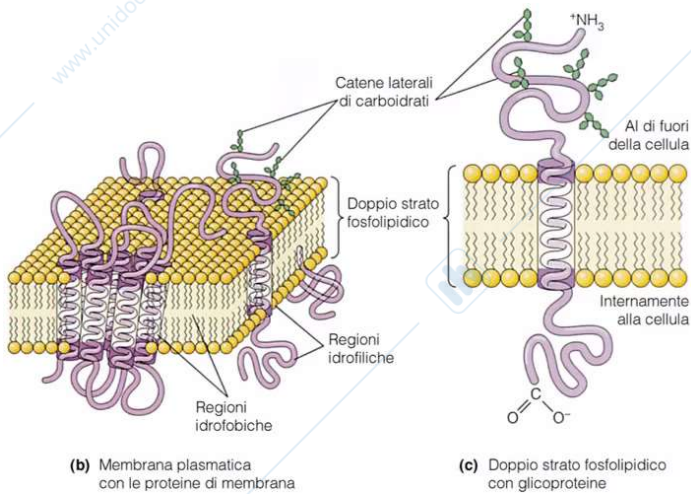
- La **sostanza nucleare** è costituita dal DNA che rappresenta l'unico cromosoma batterico, è di forma circolare e contiene solo qualche migliaio di geni.
- Si parla di "sostanza nucleare" e "unico cromosoma/DNA" perché il DNA non è suddiviso in istoni e cromosomi ma è libero nel citoplasma ed è come se fosse un solo gene. Il DNA non ha nemmeno bisogno di essere raggruppato in strutture perché sono poche migliaia di geni, non ha bisogno di una regolazione così fine come la cellula eucariote.



➤ **CITOPLASMA** (costitutiva)

- Il **citoplasma** rappresenta la quasi totalità della cellula batterica, è costituito prevalentemente da H₂O in cui sono disciolte particelle colloidali di natura organica e corpuscoli tra cui **RIBOSOMI**.
- Nel citoplasma si rilevano spesso **frammenti di DNA a doppio filamento extracromosomico** che non contengono geni del batterio ma che possono portare dei geni addizionali che possono favorire la sopravvivenza del batterio (es. geni per la sopravvivenza agli antibiotici), detti **plasmidi** ed **episomi**.

➤ **MEMBRANA PLASMATICA (costitutiva)**



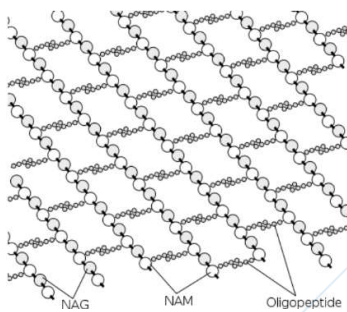
- La **membrana plasmatica** è la parte più esterna, più densa rispetto alle altre, che costituisce un elemento di separazione tra il citoplasma e la parete cellulare.
- È molto simile per struttura, composizione e funzioni alle membrane delle cellule eucariote: è formata da un **doppio strato fosfolipidico** (teste rivolte verso l'ambiente acquoso, code si fronteggiano tra loro in modo da ricreare interazioni idrofobiche) e da **proteine di trasporto** (associate ai lipidi o possono attraversare completamente il doppio strato), pompe ioniche ed enzimi.
- Nella porzione esterna vi possono essere delle modificazioni nelle catene laterali dei lipidi o delle proteine che portano alla formazione di **glicoproteine**.

- I **citocromi**, interni alla membrana, sono sede del **metabolismo energetico**: *processi aerobi* o *anaerobi*. Per far avvenire quest'attività vi è bisogno di energia prodotta da alcuni enzimi presenti in zone introflesse che formano delle invaginazioni cellulari dette **mesosomi**. Fino agli anni '70 si pensava che i mesosomi fossero dei veri e propri organelli ma poi sono stati riconosciuti come invaginazioni.

