

FISIOLOGIA

FUNZIONI DELL' ACQUA NELLA CELLULA E NELLA PIANTA.

L'acqua è il costituente della materia organica, compone per l' 80-90% i tessuti in accrescimento; l' acqua è anche il primo fattore di stress nei vegetali. Essa è inoltre solvente e ambiente di reazione, la cellula contiene infatti delle soluzioni acquose in cui avvengono le reazioni. L' acqua scorre di continuo nella pianta, non si ferma mai; quando una foglia traspira, in un ora scambia il 100% dell' acqua in essa contenuta. Nella pianta l' acqua serve per:

- Raffreddare: l' evaporazione dell' acqua raffredda i tessuti sotto agli stomi; il raffreddamento è più efficace nelle foglie che nei fusti. Se tali sistemi di raffreddamento non esistessero farebbe troppo caldo e gli enzimi non funzionerebbero più.
- Riscaldare e mitigare gli sbalzi di temperatura esterni.
- Portare nutrienti ed ormoni nel floema e nello xilema.
- Permettere gli scambi gassosi: dagli stomi esce il vapore acqueo ed entra anidride carbonica.

CONCETTO DI POTENZIALE IDRICO

il concetto di potenziale idrico è la legge universale che regola lo spostamento dell'acqua all'interno della pianta, da una zona di potenziale maggiore ad una zona di potenziale inferiore. Per potenziale idrico si intende lo stato energetico dell'acqua all'interno di un organo vegetale ed è la grandezza chimico-fisica che interessa la fisiologia vegetale. Il potenziale idrico, in altre parole, è espressione quantitativa dell'energia libera. Per convenzione, si dice che, l'acqua quando è completamente libera, ha potenziale idrico = 0. Si tratta in tal caso di acqua distillata, libera cioè dal punto di vista biochimico, all'interno della quale non è presente alcun tipo di soluto. E' a pressione atmosferica, quindi libera dalle forze esterne, ed è a livello del suolo (energia potenziale = 0). Mano a mano che l'acqua viene assorbita perde la sua libertà, vale a dire, il suo stato energetico massimo, perché viene ad essere attratta da diverse altre componenti del sistema suolo-pianta.

Di conseguenza, i potenziali che si misurano solitamente hanno segno negativo, perché il massimo di potenziale idrico, cioè lo stato energeticamente più libero, è 0, a livello del suolo.

L'acqua dal suolo risale verso le foglie, diminuisce l'energia, diminuisce la pressione, aumenta la tensione e il potenziale idrico diventa via via più negativo.

L'acqua si muove liberamente, senza spesa energetica da parte delle piante, da stati energetici superiori a stati energetici inferiori. Altrettanto non fa a ritroso, cioè, per poter andare da uno stato energetico inferiore ad uno superiore è necessario un apporto energetico, è necessario cioè fare metabolismo.

Il potenziale idrico è suddiviso in diverse componenti, alcune delle quali possono avere valori positivi, ma la somma algebrica di queste dà un numero negativo. Tanto più questo numero è grande in valore assoluto, tanto più è negativo e tanta meno è l'acqua libera.

POTENZIALE DI RIFERIMENTO () = potenziale di acqua libera all'interno del suolo

POTENZIALE OSMOTICO () = sempre negativo. E' uguale a RTC , dove R = costante dei gas; T = temperatura assoluta. Tanto più la soluzione idrica è concentrata, tanto più sono gli osmoliti al suo interno e tanto meno libera è l'acqua per il sistema.

POTENZIALE MATRICIALE () = sempre negativo. Rappresenta il potenziale idrico del suolo. e dipende dalle sostanze inerti con cui l'acqua viene a contatto. Per tensione superficiale l'acqua tende ad essere conglobata, attratta, dalle sostanze inerti e tanto più fine è la sostanza inerte, tanti più sono i nuclei di aggregazione che riescono ad adsorbire l'acqua intorno a sé stessi, cioè, sostanze inerti via via più fini trattengono con più forza l'acqua. Di conseguenza tanto più il materiale è fino, tanto più questa componente è negativa.

POTENZIALE DI PRESSIONE O DI TURGORE () = sempre positiva. E' la pressione o turgore che l'acqua esercita contro la parete cellulare. E' la componente che determina l'accrescimento delle piante, cioè l'acqua quando esercita una pressione sulle pareti cellulari permette alla pianta di crescere anche se le cellule si svuotano e la parete non si rimpicciolisce più. Maggiore è il potenziale di turgore per quella cellula in quel momento, maggiore è la capacità di crescita cellulare. Gli organismi cellulari si accrescono dunque per la pressione che l'acqua esercita sulla parete; infatti questa non è così elastica da ritornare, quindi, maggiore è il potenziale di turgore/pressione per quella cellula, in quel momento, maggiore è la sua capacità di crescita cellulare (tanto più è positiva, tanto maggiore è la forza che esercita la membrana contro la parete). Quindi, questa componente determina la crescita degli organismi vegetali. Dall'equilibrio tra la componente di pressione, sempre positiva, e la componente osmotica, sempre negativa, dipende la disponibilità dell'acqua per un tessuto vegetale(e, quindi, la crescita cellulare).

COMPONENTE GRAVITAZIONALE () = sempre positiva. E' legata alla forza gravitazionale.

Dipende, fondamentalmente, dall'altezza: tanto più l'acqua sta in alto, all'interno di un organismo vegetale, tanto maggiore è la sua potenzialità, la sua energia per discendere verso le parti basse. Ha un gradiente di salita.

In caso di appassimento (--> estrema conseguenza: morte della cellula). La traspirazione è molto forte e l'acqua presente nel suolo non basta a compensare le perdite traspirazionali; le foglie perdono H₂O. Il potenziale osmotico dell'apoplasto aumenta, poi a causa degli eventi traspirativi l'acqua (in seguito al passaggio allo stato gassoso evapora) e i sali si accumulano nell'apoplasto. QUINDI: UN'ECESSO DI EVENTI TRASPIRATIVI PORTANO ALL'EVAPORAZIONE DELL'ACQUA (PASSAGGIO ALLO STATO GASSOSO) ED ALL'AUMENTO DI CONCENTRAZIONE

NELL'APOPLASTO. In seguito a tali eventi perciò il potenziale osmotico/concentrazione salina all'interno della cellula diminuisce ma si verifica un'aumento della concentrazione osmotica dell'apoplasto; l'equilibrio va quindi a discapito del potenziale di pressione, cioè il turgore che c'era prima e che manteneva la cellula in un ottimo stato vegetativo si perde, la cellula collassa e si raggrinzisce, il citosol si svuota cedendo il suo contenuto all'esterno, compensando in tal modo le perdite traspirative. Le cellule così facendo si afflosciano e si ha l'APPASSIMENTO. (Si tratta di un PROCESSO IRREVERSIBILE).

MISURAZIONE DEL POTENZIALE IDRICO

La valutazione del potenziale idrico viene effettuata attraverso un'apposita strumentazione, lo PSICOMETRO, il quale è influenzato dalla variazione della temperatura che coinvolge l'oggetto in esame e che avviene durante l'evaporazione. Lo psicometro si basa sul principio secondo il quale ciascun corpo in seguito ad un cambio di stato, precisamente da liquido ad aeriforme, si raffredda.

Funzionamento: la psicrometria è basata sul fatto che la pressione di vapore dell'acqua diminuisce riducendo il suo potenziale idrico. Gli **psicometri** misurano la pressione di vapore dell'acqua di una soluzione o di un campione vegetale in base al principio che l'evaporazione dell'acqua da una superficie ne abbassa la temperatura. Lo psicometro è un cilindro che contiene il campione in esame ed una sferetta metallica con sopra una soluzione di cui conosciamo il potenziale, la sferetta è collegata ad una termocoppia (la quale varia la corrente in base a quanto calore c'è che è collegata ad un galvanometro (misuratore delle variazioni di corrente). La sferetta metallica si raffredda nel momento in cui la soluzione evapora, si riscalda quando condensa. Se l'acqua evapora dal tessuto e dunque condensa sulla sferetta (che si riscalda) vuole dire che il potenziale della sfera è minore di quello del tessuto; se invece l'acqua evapora dalla sfera (che si raffredda) e condensa su tessuto vuol dire che il potenziale della sfera è maggiore di quello del tessuto. Sapendo la variazione di temperatura della sferetta possiamo stimare il potenziale idrico del nostro campione. Per ottenere risultati corretti è necessario lavorare in un ambiente a temperatura controllata per evitare che l'umidità condensi sulle pareti del cilindro.

Un metodo relativamente veloce per stimare il potenziale idrico di grandi frammenti di tessuto, come foglie intere e germogli, è tramite la **camera a pressione** (misura Ψ_w). In questa tecnica, l'organo da misurare viene reciso dalla pianta e parzialmente sigillato in una camera a pressione. La colonna xilematica d'acqua, prima della recisione, è sotto tensione. Quando la colonna d'acqua viene spezzata dalla recisione dell'organo (cioè la sua tensione viene alleviata permettendo a Ψ_P di raggiungere lo zero) l'acqua viene attratta rapidamente dallo xilema per osmosi dalle cellule circostanti. La superficie di taglio risulta, quindi, opaca e secca. Per poter compiere misurazioni la camera viene pressurizzata con gas compressi fino quando l'acqua dello xilema raggiunge di nuovo la superficie di taglio. La pressione necessaria per riportare l'acqua alla superficie è definita la pressione di bilanciamento. La pressione di bilanciamento misurata in questi tessuti non traspiranti è uguale in grandezza (ma di segno opposto) alla pressione dello xilema (Ψ_P). Poiché il potenziale idrico della nostra foglia non traspirante è uguale a quello dello xilema possiamo calcolare il potenziale idrico sommando Ψ_P e Ψ_s (che di solito si omette essendo molto piccolo: 0,1 MPa) dello xilema. Le misure della camera a pressione possono fornire una stima accurata del potenziale idrico della foglia.