➤ **PARETE CELLULARE (costitutiva)**

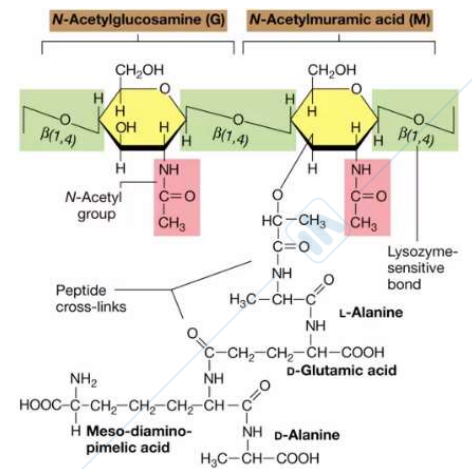
- La **parete cellulare (cell wall)** è una **struttura rigida** e **inestensibile** che non interferisce sul trasporto e sul passaggio delle sostanze ma bensì **conferisce la forma** al battere. Quasi tutti i procarioti hanno una parete cellulare (eccetto alcuni, es. i micoplasmii).
- La parete cellulare una **protezione meccanica** dalla lisi osmotica ed è implicata nella **regolazione dell'equilibrio idrico**.
 - In un **ambiente ipotonico** (*soluzioni ipotoniche, cellule ipertoniche*), se il citoplasma ha una conc maggiore rispetto all'ambiente extracellulare, per osmosi l'acqua tende a entrare dall'esterno all'interno della cellula; questo porterebbe alla **lisi della cellula stessa** ma **grazie alla parete cellulare questa evita che la cellula assuma un volume troppo elevato**.
 - In **ambiente ipertonico** (*soluzione ipertoniche, cellula ipotonica*), se il citoplasma ha una conc minore rispetto all'ambiente extracellulare, per osmosi l'acqua tende a uscire all'esterno della cellula; in questo modo la cellula tende a "raggrinzirsi" e la parete non ha nessuna influenza, non ha nessuna protezione (infatti i batteri non possono sopravvivere ad es. sotto sale o nelle marmellate).

- La parete è composta da una sostanza chiamata **peptidoglicano** o **mureina**, una lamina nella quale si ritrovano tante lunghe catene di un disaccaride costituito da due amminozuccheri: **N-acetilglucosamina (NAG)** e **acido N-acetilmuramico (NAM)**, legati con legame **β-glicosidico**.



Le due catene sono unite tra loro da **cross link** costituiti da **oligopeptidi** formati da 3-5 aminoacidi a seconda della specie del batterio, per formare una "maglia"/struttura 3D che avvolge e protegge il batterio.

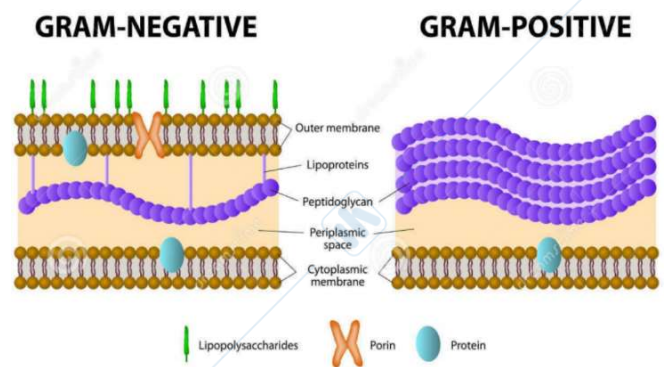
A dx un es. di cross link dell'*Escherichia Coli*, vi sono D-aminoacidi mentre nelle proteine sono soprattutto presenti di tipo L.



- A seguito della risposta alla colorazione di Gram oppure alla risposta al trattamento con antibiotici (es. penicillina, scoperta da Fleming, può inibire la sintesi del peptidoglicano che può portare alla morte della cellula batterica), la parete cellulare distingue i batteri in:

Gram + → il **peptidoglicano** (più del 50%) forma uno **strato spesso e compatto** (20-80 nm), insieme agli acidi teicoici (polimeri di glicerolo e polialcol), amminoacidi, mono- e polisaccaridi.

Gram - → possiedono una parete cellulare di struttura più complessa, caratterizzata da una membrana esterna (strato **lipopolisaccaridico** o **LPS**, che suscita forti reazioni immunitarie negli animali), assente nei **Gram +** mentre il **peptidoglicano** (poco più del 10%) forma uno strato più sottile (7-8 nm), in cui sono assenti gli acidi teicoici.



- **COLORAZIONE DI GRAM**: messa a punto dallo scienziato danese **Gram** nel **1884**, è una **colorazione differenziale o policromatica** che richiede, quindi, l'uso di più coloranti, in grado di differenziare i batteri in base alla loro capacità di trattenere l'uno o l'altro dei coloranti impiegati; in particolare differenzia i batteri in due categorie: **Gram +** che si colorano in **violetto** (es. Stafilococco, Streptococco) e **Gram -** che si colorano di **rosso** (es. E.coli, Salmonella).

In particolare la tecnica di Gram si basa sul fatto che i coloranti a base di **anilina** (coloranti basici della serie del trifenilmetano: es. **crystalvioletto**) formano con lo iodio un complesso, che si lega con lo strato **LPS** presente sulla **parete cellulare**.