Le piante, così come tutte le cellule vegetali, sono in un stato di equilibrio METASTABILE. Un equilibrio continuamente dinamico e in movimento, non stabile: le cellule scambiano in continuazione il loro contenuto idrico, che va verso le uscite traspirative e viene sostituito dal contenuto idrico che arriva dal flusso di acqua delle radici (continuo ricircolo idrico). L'equilibrio all'interno delle cellule è permesso e regolato da un flusso, che segue la legge di Ohm, secondo cui il flusso è direttamente proporzionale alle variazioni della forza motrice e inversamente proporzionale alle resistenze incontrate nel suo percorso.

*Spesso al posto della quantità resistenza si usa il suo reciproco --> CONDUTTANZA, ma il concetto non cambia. Il flusso è tanto maggiore quanto maggiori sono le differenze di forza motrice e quanto maggiori sono le conduttanze di flusso.

RIASSUMENDO. Questa legge spiega perfettamente i moti del flusso di acqua tra le cellule della pianta intera. Il flusso è tanto maggiore quanto maggiori sono le differenze di potenziale tra i due organi o tra simplasto e apoplasto ed è a sua volta ostacolato dalle resistenze che l'H₂O incontra durante il suo percorso per passare da un sito all'altro (dall'apoplasto al simplasto, da una cellula all'altra, dalle radici al fusto, dal fusto alla foglia ==> cioè da situazioni dette DI MONTE a situazioni dette DI VALLE). Conoscendo dunque la differenza di potenziale di monte e valle (e conoscendo perciò la differenza di potenziale totale) e sapendo quali sono le resistenze sul cammino, è possibile quantificare il flusso.

RESISTENZE = capacità regolative della pianta di ostacolare il flusso dell'H₂O e, quindi, di trattenere, l'acqua al suo interno. Resistenze e conduttanze non sono costanti, ma dipendono dallo stato fisiologico della pianta in quel determinato momento.

ASSORBIMENTO RADICALE

Per assorbimento radicale si intende l'assorbimento dell'acqua dalla matrice del suolo al pelo radicale --> l'acqua passa il pelo radicale, va all'interno del parenchima corticale e raggiunge la parte centrale della radice, la stele, all'interno della quale si trovano i vasi conduttori tramite cui viene traslocata verso le parti alte della pianta. L'acqua dunque dal suolo passa alle radici, dalle radici allo stelo, dallo stelo ai tessuti conduttori tramite i quali è trasferita alla foglie e dalle foglie all'atmosfera. Tutto ciò però non può avvenire al contrario. L'assorbimento radicale è infatti un tipo di flusso (XILEMATICO**), UNIDIREZIONALE E ASCENSIONALE.

Il flusso dell'acqua dalle radici (alla base, dunque, dell'assorbimento radicale) viene diviso in 3 componenti:

1. VIA CELLULARE, che può essere di tipo SINPLASTICO o di tipo TRANSMEMBRANA
2. VIA EXTRACELLULARE, di tipo APOPLASTICO

L'acqua dunque entra nelle radici dal suolo o per via cellulare o per via extracellulare. La via extracellulare (di tipo apoplastico. Passaggio negli spazi extracellulari.) segue le vie a minori resistenza che vi sono tra una cellula e l'altra, tra le membrane cellulari e le pareti e tra una parete e l'altra parete. Si tratta di vie aperte in cui l'acqua passa liberamente, irrorata l'apoplasto, raggiunge la Banda del Càspary dove si ferma (*Banda di Càspary = anello di cellule che isola la stele dal parenchima corticale). L'acqua dal suolo alla Banda di Càspary passa liberamente, per caduta di potenziale, quando il "contenuto idrico" del suolo, o meglio, quando il potenziale idrico dell'acqua all'interno del suolo è superiore a quello che c'è all'interno della pianta. (Quando, invece, la radice è a contatto con terreno secco, in cui il potenziale idrico è inferiore rispetto a quello all'interno della pianta e , quindi, la matrice del suolo cerca in tutti i modi di trattenere l'acqua, quest'ultima non può più passare per via apoplastica dal suolo alla radice.

**BANDA DI CASPARY: nelle radici delle piante, striscia ispessita e cerosa che si stende attorno alle pareti delle cellule endodermiche sigillandole e diminuendo la diffusione di soluti attraverso l'endoderma verso i tessuti vascolari della radice.

La via cellulare (interna, da cellula a cellula.) E' un trasporto di tipo attivo che richiede dispendio energetico e che può essere di tipo sinplastico o di tipo transmembrana, è invece una via a maggiori resistenze. Infatti durante il suo flusso , l'acqua non passa direttamente all'apoplasto, ma penetra all'interno delle cellule, attraverso le membrane e l'equazione del flusso deve essere applicata cellula per cellula. La via cellulare può essere a sua volta suddivisa in

- a) via sinplastica --> l'acqua dal pelo radicale entra nella prima cellula e successivamente, tramite un continuum di sinplasti raggiunge la stele centrale. Tra una cellula e l'altra, l'acqua non passa ogni volta attraverso la membrana cellulare, ma attraversa dei ponti citoplasmatici, i cosiddetti PLASMODESMI, che non sono selettivi e non sono molto numerosi a livello radicale.
- b) via transmembrana --> via radicale a più bassa resistenza. L'acqua entra da una cellula all'altra attraverso la membrana. Questo tipo di via necessita un metabolismo di tipo attivo da parte della pianta, che implica l'attivazione di canali o pori, i trasportatori che permettono all'acqua di uscire da una specifica membrana e di entrare in un'altra. (si tratta tecnicamente di proteine transmembrana responsabili del passaggio dell'acqua da un cellula all'altra).

ACQUAPORINE

Si tratta di proteine che sono disposte TRANSMEMBRANA; appartengono alla famiglia delle PINP (Plasmalemma INtrinsic Proteins) se disposte transmembrana sulla membrana cellulare ed alla famiglia dell' TIP, quando sono le Intrinsic Proteins del Tonoplasto (la membrana che avvolge il vacuolo) : all'interno del citosol, queste permettono all'acqua di passare dal citoplasma al vacuolo e viceversa; si tratta di proteine relativamente semplici.

Il trasporto apoplastico si interrompe al livello della Banda di Càspary ----> PASSAGGIO NEL SINPLASTO. Il passaggio nel sinplasto avviene attraverso i PLASMODESMI = PONTI CITOPLASMATICI CHE ATTRAVERSANO LE PARETI CELLULARI COLLEGANDO CELLULE VICINE.

Possibile presenza di desmotubuli = tubuli di reticolo endoplasmatico.

Dunque, l'acqua entra all'interno dell'organismo grazie alla funzionalità delle acquaporine e grazie anche alla permeabilità della membrana fosfolipidica, con un forte dispendio energetico dovuto alle alte resistenze, l'acqua in qualche modo arriva alla Banda di Càspary e la supera : l'H₂O cessa dunque la via apoplastica per intraprendere quella sinplastica. Successivamente entra all'interno della stele dove, spesso per vie molto veloci, vengono ad essere permeati e riempiti i vasi xilematici.

I vasi xilematici sono le unità di conduzione del tessuto xilematico; si tratta di cellule allungate morte, che hanno conservato solo più la parete e per questo motivo vengono permeate passivamente. Si tratta di un tipo di trasporto apoplastico per mancanza del citoplasma. La resistenza che l'acqua incontra lungo i vasi xilematici è molto bassa. L'acqua insieme alle sostanze minerali assorbite dal terreno (nutrienti) e ai fitormoni secreti dalle radici, permea i vasi xilematici della stele; l'acqua poi, dalla stele, arriva al resto della pianta grazie ad una caduta progressiva di potenziale idrico: 0 --> a livello del suolo, l'acqua continua a salire, il potenziale idrico si abbassa , l'acqua via via perde sempre più energia perchè è sempre meno libera e sempre più trattenuta. Man mano viene trasportata verso le uscite, cioè fondamentalmente agli stomi dove poi sottoforma di stato gassoso verrà rilasciata all'atmosfera.

Bisogna precisare che quanto detto sopra, cioè che tutto il processo di assorbimento di acqua e sali minerali e di traslocazione di acqua, sali minerali e fitormoni, è regolato dal fondo a valle del processo: se gli stomi sono aperti, c'è richiesta traspirativa e tutto il processo è innestato ---> vi è caduta di potenziale che vince le resistenze, vi è un richiamo di acqua e tutto ciò fa sì che l'acqua possa essere traslocata. Se invece gli stomi sono chiusi, tutto il processo è fermo. La forza motrice all'interno della pianta è il gradiente decrescente di potenziale dal suolo all'atmosfera. Inoltre la traslocazione dell'acqua avviene grazie alle forze di tensione e coesione che ci sono tra una molecola d'acqua e quella successiva. Tali forze fanno sì che la molecola d'acqua possa essere tesa e coesa alla molecola successiva. Questo continuum di acqua è possibile fino a quando la differenza di potenziale non supera le forze di tensione e coesione. Se le differenze di potenziale sono tali per cui la molecola d'acqua si spezza, cioè si superano le forze di tensione oppure la molecola d'acqua si stacca dalla molecola successiva , ovvero si superano le forze di coesione, questo continuum è destinato ad interrompersi. La coesione è dovuta alla forze di legame tra le molecole d'acqua lungo le vie di scorrimento (tensione che si trasmette verso il basso, fino alle radici e al terreno). Un'interruzione della catene delle molecole di H₂O provoca la formazione di bolle d'aria → cavitazione → interruzione della traspirazione. Se le differenze di potenziale sono tali per cui superano le forze di tensione e coesione, la catena di molecole di acqua si spezza, le molecole si staccano l'una dall'altra oppure si rompono. ARIA penetra al posto della molecole d'acqua. Si verifica perciò così il FENOMENO DELL'EMBOLISMO (= formazione di un embolo d'aria, ossia di una bolla d'aria, all'interno del tessuto conduttore, del tessuto di trasporto ecc..). L'embolismo determina perciò così una rottura del continuum, della concatenazione di molecole e genera di conseguenza l'interruzione del flusso. La pianta va in stress idrico.

Gli embolismi possono essere causati da alcuni patogeni o dallo stress idrico. Ad esempio alcune piante poco acclimatate, in situazioni di stress e quindi, prive di una forte ed efficace regolazione stomatica, continuano a traspirare, non moderano la traslocazione dell'acqua e creano differenze di potenziale elevate tra le parti traspiranti e il suolo, tanto da far sì che le forze di tensione diventino così forti da staccare le molecole d'acqua coese l'una dall'altra e permettendo l' "infiltrazione" d'aria al posto dell'acqua. Conseguenze: situazione di appassimento e morte della pianta. **Le situazioni di embolismo avvengono solitamente nelle stagioni ad elevata traspirazione e, ovviamente, NON avvengono in situazioni di deficit idrico del suolo.

TAVOLTA PUO' VERIFICARSI UNA POSSIBILITA' DI RECUPERO DELL'EMBOLISMO. Quando la traspirazione è ostacolata da fenomeni di embolismo, situazione tale per cui gli stomi sono aperti, c'è richiesta traspirativi dovuta ad un input esterni di tipo ambientale, ma il flusso di H₂O è ostacolato perché, a causa delle forze di tensione e coesione, le resistenze sono diventate infinite e ci sono bolle d'aria ad interrompere la traslocazione, ALL'INTERNO DEI TESSUTI CONDUTTORI CHE SI TROVANO AL DI SOTTO DEGLI EMBOLI SPESSO PUO' CAPITARE CHE (IN MODO

PARTICOLARE NELLE ORE NOTTURNE QUANDO LA RICHIESTA TRASPIRATIVA E' RIDOTTA), PER TRASPORTO ATTIVO DI SALI, ALL'INTERNO DEI TESSUTI XILEMATICI, SI CREA UN ASSORBIMENTO DI ACQUA (che deriva dalle parti sottostanti, dal suolo e dalle radici e che genera una caduta di potenziale) (CONTEMPORANEA APPUNTO AL TRASPORTO DI SALI) CHE CAUSA, ALL'INTERNO DEI VASI XILEMATICI, LO SVILUPPO DI UNA PRESSIONE POSITIVA E CREA UNA SPINTA (positiva perché da questa situazione l'acqua non può scappare), DAL BASSO VERSO L'ALTO, CHE RECUPERA L'EMBOLISMO.

RIASSUMENDO. Embolismo → vaso chiuso → assorbimento di sali minerali nella parte di tessuto conduttore sottostante all'embolo → abbassamento del potenziale osmotico → richiamo di acqua**** per caduta libera, ovvero per caduta di potenziale e per cui non può uscire dalla Banda di Caspary → all'interno dei vasi xilematici radicali si crea una pressione positiva che riesce a spingere la colonna d'acqua fino a recuperare le cellule d'acqua al di sopra, ristabilendo così una situazione di coesione).

*catena di caduta di potenziali ==> l'acqua viene richiamata passo per passo verso il suolo

TRASPIRAZIONE FOGLIARE - "E"

Tappa principale del metabolismo dell'acqua è la traspirazione fogliare, processo "A VALLE" dal quale si innesta tutto il processo a catena che fa sì che la linfa possa essere assorbita dal suolo alle radici e da queste possa passare al resto della pianta.

Fisiologicamente la traspirazione fogliare è un flusso d'acqua che avviene nella camere sottostomatiche e che costituisce il "motore" del movimento dell'acqua all'interno della pianta; queste sono permeate dalla linfa che le raggiunge grazie ad una caduta di potenziale* (importantissimo durante il flusso è il ruolo e l'intervento di trasportatori di membrana in situazioni critiche per la pianta, quali embolismo, stress idrico, ripresa vegetativa). L'acqua, una volta raggiunte le camere sottostomatiche e avvenuto il passaggio dallo stato liquido a quello gassoso, evapora ed il flusso di evaporazione porta vapore d'acqua all'atmosfera. Per quanto riguarda la traspirazione il flusso d'acqua che porta all'evaporazione di questa stessa è detto EVAPORAZIONE o TRASPIRAZIONE FOGLIARE ed è direttamente proporzionale alle differenze di pressione di vapore tra camera sottostomatica e atmosfera. → La traspirazione fogliare sarà tanto maggiore quanto maggiore è la differenza tra pressione di vapore tra camera sottostomatica e atmosfera, mentre sarà tanto minore quanto maggiori sono le resistenze incontrate durante il percorso. In questo caso specifico si parla di RESISTENZA STOMATICA ("r") ed il suo reciproco è la conduttanza stomatica. Dunque, il flusso traspirativo è tanto maggiore quanto maggiore è la conduttanza stomatica ("gs") o quanto maggiore è la differenza di pressione di vapore acqueo tra interno ed esterno. RIEPILOGANDO: il flusso traspirativo è tanto maggiore è la conduttanza stomatica e quanto maggiore è la differenza $E_{leaf} - E_{air}$. (*E sta per pressione di vapore, rispettivamente nella foglia e nell'aria).

La pressione di vapore è la pressione che un vapore esercita all'interno di un volume d'aria. La quantità di un liquido in grado di saturare l'aria non è sempre la stessa, ma varia in funzione della temperatura dell'aria. → Tanto maggiore è la temperatura dell'aria, tanto maggiore sarà la sua capacità di immagazzinare acqua. Cioè, tanto maggiore è la temperatura dell'aria, tanto maggiore è la pressione dell'acqua nell'aria (OVVERO LA PRESSIONE DI VAPORE). L'aria calda riesce ad immagazzinare più vapore dell'aria fredda. Infatti, d'estate, quando fa caldo, l'aria immagazzina umidità (= acqua sotto forma di vapore contenuta nell'atmosfera). Finché fa caldo l'aria continua ad immagazzinare acqua ed è difficile che piova e che venga un temporale estivo, perché l'aria è calda e continua ad immagazzinare acqua. Verso sera la temperatura cala, l'aria si raffredda e la sua capacità di immagazzinare acqua via via diminuisce e l'acqua, che era fino a poco prima in equilibrio metastabile nell'aria, condensa e si ha il tipico temporale estivo. (*condensazione = transizione dalla fase aeriforme alla fase liquida di una sostanza)

CONDUTTANZA STOMATICA.

La conduttanza stomatica si esprime con 'g' ed è il grado di apertura degli stomi. Rappresenta il reciproco della resistenza stomatica 'r'. Il flusso traspirativo è tanto maggiore quanto maggiore è la conduttanza stomatica 'g' e quanto maggiore è la differenza di pressione di vapore acqueo, e . Ovvero il primo termine è la pressione di vapore all'interno della foglia, nella camera sottostomatica, ed il secondo termine è la pressione di vapore dell'aria. $E_{leaf} - E_{air}$.

REGOLAZIONE STOMATICA: MOVIMENTO DEGLI STOMI

Gli stomi, strutture connesse all'epidermide fogliare e disposte sulla pagina inferiore della foglia, hanno la funzione di regolare lo scambio gassoso tra interno ed esterno del vegetale (entra CO₂

ed esce ossigeno). Gli stomi regolano dunque la loro apertura in funzione dello potenziale idrico della pianta. Se si è in situazione di elevato stato idrico, si ha l'apertura degli stomi per massimizzare la performance della pianta e permettere il fenomeno dell'evapotraspirazione. Se in caso contrario, il vegetale si trova in un basso stato idrico, si verifica la chiusura stomatica per evitare che avvenga la fuoriuscita dell'H₂O già in carenza.

Gli stomi sono diversamente presenti a seconda del tipo di piante, ma solitamente sono ubicati nella pagina inferiore della foglia, perché quella superiore è maggiormente esposta a luce e calore. Si trovano dunque in una posizione tale da minimizzare la perdita di acqua. Questi sono aperti o chiusi in funzione del turgore della cellule di guardia, caratterizzate dalla presenza di parenchimi, cioè di aree di rinforzo della parete cellulare. Le cellule di guardia sono quindi le cellule vegetali responsabili dell'apertura o chiusura della rima stomatica (apertura che permette la traspirazione e l'assorbimento di CO₂ nelle foglie). Il meccanismo funziona così: le due cellule di guardia di forma "reniforme" sono unite all'estremità a formare lo stoma. Quando la pianta giunge in situazione di stress idrico risponde facendo perdere turgore alle cellule di guardia che ("molliti") vanno a chiudere la rima stomatica. Ciò (--> perdita di turgore) avviene grazie alla presenza dell'acido abscissico che lascia uscire lo ione potassio con conseguente perdita di acqua. Il turgore di queste particolari cellule è dovuto quindi dalla capacità di regolare l'entrata ed uscita di soluti come appunto lo ione potassio creando così un gradiente di concentrazione che richiama molecole di acqua. La chiusura degli stomi provoca una forte trattenuta idrica ma sacrifica la respirazione cellulare. Se aumenta la quantità di acqua nella pianta, le cellule si aprono permettendo la traspirazione.

La singola cellula di guardia possiede una struttura molto particolare, ma semplice: la parete cellulare non è uniformemente ispessita, bensì è più sottile esternamente e più spessa in prossimità della rima, in oltre posseggono delle microfibrille di cellulosa che, con il loro particolare orientamento, fanno sì che la variazione di turgore delle cellule si rifletta in una variazione di forma anzi che di volume. La differenza di spessore della parete permette una maggiore elasticità esternamente ed una maggior rigidità internamente facendo in modo che nel momento in cui la cellula si inturgidisce si mantiene rigida e la rima resta aperta.

In altre parole, le cellule di guardia, a seconda del turgore, ossia della componente di pressione del potenziale idrico, cambiano forma, ma NON il volume. Si inarcano e deformano permettendo la fuoriuscita di H₂O. Il turgore delle cellule di guardia varia anche in funzione delle dinamiche temporali. Nel momento in cui si verifica il passaggio di H₂O attraverso lo stoma, il potenziale osmotico si abbassa mentre aumenta la componente di pressione.

(*In mono- e dicotiledoni le cellule di guardia si differenziano per la forma.) L'apertura stomatica dunque consiste nella deformazione delle cellule di guardia dovuta al passaggio di un transiente.

PREMESSA AL MECCANISMO DI APERTURA DEGLI STOMI. Gli stomi, si aprono quando le cellule, di guardia, accumulano ioni potassio, aumentano la concentrazione salina e riducono il potenziale idrico provocando l'ingresso dell'acqua nella cellula per osmosi. Le cellule gonfie di acqua diventano turgide e si ripiegano a forma di "fagiolo" aumentando l'ampiezza dell'apertura stomatica. Una fuoriuscita degli ioni potassio dalle cellule di guardia al contrario fa aumentare il potenziale idrico: l'acqua fuoriesce dalle cellule stomatiche che si afflosciano e si appiattiscono avvicinandosi fino a chiudere del tutto l'apertura stomatica.