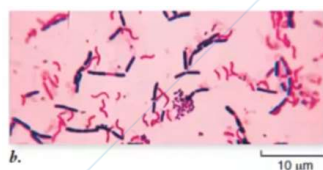
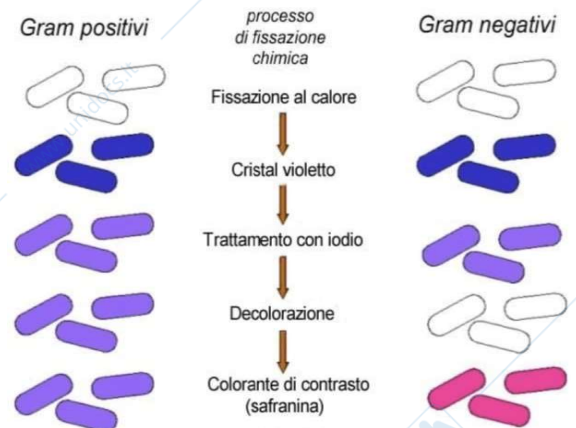
In particolare, nella procedura viene effettuata una disidratazione con un solvente organico (alcol-acetone) che ha la funzione di portare in soluzione lo strato **LPS** con conseguente aumento di permeabilità della membrana e allontanamento del **crystalvioletto**; quindi avremo che:

- nei **Gram +** l'LPS non viene disidratato dal trattamento decolorante
- nei **Gram -** viene dissociato.

La colorazione impiega in successione l'applicazione del **crystalvioletto** e dello **iodio di Gram**, si formano così delle cellule a base del complesso crystalvioletto+iodio: entrambi i batteri si colorano di **violetto**.

Abbiamo poi una decolorazione/lavaggio con alcol che nei **Gram +** disidrata lo strato di peptidoglicano e intrappola il complesso colorato mentre nei **Gram -** ha un effetto minimo sul sottile strato di peptidoglicano e diventano incolori

Infine, viene applicato un **colorante rosso** di contrasto (**fucsina basica** o **safranina**) dove nei **Gram +** non ha nessun effetto mentre colora i **Gram -** di **rosso**.

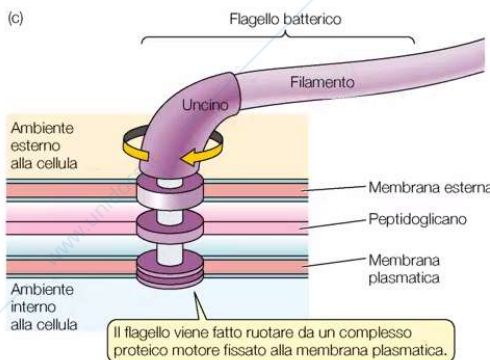


➤ **STRATO MUCOSO e CAPSULA (accessoria/facoltativa)**

- La **capsula** è uno strato a spessore variabile che circonda la parete cellulare; è costituito da materiale mucoide, denso e viscoso, da polisaccaridi e proteine.
- Non tutti i batteri possono produrre la capsula ma può essere favorita la sua produzione all'interno di una cellula ospita. Inoltre, vi sono alcuni batteri che sono *patogeni* solo se presentano la capsula.
- La capsula è un mezzo di adesione alle superfici e di protezione dagli anticorpi e dalla fagocitosi (cellule che portano il batterio dentro di sé e lo digeriscono). Questo perché lo strato mucoso riesce a inibire la fagocitosi e i batteri capsulati risultano così più virulenti.

➤ **FLAGELLI e CIGLIA (accessoria/facoltativa)**

- Flagelli e ciglia sono formati da una proteina, *flagellina*, e si originano da un corpuscolo sulla membrana per poi diffondersi.



- Le **ciglia** sono più corte, più numerose, aiutano ad aderire ad altre cellule e hanno uno scopo di locomozione fine ("a cavatappi").

I **flagelli** si trovano all'estremità della cellula e hanno uno scopo di locomozione più violenta, più efficace ("a remo").

- In particolare, i flagelli hanno una struttura di natura proteica, un corpo basale che lo ancora alla **membrana plasmatica** e al **peptidoglicano**, collegata a **uncino** dalla quale parte un lungo **filamento** cavo.