*L'intrusione nella cellula di guardia di potassio è permessa dall'attività della pompa protonica della cellula di guardia, situata nella plasmalemma. La pompa protonica, anche detta H⁺-ATPasi, consumando ATP e sfruttando la sua demolizione, estrude protoni, determinando così un aumento di cariche positive nell'apoplasto e successivamente l'intrusione di ioni potassio nel citosol (=> esempio di co-trasporto ad antiporto). In tal modo il pH dell'apoplasto si fa acido per la presenza di idrogenioni che lo rendono positivo (=> POLARIZZAZIONE DI MEMBRANA: processo non spontaneo che avviene con consumo di ATP che permette il flusso di elettroni, creando un gradiente elettronegativo). La pompa protonica estrude o intrude protoni a seconda di com'è orientata sulla membrana e a causa delle differenze di quello che è il potenziale elettrochimico nella cellula rispetto all'esterno, riequilibrando apoplasto e sinplasto (equivale a dire IN e OUT).

*Per il trasporto di H₂O nella cellula non c'è bisogno di attività di pompe, ma il passaggio dell'acqua è un fenomeno che avviene in modo spontaneo, basato sul mantenimento di un equilibrio transmembrana e senza andare contro gradiente elettrochimico.

La regolazione stomatica avviene dunque attraverso processi di tipo ELETTRICHI, tramite due molecole in particolare che immagazzinano energia da spendere successivamente: ATP e NADH. [L'ATP--> fosforo = mattone di scambio. Tramite l'idrolisi perde un gruppo fosforico e cede l'energia che serve per l'attivazione dell' H⁺-ATPasi.]

SORGENTI/SOURCE = organi in grado di esportare fotoassimilati. Tipicamente foglie mature, ma anche organi di immagazzinamento (radici, tuberi) in caso di esporto.

SINK/POZZI = organismi non fotosintetizzanti e non autosufficienti (radici, frutti in sviluppo, tuberi)

XILEMA = vaso conduttore che trasporta la cosiddetta linfa grezza, ovvero una soluzione di H_2O e sali minerali prelevata dal terreno, conducendola dal basso verso l'alto (= dalla radice al germoglio). **DIREZIONE UNIDIREZIONALE E ASCENSIONALE.**

FLOEMA = vaso conduttore bidirezionale, nel senso che può trasportare la linfa elaborata sia verso il gemoglio sia verso la radice. Il diametro del floema è inferiore a quello dello xilema.

Attraverso il floema vengono trasportati ioni, metaboliti, zuccheri semplici e complessi verso i siti di stoccaggio e di accrescimento o nelle zone in cui c'è richiesta di "materiale" per fini energetici.

FATTORI AMBIENTALI CHE INFLUENZANO LA REGOLAZIONE STOMATICA : LUCE.

La luce è un fattore atmosferico che nelle piante a ciclo C3 e C4 fa aprire gli stomi mentre in quelle a ciclo CAM li fa chiudere. I pigmenti che intercettano la luce sono la clorofilla, che capta la luce rossa con lunghezza d'onda 670 nm, e la riboflavina che capta la luce blu attivandosi a intensità luminose basse, lunghezza d'onda 400 nm. La clorofilla e la riboflavina attivano la fotosintesi che produce ATP che a sua volta attiva le pompe protoniche per aprire gli stomi; c'è una ridondanza di segnale in quanto l'apertura degli stomi è data da segnali di luce blu e di luce rossa che agiscono indipendentemente l'uno dall'altro. La riboflavina captando basse intensità luminose è quella che fa aprire gli stomi all'alba.

FATTORI AMBIENTALI CHE CONDIZIONANO LA REGOLAZIONE STOMATICA : CO₂.

Se nelle camere sottostomatiche c'è poca CO₂ vuol dire che le cellule la stanno prendendo per fare la fotosintesi e quindi lo stoma resta aperto. Se invece la concentrazione sottostomatica è in equilibrio con quella dell'atmosfera, circa 400 ppm, o è maggiore, vuol dire che la pianta non fa la fotosintesi e gli stomi si chiudono. Si dice che la camera sottostomatica è un sink di CO₂, cioè un serbatoio di CO₂. La regolazione stomatica in base alla CO₂ è indipendente da quella in base alla luce. Si tratta dunque di un processo ciclico in cui gli stomi si aprono e chiudono in relazione alla concentrazione di CO₂ sottostomatica.

REGOLAZIONE STOMATICA IDROPASSIVA.

La regolazione idropassiva è uno dei meccanismi con cui l'acqua regola il movimento stomatico. Questa regolazione avviene in situazioni di forte stress idrico, gli stomi si chiudono perché le cellule di guardia appassiscono e si afflosciano, tutti questi meccanismi si azionano per limitare ulteriori perdite di acqua da parte della pianta.

REGOLAZIONE STOMATICA IDROATTIVA; AZIONE DELL' ABA MEDIATA DAL CA⁺⁺.

È una regolazione ormonale tipica delle cellule di guardia, di reazione dell'ABA; è mediata dal Ca²⁺ e attuata dal K⁺. L'ABA per funzionare deve essere dissociato e per esserlo il succo cellulare deve avere pH sub-alcalino (7,2). Il succo cellulare però in condizioni normali è acido perché le pompe protoniche estrudono H⁺ dalle cellule che acidificano il pH. Il succo cellulare è mandato dalle radici e quando la radice è in stress il pH diventa sub-basico (7,2), questo può succedere per sommersione della radice oppure se il suolo è troppo secco oppure se il metabolismo è rallentato e le pompe protoniche che acidificano l'apoplasto non sono attive. L'azione dell'ABA dunque dipende dalle radici, anticipa lo stress fogliare. Inibizione della pompa protonica del plasmalemma, per azione dell'ABA e mediazione del calcio, la pompa protonica funziona in senso opposto, cioè intrude protoni dall'apoplasto verso la cellula di guardia.

Inibizione del canale del potassio entrante e attivazione di quello uscente. Si tratta quindi di fenomeni regolativi che vanno contro l'apertura degli stomi e contro l'assorbimento di acqua delle cellule di guardia. L'ABA dunque modificando il metabolismo del calcio nelle cellule di guardia ha creato i presupposti per cui le cellule di guardia hanno perso l'acqua e si sono afflosciate. L'ABA proveniente dall'apoplasto causa contemporaneamente l'apertura dei due canali del calcio, il canale vacuolare e quello del plasmalemma. Il calcio si riversa nel citosol della cellula di guardia; l'aumento della concentrazione del calcio inibisce l'entrata di K⁺, questa inibizione fa sì che vengano inibite le proteine di scambio. Il tutto fa sì che il K venga estruso a livello cellulare. Tale estrusione dal plasmalemma della cellula di guardia causa un abbassamento del potenziale osmotico all'interno della cellula, l'acqua cellulare quindi fuoriesce dalla cellula che si affloscia e gli stomi si chiudono.

SINTESI E REDISTRIBUZIONE DELL' ABA.

La sintesi dell'ABA avviene per lo più a livello radicale; sono proprio le radici sottoposte a stress idrico, ad aumentarne la sintesi facendone quindi aumentare la concentrazione. Un altro fattore concomitante è la redistribuzione dell'ABA: avviene a livello xilematico e cellulare, l'ABA presente diventa più disponibile per le cellule di guardia. Quando le radici sono sottoposte a stress idrico il pH del succo xilematico sale. Tale stress causa un aumento della sintesi dell'ABA,

che fa sì che il succo xilematico normalmente sub-acido diventi sub-basico. La variazione del pH a livello radicale e del succo xilematico causa l'attivazione dell'ABA. In questo caso non è tanto la quantità dell'ABA che viene ad essere variata ma la sua mobilitazione che cambia, cioè la sua redistribuzione a livello fogliare.

FONDAMENTI FISIOLGICI DELLA TECNICA PRD.

La tecnica PRD serve a mantenere alto il potenziale e bassa la traspirazione, in modo che le piante abbiano bisogno di meno acqua. Praticamente metà delle radici sono sfruttate per portare acqua e l'altra metà è sfruttata per produrre ABA per far chiudere gli stomi. Le piante così coltivate rallentano la crescita vegetativa ma non quella riproduttiva, quindi questa tecnica non influenza la qualità dei frutti. Alla base della tecnica sta l'irrigazione a periodi alternati di un lato e poi dell'altro della pianta, procedimento di irrigazione split-root.

Il **disseccamento parziale delle radici (DPR)**; in inglese: *partial rootzone drying*, PRD) è una pratica agronomica che consente un drastico miglioramento nelle performance nell'irrigazione dei terreni agricoli, con riguardo, soprattutto, alle coltivazioni di ortaggi, alberi da frutto e vigneti. La tecnica consiste nell'indurre, nella pianta, una percezione fittizia di scarsità di acqua, in modo da determinare uno stress idrico al fine sfruttare la risposta fisiologica della pianta innescata da tali situazioni.

La tecnica permette un consistente risparmio di acqua di irrigazione (all'incirca un dimezzamento del fabbisogno idrico, con variazioni che dipendono dal tipo di coltura) ed è, pertanto, di particolare utilità per la coltivazione in aree dal clima arido, o in zone e territori affetti da aridità o da scarsità di risorse idriche. Alla maggiore efficienza si unisce un altro beneficio osservato, il miglioramento della qualità dei frutti e del vino.

La tecnica è stata sviluppata negli anni '90 in Australia Applicata soprattutto ai vigneti, la tecnica prevede che le viti siano "ingannate" sulla reale disponibilità di acqua nel terreno, inducendo in loro la falsa percezione di una situazione di carenza idrica mentre, al contempo, la pianta sta ricevendo acqua in maniera che, seppur ridotta, risulta sufficiente e adeguata al ciclo vegetativo. Lo scopo viene raggiunto alternando l'irrigazione a goccia su ciascuno dei due lati del filare del vigneto, facendo in modo che la pianta riceva acqua, in maniera alternativa, solo su un lato dell'apparato radicale per due settimane e quindi sull'altro nelle successive due settimane. Le radici sul lato lasciato all'asciutto producono acido abscissico (ABA): in questo modo, mandano un "segnale" ormonale per indicare lo stato di scarso potenziale idrico dei terreni, il che innesca alcune strategie con cui la vite affronta le fasi di stress idrico, come la ridotta produzione di getti, la chiusura degli stomi (per minimizzare la traspirazione di umidità attraverso l'epidermide foliare) o la produzione di bacche di dimensioni più piccole. Tuttavia, siccome la vite sta ricevendo ancora acqua sull'altro lato, lo stress idrico non diventa tanto severo da compromettere funzioni vitali come, ad esempio, la fotosintesi.

Oltre che sulla vite, la tecnica ha dato risultati sperimentali molto promettenti su agrumi, peri e peschi.

CENNI SULLA SINTESI PROTEICA.

Le proteine sono una componente fondamentale per l'anabolismo della pianta in quanto regolano i trasporti attraverso le membrane. La sintesi delle proteine avviene grazie all'informazione genetica basata sul metabolismo di due acidi: DNA e RNA. Le proteine sono catene composte da una ventina di aminoacidi, legati tra loro da legami polipeptidici, ogni aminoacido è specificato da un codone, cioè una tripletta univoca di 3 basi. Quindi una serie di triplette compongono una proteina. Tutte le proteine cominciano con una stessa sequenza che codifica la metionina e terminano con un codone STOP. La sintesi proteica consiste fondamentalmente di 2 fasi: la trascrizione e la traduzione. Nella trascrizione il DNA si divide in due singole eliche, poi viene trascritto sull'RNA che dal nucleo porta il messaggio al sito di attivazione. L'RNA trascrive così il messaggio del DNA su di un filamento. Nella traduzione ogni tripletta di RNA messaggero traduce un aminoacido. La prima tripletta codifica per la metionina, le triplette centrali codificano per altri aminoacidi e l'ultima tripletta dà il segnale di stop. Le unità che codificano le proteine sono i geni, i quali compongono i cromosomi. Un gene è composto da una parte centrale che codifica la proteina e due estremi 5' e 3'. La regione 5' è la regolatrice del gene e serve ad indicare dove codificare la proteina, a che punto della vita e secondo quale stimolo codificarla.

ENZIMI E CINETICA ENZIMATICA

Gli enzimi sono proteine dislocate all'interno dei vari organelli cellulari che catalizzano le reazioni biochimiche. Questi seguono una "dinamica biochimica", cioè una cinetica di reazione di tipo iperbolico: mano a mano che entra a contatto con il substrato, l'enzima pilota la reazione del substrato verso i prodotti della reazione.

La cinetica enzimatica è la legge di limitazione dei sistemi biologici e descrive l'andamento della velocità di una reazione catalizzata da enzimi, al variare della concentrazione del substrato e dell'enzima.

Dipende infatti dalla capacità dell'enzima di legare le diverse molecole chimiche di portarle in soluzione.

Le reazioni sono tanto più veloci quanto più elevata è la concentrazione di substrato; mano a mano che la concentrazione del substrato diminuisce la reazione rallenta.

Nel corso della reazione la concentrazione di substrato può essere aumentata, ma non è possibile superare il limite di velocità massima che dipende dalla conformazione stessa del substrato.

- Non tutte le combinazioni ENZIMA+SUBSTRATO sono ugualmente efficienti.

- La concentrazione massima di substrato corrisponde al raggiungimento della massima velocità della reazione. Nel momento in cui la concentrazione del substrato diventa fattore limitante, la velocità rallenta.

COSTANTE ENZIMATICA (K_m) = indica l'affinità di un enzima per un determinato substrato .

Minore è questo valore, più forte sarà il legame enzima-substrato, maggiore sarà perciò l'affinità tra i due componenti.

maggiore affinità $< K_m$; minore affinità $> K_m$

Enzimi che hanno via via K_m più basse sono tanto più affini al substrato. Per tali enzimi bastano concentrazioni minime di substrato per portare la reazione a metà del compimento. Quanto più basso è il valore della costante enzimatica, maggiore è la specificità dell'enzima per quel substrato.

Le reazioni biochimiche dunque dipendono fondamentalmente dalla costante enzimatica caratteristica e dalle situazioni di contorno, quali temperatura , umidità e pressione.

LEGGE ED EQUAZIONE DI NERST + POTENZIALE ELETTROCHIMICO

PREMESSA: Ai soluti presenti all'interno dei vari organelli cellulari o dei vari sistemi di trasporto della pianta è possibile attribuire uno stato energetico. Lo stato energetico di un soluto dipende da: componente chimica/di concentrazione e componente elettrica.

Fatto sta che l'energia legata ad un soluto in uno stato di transizione o in stato di equilibrio è rappresentata biochimicamente da quello che definiamo il suo POTENZIALE ELETTROCHIMICO (\Rightarrow misura della della concentrazione e della carica di un soluto in un determinato punto di passaggio in una reazione chimica). Un soluto si diffonde tramite membrana biologica in base al suo stato energetico e proprio il potenziale elettrochimico del soluto fa sì che la membrana attraverso cui avviene il passaggio di polarizzi o depolarizzi. Il soluto diffonde fino a quando l'energia del soluto all'interno della membrana non eguaglia l'energia del soluto all'esterno della membrana, fino a quando cioè il livello energetico del soluto si equilibra tra interno ed esterno della membrana stessa (fino a quando cioè il potenziale elettrochimico interno-esterno non è uguale).

Tutte le membrane biologiche di tutti gli esseri viventi sono dotate di un potenziale elettrico, sono cioè elettricamente polarizzate conseguentemente al passaggio di corrente elettrica (determinata dal passaggio di un soluto dotato di carica elettrica) che crea appunto una differenza di potenziale elettrico. La polarizzazione di membrana dipende dal metabolismo, in funzione della carica dei soluti tra interno ed esterno della membrana (in base ad una maggiore concentrazione di cariche + o - i soluti tendono ad andare a favore o contro gradiente) e in funzione della loro concentrazione tra i due scomparti transmembrana. Le membrane sono soggette a polarizzazione e depolarizzazione (determinata dal flusso di soluti carichi), determinando così la creazione di diversi gradienti di membrana.

Una diversa concentrazione di carica determina un flusso di corrente e il flusso di corrente determina una differenza di potenziale elettrico.

L'equazione di Nerst correla l'energia chimica di uno specifico ione j con il potenziale elettrico.

L'equazione stabilisce che, in condizioni di equilibrio, la differenza di concentrazione di uno specifico ione j tra i due compartimenti separati da una membrana semipermeabile è bilanciata dalla differenza di potenziale elettrico. La concentrazione di una soluzione ionica tra due scomparti all'equilibrio può non essere la stessa perchè bilanciata dalla differenza di potenziale elettrico tra i due compartimenti. In altre parole il potenziale di Nerst o di membrana ci dice che quando c'è equilibrio dalle due parti di una membrana, tra le quali una soluzione ha finito di diffondere liberamente, la concentrazione dello ione può non essere la stessa e questo è dovuto alla carica dello ione che determina sulla membrana un flusso di corrente elettrica e di conseguenza una differenza di potenziale elettrica. (Può dunque capitare che la carica elettrica all'interno di un comparto possa respingere l'introduzione di alcune molecole provenienti dall'esterno e dirette verso

l'interno, se della stessa carica, anche se l'introduzione potesse avvenire secondo gradiente di concentrazione, visto che tali molecole sono più concentrate all'estero che all'interno dell'organello.)

LEGGE DI NERST = le sostanze diffondono attraverso la membrana secondo gradienti di concentrazione e secondo gradienti elettrici, finché il raggiungimento dell'equilibrio elettrochimico ne blocca la diffusione.

$$E = E^{\circ} - \frac{RT}{nF} \cdot \ln \frac{[Red]^n}{[Ox]^m}$$

in cui:

- E° = potenziale standard di riduzione
- R = costante dei gas che vale $8,314 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$
- T = temperatura assoluta
- n = numero di elettroni scambiati
- F = costante di Faraday che vale 96485 Coulomb
- [Red] = concentrazione della specie ridotta
- [Ox] = concentrazione della specie ossidata
- n e m sono gli eventuali coefficienti stechiometrici della specie ridotta e della specie ossidata

POTENZIALE DI MEMBRANA; TRASPORTO ATTIVO E PASSIVO; H⁺ - ATPasi

L'assunzione dall'ambiente esterno di una sostanza nutritiva non liberamente diffusibile attraverso la matrice lipidica del plasmalemma richiede la mediazione di specifici sistemi di trasporto. I sistemi di trasporto di membrana sono costituiti da proteine integrali, con domini idrofobici e domini idrofilici esposti su entrambe le superfici e quindi rivolti verso l'esterno e verso l'interno della cellula. Esistono diversi tipi di sistemi di trasporto, raggruppabili in tre classi distinte a seconda delle loro caratteristiche strutturali e funzionali: pompe, carrier e canali (conformazioni che discriminano alcune molecole rispetto ad altre). (--> coinvolti ad esempio nell'assorbimento di nutrienti dal terreno, presenti nel plasmalemma, o, situati nel tonoplasto a svolgere ruoli essenziali nell'accumulo o nel sequestro di ioni e altre sostanze nel compartimento vacuolare).

TRASPORTO PASSIVO (esoergonico): sempre uniporto --> una molecola per volta

Il trasporto passivo non prevede un dispendio energetico avviene secondo gradiente di potenziale (è infatti attivato dalla presenza di una differenza di potenziale elettrochimico) ed è sempre UNIPORTO, prevede cioè il passaggio di una molecola per volta.

1 **DIFFUSIONE SEMPLICE**: canali e pori, no sito attivo. Si tratta di un passaggio transmembrana, ovvero di una diffusione semplice attraverso il doppio strato fosfolipidico. Ciò però non è possibile per tutte le molecole. Le molecole di grandi dimensioni, polari e cariche (come ad esempio i protoni H⁺) necessitano di vie proteiche specializzate (proteine canale) che incanalano gli ioni e li guidano contro gradiente.

2 **DIFFUSIONE FACILITATA**: carrier (permeasi, trasportatori) --> sono specifiche e regolano il flusso secondo un'attività enzimatica, hanno cioè un'affinità con un particolare substrato (affinità di tipo enzimatico --> sito di legame); carattere enzimatico; hanno un sito attivo in cui legano le molecole; modificano la propria struttura per facilitare il passaggio delle molecole e rilasciarle dalla parte opposta.