A livello del corpo basale viene consumata energia sotto forma di ATP che permettono all'**uncino** e al **filamento** di girare e di spostarsi nell'ambiente

- In base alla presenza o meno (in questo caso si muovono per *scivolamento* o *contrazione*) di queste strutture i batteri si dividono in:

- *atrichi*: senza ciglia
- *monotrichi*: a situati a una solo estremità singola o come ciuffo
- *peritrichi*: situati sull'intero corpo del batterio

➤ **PILI O FIMBRIE (accessoria/facoltativa)**

- I **pili** o **fimbrie** sono filamenti di una proteina, *filina*, che si originano dalla parete cellulare e sono distribuiti sull'intera superficie; possono essere:

- *cavi internamente* (*pili f o sessuali*): posseggono una forma di riproduzione primitiva, gamica; in particolare, attraverso la cavità il pilo cavo può mettere in comunicazione due cellule diverse permettendo lo scambio di informazioni genetiche tramite plasmidi;
- *non cavi*: hanno lo scopo di ancoraggio al substrato nutritivo.

➤ **ENDOSPORA (accessoria/facoltativa)**

- L'**endospora** è una vera e propria cellula che deriva dalla cellula vegetale batterica che ha subito delle trasformazioni profonde in seguito al cambiamento dei fattori fisici, chimici e alimentari del suo ambiente.

- La produzione di spore non è un processo riproduttivo perché da una cellula si forma una spora!

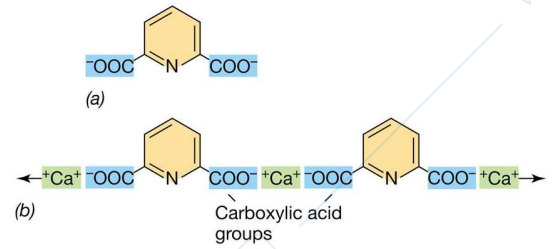
È un processo di difesa, di resistenza da limiti di pH, limiti nutrizionali o limiti di T.

- In tutti i casi di condizioni sfavorevoli o ambientali critiche, una forma vegetativa di cellula si trasforma in spora attraverso la **sporulazione**:

- citoplasma e materiale genetico si concentrano in una zona preferenziale della cellula
- la cellula si disidrata fino al valore minimo consentendole la sopravvivenza
- l'attività metabolica diminuisce, rallenta e anche il consumo di energia
- contemporaneamente, intorno al materiale cellulare di formano degli involucri coibenti, impermeabili e protettivi

Se la spora si trova in condizioni ottimali, ritorna alla forma vegetativa attraverso la **germinazione** (*processo reversibile e veloce*).

- Non tutti i batteri possono produrla (di solito solo i lattobacilli)
- La forma, la grandezza (più o meno grande della forma vegetativa) e la posizione (centrale, subterminale o terminale) dell'endospora dipendono dalla specie del bacillo.
- Ricerche sperimentali condotte sugli involucri sporali hanno scoperto che la loro termoresistenza è dovuta all'**acido dipicolinico** (a) o più in particolare il **complesso acido dipicolinico-ioni calcio** (b) che più è acido più la spora resiste alle T elevate.



SUDDIVISIONE DEI BATTERI

- I batteri sono gli esseri viventi più diffusi sulla Terra, divisi nei seguenti principali gruppi:

1) PROTEOBATTERI (GRAM- NEGATIVI)

- I proteobatteri sono un ampio gruppo di Gram - diversificati sulla base delle sequenze di rRNA in:
 - **PROTEOBATTERI ALFA**: ad es. i *rizobi* che vivono simbioticamente nei noduli radicali delle leguminose (es. fagioli) e convertono l'N atmosferico in una forma utilizzabile dalle piante (fissazione dell'N).
 - **PROTEOBATTERI BETA**
 - **PROTEOBATTERI GAMMA**
 - **PROTEOBATTERI DELTA**
 - **PROTEOBATTERI EPSILON**

2) BATTERI GRAM-POSITIVI

- Un es. di batteri gram + sono i *clostridi*, anaerobi, che possono provare il tetano o il botulino.

3) CIANOBATTERI (GRAM-NEGATIVI)

- I cianobatteri contengono clorofilla e sono in grado di effettuare la fotosintesi clorofilliana; si pensa infatti che la loro comparsa sulla Terra sia stata fondamentale per trasformare l'atmosfera da ossidante a riducente: i cianobatteri hanno aumentato notevolmente la conc di O₂ nell'atmosfera.

4) CLAMIDIE (GRAM-NEGATIVI)

- Le clamidie sono prive di peptidoglicano nella loro parte cellulare.

5) SPIROCHETE (GRAM- NEGATIVI)

- Le spirochete sono batteri a spirale con parete cellulare flessibile.