In entrambi i casi, vale a dire sia le proteine canale sia i carrier NON sono in grado di andare CONTRO GRADIENTE. In entrambi i casi la diffusione avviene DA UN POTENZIALE ELETTROCHIMICO SUPERIORE AD UNO INFERIORE, con conseguente caduta di potenziale elettrochimico e perdita di energia.

PROTEINE REGOLATRICI DEL T. PASSIVO = trasporto dal un livello energetico alto ad un livello energetico basso (no dispendio energetico); a favore del gradiente elettrochimico; gli elettroni si caricano passivamente, grazie alla natura elettrica di membrana.

TRASPORTO ATTIVO (endoergonico) ---> contro gradiente elettrochimico e tramite proteine di membrana, le POMPE. Queste sono le proteine regolatrice del trasporto attivo e agiscono contro gradiente elettrochimico. Possono essere di tipo primario o secondario, a seconda che ad esse sia accoppiato un altro tipo di trasporto. Le pompe sono singole molecole proteiche o complessi proteici che conducono un trasporto attivo primario e unidirezionale di ioni e molecole, utilizzando direttamente l'energia liberata dall'idrolisi di altre molecole o dal trasporto contemporaneo di un'altra molecola.

TRASPORTO ATTIVO PRIMARIO: trasporto di ioni, accoppiato a dispendio energetico sottoforma di ATP.

* esempio: POMPA H - Atpasi: ad essa è associata l'estrusione di protoni. E' responsabile del processo di polarizzazione delle membrane. Può essere localizzata sul plasmalemma o sul tonoplasto. In un caso trasloca H dal citoplasma all'apoplasto, nell'altro caso estrude protoni dal plasmalemma al vacuolo. In entrambi i casi crea un gradiente protonico attraverso la membrana. L'azione continuata di questa pompa elettrogenica crea, tra i differenti comparti tra cui avviene il passaggio protonico, una differenza di potenziale elettrico (DPE) lati della membrana. DPE e pH sono le due componenti che costituiscono nell'insieme il gradiente elettrochimico di protoni, che opera come forza proton- motrice per i meccanismi di trasporto condotti da carrier e canali. Nel trasporto mediato da carrier e canali è infatti il gradiente elettrochimico di protoni che dirige il traferimento di soluti attraverso la membrana contro o secondo gradienti elettrochimici o gradienti di concentrazione.

* caso specifico. Conseguenza della pompa protonica ubicata sul plasmalemma. Estrudendo protoni si ha una variazione del pH. Il pH del citosol solitamente è subalcalino o subacido, ma fondamentalmente neutro; il pH dell'apoplasto invece è decisamente acido perchè si ha un'elevata concentrazione di ioni H che dal citosol sono stati estrusi tramite la pompa protonica. Il meccanismo della pompa protonica prevede 3 fasi: 1) incamerazione del protone H ; 2) fissazione dell'ATP; 3) cessione del fosfato.

La pompa protonica ha solitamente una conformazione chiusa; quando lega un protone al suo interno, questo viene ad essere inglobato nella proteina, che lega anche una molecola di ATP la quale successivamente sarà fosforilata*; la molecola di ATP fosforilata fa sì che la proteina transembrana si apra, che il protone venga rilasciato e possa diffondere nella parte esterna. L'ATP, legandosi al gruppo fosfato P presente sulla pompa protonica diventa ADP, rimanendo inattiva finchè non si sia liberata del gruppo fosfato.

TRASPORTO ATTIVO SECONDARIO: il trasporto di una sostanza è reso possibile dal trasporto primario di un'altra. --> il trasporto di un soluto transmembrana contro gradiente elettrochimico (endoergonico) deve essere accoppiato al trasporto secondo gradiente elettrochimico (esoergonico), in modo tale che bilanci la resa energetica totale. In tal modo infatti si avrà una variazione complessiva di energia minore di zero.

L'energia necessaria a sostenere il trasporto attivo di uno ione contro gradiente elettrochimico è quella liberata dal passaggio e rientro nel citoplasma, secondo gradiente, di ioni H estrusi dalle pompe protoniche. Nelle membrane plasmatiche esistono complessi proteici, i CARRIER, che accoppiano il trasporto di ioni con quello di protoni (COTRASPORTO).

Esistono due forme di trasporto secondario: UNIPORTO E COTRASPORTO.

- UNIPORTO: trasporto di singolo soluto S che entra nella cellula guidato dal suo gradiente elettrochimico
- COTRASPORTO: trasporto contemporaneo di due specie ioniche o soluti di altro tipo. Possiamo parlare di SIMPORTO o ANTIIMPORTO. L' antiporto è il trasporto contemporaneo di due specie ioniche o di altri soluti che si muovono in direzioni diverse attraverso la membrana. Una delle due sostanze viene fatta fluire secondo gradiente, da un compartimento ad alta concentrazione ad uno a bassa concentrazione. L'entrata di questo soluto fa sì che avvenga il trasporto dell'altro soluto, da bassa ad alta concentrazione. Nello caso specifico --> funziona grazie all'energia di rientro dei protoni estrusi dalla pompa protonica ed è il tipico trasporto dei cationi (ad esempio Na). Sulla membrana è infatti ubicata una pompa protonica che strude protoni demolendo l'ATP in ADP, creando uno sbilanciamento di cariche positiva da interno ad esterno. Questi protoni hanno in sé un'energia acquisita dalla demolizione contemporanea dell'ATP, che fa sì che tendendo a ritornare allo stato energetico inferiore. (verso l'interno, dove sono in mancanza perchè precedentemente estrusi.) Quando ritornano verso l'interno e verso un antiporto, riportano le cariche positive verso l'interno e i cationi lì presenti, carichi positivamente, per equilibrio di cariche, tenderanno ad uscire verso l'esterno. Il simporto, analogamente all'antiporto, usa il flusso di un soluto secondo gradiente per muovere un'altra molecola contro gradiente, a in questo caso il movimento avviene attraversando la membrana nella stessa direzione. Un esempio è il simportatore di glucosio, che cotrasporta secondo gradiente due ioni sodio per ogni molecola di glucosio importata.

IPERPOLARIZZAZIONE = il potenziale di membrana (ossia, la differenza di potenziale tra interno ed esterno) diventa più negativo, aumenta perciò la differenza di potenziale. Ciò è dovuto all'aumento di carica positiva verso l'esterno. --> maggior squilibrio di cariche. Accade quando si ha l'estrusione di cariche dall'interno verso l'esterno.

DEPOLARIZZAZIONE = il potenziale di membrana, cioè la differenza di potenziale tra IN ed OUT diventa più positiva, perciò meno negativa e più vicina a zero. L'attività di estrusione di cariche

transmembrana diminuisce e la membrana si depolarizza --> determina un maggior equilibrio; le cariche infatti sono più bilanciate

PERMEABILITA' DELLE MEMBRANE.

Le membrane hanno diversa permeabilità in base alle sostanze; la membrana artificiale non ha proteine di trasporto mentre quella biologica sì. Per le sostanze non cariche come l'acqua, le velocità sono simili, il valore è leggermente più alto in quella biologica perché ci sono le acquaporine che favoriscono il passaggio. Le sostanze cariche passano più velocemente nelle membrane biologiche grazie alle proteine trasportatrici. Le molecole grandi, polari e cariche possono passare solo attraverso le proteine. La velocità del glicerolo è uguale perché non ha dei trasportatori ionici, viene usato come punto di riferimento nella membrana vegetale: le sostanze sopra a tale valore sono dette PERMEABILI, passano con più facilità, mentre quelle al di sotto sono dette IMPERMEABILI, passano più lentamente. Le proteine di trasporto di membrana sono canali, carrier, pompe. Le proteine canale agiscono come dei pori nella membrana. Le proteine carrier possono aprirsi e chiudersi.

LO SPETTRO DELL' ENERGIA SOLARE.

La luce solare è una miscela di radiazioni di lunghezza d'onda λ compresa tra 230 e 4000 nm; divise in: 2% ultravioletti, λ tra 230 e 400 nm, 49% luce visibile, λ compreso tra 400 e 700 nm dal violetto al rosso, 49% infrarossi, λ compreso tra 700 e 4000 nm. I raggi infrarossi sono calore, scaldano; gli ultravioletti creano stress al metabolismo secondario della pianta. E' detta PAR la radiazione fotosintetica attiva. L'energia che colpisce le foglie dipende dall'energia massima e dall'angolo di incidenza. La durata della radiazione dipende invece dalla durata della giornata. $I = I_{max} \cdot \cos \alpha$.

ECCITAZIONE DEI PIGMENTI, RIEMMISSIONE DI ENERGIA: DISSIPAZIONE E TRASFERIMENTO.

I pigmenti sono molecole i cui elettroni possono cambiare livello energetico. La clorofilla quando viene colpita dalla luce assorbe energia e si eccita biochimicamente, gli elettroni cambiano il loro livello energetico. Quest'energia di attivazione viene trattenuta per pochissimo tempo e poi viene riemessa come trasferimento di energia o come risonanza, gli eccessi di radiazione vengono riemessi come fluorescenza o calore, sono due sistemi di dissipazione dell'energia in modo che l'energia in eccesso non crei fotoinibizione. Sono metodi di riemissione dell'energia:

- Il trasferimento: l'energia viene trasferita in un'altra molecola insieme all'elettrone eccitato dall'acqua, derivante dalla fotolisi dell'acqua; in questo modo la fotosintesi è al 100% di efficienza, ma in realtà non è mai al 100% perché l'energia è riemessa in parte come energia riducente insieme all'elettrone ed in parte è dissipata.
- Risonanza: energia captata dalla clorofilla del complesso antenna che la riemette ad altre molecole di clorofilla fino ad arrivare alla clorofilla centro di reazione che trasferisce l'energia sugli elettroni dell'acqua; nella risonanza vi è trasferimento di energia non di elettroni.
- Fluorescenza : energia riemessa con radiazioni a lunghezza d'onda maggiore.
- Calore

SCHEMA Z DELLA FOTOSINTESI, TRASPORTO DI ELETTRONI.

Lo schema Z della fotosintesi è attivato dalla luce e descrive il trasporto degli elettroni dall'acqua al NADP⁺.

L'acqua viene ossidata a $O + H^+ + e^-$, questo passaggio è detto fotolisi dell'acqua. Si attiva il P680, attivato 2

dal complesso antenna del PS II, che passa l'elettrone al P680*, livello eccitato, che lo trasferisce al plastoquinone, PQ che diventa PQH₂, che lo passa al complesso del citocromo b₆f, a sua volta il b₆f passa gli elettroni alla plastocianina, PC, che li dà al fotosistema P700, attivato dal complesso antenna del PS I, passano al P700* e vengono passati all'accettore finale, il complesso ferredossina- NADPriduttasi che li mette sul NADP⁺ formando NADPH. In sostanza la luce è quella che permette il trasporto degli elettroni, che vengono sottratti all'acqua: passaggio degli elettroni attraverso i due fotosistemi, riduzione del NADP⁺ al NADPH.

I FOTOSISTEMI DEL CLOROPLASTO: FUNZIONE

I fotosistemi del cloroplasto sono complessi proteici pigmentati formati per assemblamento di proteine integrali di membrana dei pigmenti presenti nel cloroplasto e in grado di fotosintetizzare, cioè capaci di captare l'energia luminosa e convertirla in energia chimica. Questi sono: PSI (fotosistema I) e PSII (fotosistema II). I due fotosistemi agiscono in serie. Entrambi contengono clorofilla, responsabile dell'assorbimento della radiazione luminosa. Mentre il PSI assorbe nel rosso lontano (ossia quella luce dopo la quale non vi è più luce, perché dopo il rosso lontano c'è

l'infrarosso che è calore) a 700 nm, il PSII, invece, assorbe nel rosso 680 nm (di derivazione della luce blu che è stata degradata) ed è concettualmente precedente al PSI, in quanto parliamo di un livello energetico superiore, dovuto ad una lunghezza d'onda minore.

I fotosistemi hanno 2 funzioni ben diverse, anche se entrambi sono coinvolti in una reazione di ossido-riduzione:

> Il PSII fornisce l'agente ossidante, in grado di ossidare l'H₂O (--> le fa perdere elettroni e ossidata diventa O₂) e fa sì che le piante emettano O₂ nell'atmosfera. > Il PSI riduce il NADP a NADPH fornendogli un gruppo fosfato e fa sì che quest'ultimo sia presente nella fase oscura della fotosintesi ai fini dell'organificazione del carbonio.

I FOTOSISTEMI DEL CLOROPLASTO: STRUTTURA

I fotosistemi sono complessi proteici pigmentati. Al centro dei fotosistemi vi è una molecola di clorofilla specializzata, detta centro di reazione, che è il cuore del fotosistema. Il centro di reazione del PSII si chiama P680 e quello del PSI si chiama P700, denominati in base alla lunghezza d'onda che sono in grado di captare. Intorno ai rispettivi centri di reazione vi sono altre molecole di clorofilla dette tutte insieme, complesso antenna.

Le molecole di clorofilla del complesso antenna, captata l'energia luminosa, si eccitano e trasferiscono per risonanza la loro energia (di derivazione da quella luminosa) al centro di reazione all'interno del quale è quindi convogliata tutta l'energia, oltre a quella che il centro di reazione è in grado di captare autonomamente dalla luce rossa.

QUINDI: tutte le molecole del complesso antenna "lavorano" per il centro di reazione -->

CAPTANO ENERGIA E LA TRASFERISCONO PER RISONANZA AL CENTRO DI REAZIONE.

Per risonanza si intende un trasferimento di energia che non implica un trasferimento di elettroni.

Due corpi entrano in risonanza per affinità fisica. Se vi è affinità fisica, è possibile che un composto eccitato (un pigmento eccitato in questo specifico caso) possa trasferire la sua energia ad altri pigmenti affini e quindi, sostanzialmente, a molecole uguali e se stesso, per risonanza (vale dire, una molecola di clorofilla può trasferire parte della sua energia ad altre molecole di clorofilla). L'energia trasferita sarà inferiore all'energia captata inizialmente: infatti parte dell'energia viene trattenuta per far sì che un composto entri in risonanza con un altro.

Una volta che il complesso antenna PSII ha trasferito l'energia al centro di reazione P680 (in ordine il primo complesso che capta la luce è il PSII con complesso antenna P680), questo si eccita e l'elettrone del centro di reazione passa dal suo livello base/standard al quello superiore--> Il centro di reazione è nel suo stato "eccitato" P680*. Lo stato energetico superiore viene mantenuto per poco. Successivamente il PSII, o per meglio dire, il P680* trasferisce più elettroni al centro di reazione dell'altro fotosistema, al P700 attraverso il citocromo b₆ - f. Così facendo, il centro di reazione P700, una volta preso l'elettrone (e energia), si eccita di per sé (--> radiazione del rosso lontano) e aumenta il proprio stato energetico grazie anche alla risonanza delle molecole del complesso antenna che ha intorno a sé.

TRASPORTO TRANSMEMBRANA DI H⁺ E SINTESI DI ATP NEL CLOROPLASTO.

Nel lume del tilacoide avviene la fotolisi dell'acqua che produce ossigeno, H⁺ ed e⁻; poi c'è la procedura dello schema Z della fotosintesi. La fotolisi dell'acqua e il citocromo b₆f portano H⁺ nel lume del tilacoide; quest'alta concentrazione di H⁺ attiva un rientro protonico, questi H⁺ che rientrano passano dalla ATP sintasi, fattore accoppiante, che accumula quest'energia di rientro protonico nell'ATP. L'energia di rientro dei protoni è in grado di fosforilare l'ADP, creando ATP. Dall'accoppiamento funzionale dello schema Z e del fattore accoppiante, sfrutta l'energia di rientro, viene quindi a formarsi l'ultimo prodotto della fase luminosa, l'ATP. Nella fase luminosa della fotosintesi entrano: acqua, luce, NADP e ADP e vengono prodotti: ossigeno, NADPH e ATP.

CONFRONTO FOTOSINTESI/ RESPIRAZIONE PER LA SINTESI DI ATP.

La fotosintesi non è l'unico processo in grado di sintetizzare ATP. L'altro processo cardine nelle piante è la respirazione. In entrambe c'è sempre un'energia di rientro protonico che fissa il P sull'ADP producendo ATP, cambia la fonte di H⁺, nella respirazione proviene dall'ossidazione del NADPH, nella fotosintesi proviene dall'ossidazione dell'H₂O, fotolisi. Nella respirazione vi è consumo di ossigeno e di energia riducente, avviene nei mitocondri. Nella fotosintesi invece c'è una produzione di ossigeno e di energia riducente, avviene nei cloroplasti. Mentre con la fotosintesi, grazie all'ossidazione dell'acqua, si producono sia ATP sia NADPH, la respirazione utilizza NADH e lo ossida a NAD⁺.

FOTOINIBIZIONE, FORMAZIONE DEI RADICALI LIBERI DELL'ACQUA.

La fotoinibizione è il rallentamento dell'attività fotosintetica a seguito di un troppo elevato apporto di energia luminosa, la pianta non può usarla tutta. Al salire del flusso fotonico, la fotosintesi raggiunge un massimo, mantiene questo livello di massimo, dopo di che, per valori crescenti di luce la fotosintesi via via decresce. All'interno delle piante esiste una difesa a più livelli contro gli

effetti della fotoinibizione. Nel primo livello vi è la dissipazione del calore, la clorofilla è in grado di eccitare l' elettrone a luce polarizzata ad alto livello energetico e dissipa questo surplus di energia sotto forma di calore per tornare all' orbitale dell' eccitazione alla luce rossa. I danni da fotosintesi sono molto simili ai danni da invecchiamento e sono legati a reazioni tra le molecole biochimicamente attive degli organismi vegetali ed i radicali: con la luce viene innescato il processo fotosintetico, che porta all' ossidazione dell' acqua. Questa reazione è in equilibrio con la reazione di demolizione dei vari radicali liberi dell' acqua.

Da due molecole di acqua, sottraendo un e- per volta, otteniamo una molecola di acqua, un elettrone, un protone ed un radicale idrossile. L' idrossile è instabile ed è uno dei primi radicali liberi. Se esso si lega all' acqua, si ottiene una forma altamente reattiva, altamente ossidante, il radicale perossido di idrogeno, si libera nuovamente un H e quindi, un protone ed un elettrone. A sua volta dal perossido si può staccare un' altra forma reattiva, il radicale superossido e due idrogeni che formano altri due protoni ed un elettrone. Infine il radicale superossido può stabilizzarsi a ossigeno molecolare, cedendo l' elettrone. Il passaggio di acqua a ossigeno produce quindi ossigeno, 4 protoni e 4 elettroni. Questa reazione però non può avvenire in un passaggio unico ma è subordinato alla formazione dei radicali dell' acqua. La seconda linea di difesa fa riferimento a molecole che sono in grado di assorbire i fotoprodotti tossici.

ERBICIDI CHE SFRUTTANO MODIFICAZIONI DEL FLUSSO DI TRASPORTO ELETTRONICO.

Due erbicidi che intervengono a livello di trasporto elettronico nella fotosintesi sono: il Paraquat e il Diuron. Il primo agisce a livello dello schema Z: agisce da intercettore a livello dell' ultimo passaggio elettronico, tra la ferredossina e il NADP, ed è in grado di accettare l' elettrone che deve essere trasferito, legarlo all' ossigeno e formare lo ione superossido, che porta la pianta alla morte. Il sito di azione del Diuron invece è il ciclo del plastochinone. E' una molecola di sintesi con conformazione simile a quella dei plastochinoni e con essi compete per il sito di legame dell' elettrone, cioè lega l' elettrone al posto del plastochinone. Così facendo blocca il ciclo e poiché l' erbicida non è in grado di accettare elettroni e cederli, al contrario del plastochinone, blocca il flusso elettronico durante il trasferimento dal PS II al PS I, blocca il processo di fotosintesi e porta a morte la pianta.

FASE OSCURA DELLA FOTOSINTESI: CARBOSSILAZIONE, RIDUZIONE E RIGENERAZIONE.