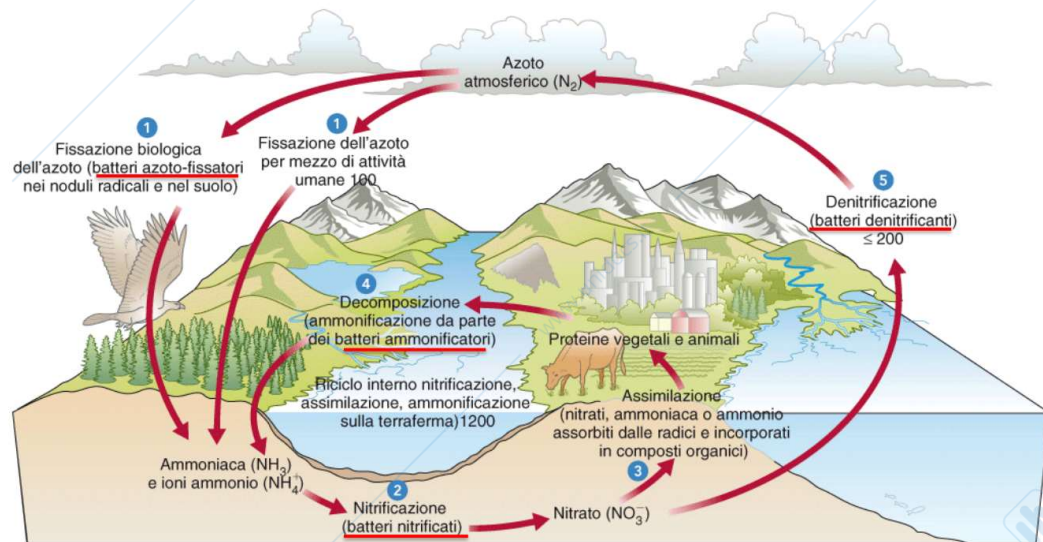
ARCHEA (o ARCHEOBATTERI) - HABITAT

- Gli **archea** sono microrganismi unicellulari procariotici ancestrali, che vivono in **habitat estremi** sulla terra e che hanno strategie metaboliche di sopravvivenza diverse tra loro.
- Gli archa non presentano il peptidoglicano nella parete, non sono in grado di formare spore, la loro membrana plasmatica presenta lipidi insoliti (in cui possono essere presenti idrocarburi a catena ramificata e non lineare, legati al glicerolo con legame etero e non estero); inoltre, hanno una RNA polimerasi simile agli eucarya e rRNA tipici. Ad oggi non sono stati isolati archa patogeni.
- Vengono suddivisi in:
 - **TERMOFILII ESTREMI e IPERTERMOFILII**: vivono a T estremamente alte (>80 °C, es. geysir o sorgenti idrotermali sotto marine) o basse (1,8 °C)
 - **ALOFILII ESTREMI**: necessitano di grandi quantità di Na⁺ per la loro crescita, infatti vivono in ambienti estremamente salati (es. Mar Morto)
 - **ACIDOFILII**: necessitano di ambienti particolarmente acidi (es. pozze calde del parco naturale di Yellowstone in US)

- **METANOGENI**: sono anaerobi obbligati, vivono in ambienti anaerobici e producono di CH_4 per riduzione di CO_2 , sono responsabili dell'80% di CH_4 nell'atmosfera e producono i "gas di palude", bolle di metano nei fanghi presenti nei fondali di laghi e paludi; sono anche presenti nell'apparato digerente degli animali e producono gas intestinali fondamentali per la digestione degli erbivori.

In generale...

- Alcuni procarioti sono coinvolti nel ciclo di elementi importanti come:
 - **decomposizione**: possono recuperare C dai corpi degli organismi morti;
 - **fissazione** (N, C)



L'N atmosferico non è utilizzabile dai microrganismi, ma questi ne hanno bisogno (contengono l'N le basi azotate, gli aminoacidi...).

I batteri quindi intervengono rendendo l'N disponibile attraverso la fissazione sia da N atmosferico a NH_3 sia da N atmosferico a nitrato NO_3^- . Questo viene poi assimilato dalle piante per poi divenire disponibile agli animali attraverso la dieta. Quando animali e vegetali vanno incontro a morte, si decompongono i composti organici contenenti N e i batteri ammonificatori rendono l'N nuovamente disponibile per gli organismi.

- I procarioti possono vivere in associazione simbiotica con gli eucarioti.
Per **simbiosi** si intende una relazione intima tra due individui di 2 o più specie in cui si distinguono:
 - **mutualismo**: traggono vantaggio entrambe le specie
 - **commensalismo**: una solo delle due specie trae vantaggio mentre l'altra non è né avvantaggiata, né svantaggiata
 - **parassitismo**: una delle sue specie trae vantaggio mentre l'altra è svantaggiata (es. batteri patogeni)
- I batteri sono utilizzati in ingegneria genetica e possono essere utilizzati per il biorisanamento.