La fase oscura della fotosintesi avviene nello stroma del cloroplasto. Vengono usati i prodotti della fase luminosa, cioè NADPH e ATP. E' anche detta ciclo di Calvin. Per ogni CO₂ fissata sono richieste 2 NADPH e 3 ATP. La fase oscura è formata dalle fasi :

1. Carbossilazione: la RuBisCo fa la carbossilazione, cioè fissa 3 CO₂ e 3 H₂O su 3 ribulosio 1,5-difosfato, si formano 6 molecole di acido 3-fosfoglicerico.
2. Riduzione: i 6 acido 3-fosfoglicerico sono ridotti, con consumo di 6 ATP a 6 acido 1,3 difosfoglicerico che vengono ridotti ancora a 6 gliceraldeide 3-fosfato, con consumo di 6 NADPH, una delle sei esce dal ciclo per essere trasformata in saccarosio o amido, se non viene portato via lo zucchero formato, il ciclo si ferma.
3. Rigenerazione: le altre 5 molecole di gliceraldeide 3-fosfato che restano nel ciclo attraverso diversi passaggi, e con consumo di 3 ATP, vengono trasformate in 3 molecole di ribulosio 1,5-difosfato che ricomincia il ciclo.

Per le fasi di riduzione e rigenerazione serve l' energia prodotta durante la fase luminosa, senza la fase luminosa la fase oscura non può avvenire. Il ciclo si ferma se i prodotti, ovvero gliceraldeide 3-fosfato, ADP, NADP⁺ e lo zucchero formato, non sono portati via. Quindi da ciascun ciclo di Calvin esce una molecola di gliceraldeide 3-fosfato che serve alla pianta per la sintesi degli zuccheri.

SINTESI DI AMIDO PRIMARIO NEL CLOROPLASTO E DI SACCAROSIO NEL CITOSOL

La sintesi di amido primario e saccarosio sono tra loro antagoniste, competono cioè per lo stesso substrato, il trioso fosfato (zucchero a tre atomi di carbonio). Il trioso fosfato di derivazione dal ciclo di Calvin è sottoposto ad una dicotomia, ossia può prendere due vie differenti: contribuire alla sintesi del saccarosio o a quella dell'amido. Questa molecola incontra un destino differente a seconda che rimanga nel cloroplasto (SINTESI DI AMIDO PRIMARIO, carboidrato di riserva) o che venga pompato al di fuori del cloroplasto e messo in circolazione per il citosol cellulare (SINTESI DEL SACCAROSIO, principale zucchero traslocato nel floema).

La competizione è mediata da un trasportatore che la regola: l'antiporto detto "trasportatore dei triosi fosfati". Questi cotrasportatori sono proteine transmembrana della membrana esterna del cloroplasto in grado di mettere in comunicazione il cloroplasto con il citosol circostante. La competizione tra sintesi di del saccarosio e sintesi dell'amido primario è a carico dell'attività di questi trasportatori, che sono in grado di ripartire differentemente il trioso fosfato presente nel cloroplasto di derivazione dal ciclo di Calvin.

Come detto la sintesi di amido primario e saccarosio dipende dalla ripartizione del triosofosfato; questa a sua volta dipende dall'attività degli antiporti che dipende a sua volta dalla concentrazione dell'ortofosfato (fosforo inorganico). Gli antiporti difatti traslocano triosofosfato in cambio di ortofosfato (esce il trioso fosfato; entra il P inorganico), determinando così un vero e proprio scambio di sostanza organica e molecola inorganica attraverso la membrana del cloroplasto. Quindi dalla concentrazione di ortofosfato (P inorganico) presente nel citosol cellulare (e quindi dall'attività ATPasica) dipende il tipo di sintesi che vince. Il destino del saccarosio sarà quello di transiente nei processi di caricamento e scaricamento floematico e di distribuzione dei prodotti della fotosintesi a tutta la pianta; la stessa biosintesi del saccarosio è favorita infatti dalla contemporanea sintesi del floema, il quale attiva la richiesta di questa molecola l'amido primario invece tenderà ad essere accumulato nei cloroplasti ad opera di un'enzima, l'amidosintasi, che è in grado di attaccare via via una molecola di glucosio, donata dall'ADP-glucosio, alla molecola di amido che si sta formando.

Le due biosintesi si differenziano per un distinto taglio spaziale e temporale, tra notte e giorno. Mentre la biosintesi del saccarosio avviene esternamente al cloroplasto, quella dell'amido internamente. Di notte si ha un netto immagazzinamento di triosi fosfati intracloroplasto sotto forma di amido primario, che periodicamente necessita di essere smaltito e utilizzato (una volta scisso nelle sue due componenti esose, glucosio e fruttosio). Di giorno invece essere maggiormente attive le vie metaboliche, i triosi fosfati presenti nel cloroplasto vanno incontro maggiormente alla sintesi di saccarosio, che sarà immesso nel torrente floematico

RIPARTIZIONE DEL TRIOSO-FOSFATO TRA CLOROPLASTO E CITOSOL.

La sintesi di amido o saccarosio, quindi, dipende dalla ripartizione del trioso-fosfato; a sua volta questo dipende dall'attività degli antiporti, che dipende dalla concentrazione dell'ortofosfato. Gli antiporti traslocano trioso-fosfato in cambio di ortofosfato, cioè P inorganico. Quando nel citosol la concentrazione di ortofosfato è alta, i trasportatori funzionano bene ed il trioso-fosfato del ciclo di Calvin penetra nel citosol e dà inizio alla sintesi del saccarosio. Al contrario invece una bassa concentrazione di ortofosfato nel citosol provoca una carenza di substrato per i trasportatori che rimangono poco attivi o vengono disattivati, il trioso-fosfato resta nel cloroplasto e la reazione competitiva che vince è quella di sintesi dell'amido primario.

SINTESI DELL' AMIDO SECONDARIO: AMILOPLASTI.

La sintesi di amido secondario avviene negli amiloplasti o leucoplasti. Gli stessi antiporti che permettono l'uscita del trioso-fosfato dai cloroplasti al citosol servono ai leucoplasti per incamerare il trioso-fosfato stesso. Di giorno l'amido che si forma è amido primario. Di notte invece, l'amido primario, sintetizzato di giorno viene regredito a glucosio; inoltre il glucosio (6C) viene diviso e, sotto forma di trioso-fosfato, viene esportato al citosol dai trasportatori. Viene così attivata la sintesi di saccarosio il quale viene trasportato alla pianta per via floematica, in organi detti sink, in grado di immagazzinare alte quantità di zuccheri. Quindi, il saccarosio (12C), derivante dall'esportazione del trioso-fosfato, che deriva dal glucosio derivante dall'idrolisi dell'amido primario prodotto durante il giorno, viene idrolizzato; il glucosio che ne deriva, a mezzo dell'amidosintasi, il tutto ha luogo nell'amiloplasto, forma l'amido secondario, amido permanente che serve come prodotto di riserva.

ELEMENTI STRUTTURALI DEL FLOEMA: FUNZIONI

Il floema, detto anche tessuto cribroso, è il tessuto di conduzione bidirezionale della linfa elaborata, la soluzione zuccherina, ossia quell'insieme di sostanze organiche tra cui gli zuccheri provenienti dalla fotosintesi e gli ormoni, che viene traslocata da un'area di produzione, come ad esempio la foglia matura, ad una regione di utilizzo che richiede gli zuccheri per la propria crescita (radici, semi, frutti) o ad una di accumulo (ad es. tuberi, o la radice della barbabietola o il fusto della canna da zucchero) o a cellule di riserva, in direzione opposta a quella dello xilema --> dalle foglie al resto della pianta. Il movimento è attivo: implica cioè un dispendio energetico. Le sostanze elaborate entrano negli elementi cribrosi dai punti di produzione mediante pompe molecolari del plasmalemma e altre pompe analoghe provvedono a riversarle alle cellule nei punti di utilizzo.

IL TRASPORTO FLOEMATICO NON SEGUE UNA DIREZIONE FISSA E NON È DEFINITA DALLA GRAVITÀ (da sorgenti = zone di produzione a SINK (o pozzi) = organi consumatori o di accumulo di energia).

Il trasporto floematico avviene attraverso il tessuto del cribro, un tessuto sottocorticale composto da 3 tipi di cellule (in ordine interno-esterno):

-cellule funzionali al trasporto, dette ELEMENTI DEL CRIBRO. Sono cellule di tipo tubulare. *CELLULE COMPAGNE* (in corrispondenza citoplasmatica con gli elementi del cribro. A collegare le cellule compagne con gli elementi del cribro sono i cosiddetti PONTI DI CITOPLASMA). Le cellule compagne funzionano come tubi attivi; hanno il compito di dirigere la direzione del soluto che le attraversa.

CELLULE DEI PARENCHIMI E FIBRE: avvolgono il tessuto floematico e mantengono entro un certo target l'estensibilità delle cellule. Hanno una FUNZIONE DI COSTRIZIONE, NON DI SOSTEGNO, in modo tale che le cellule possano creare flussi.

*Gli elementi del cribro, ossia queste cellule tubulari, a differenza dei vasi xilematici, sono cellule "vive" e delimitate da membrane. Contengono citoplasma, che permette perciò un trasporto di tipo SINPLASTICO (per via cellulare). Con lo sviluppo, gli elementi del cribro via via perdono le capacità mitotiche: perdono cioè nucleo e vacuolo. Di conseguenza, lo scambio di soluti (trasporto floematico = trasporto di saccarosio) è un tipo di scambio citoplasmatico e la sola membrana interessata è quella citoplasmatica.

*Ciascuna cellula floematica è collegata a quella preesistente, vale a dire a quella "sotto" attraverso veri e propri ponti e la superficie di attraversamento prende il nome di PLACCHE CRIBROSE, delle discontinuità che hanno il compito di permettere gli scambi di flussi di sostanze da un tubo cribroso all'altro --> AREE ESTESE DI

CONNESSIONE TRA ELEMENTI DEI TUBI CRIBROSI

*Il citoplasma degli elementi del cribro, cioè dei vasi floematici, contiene il succo floematico e proteine citoplasmatiche, la cui funzionalità fondamentale è quella di OSTRUIRE o DISOSTRUIRE, formando un reticolo proteico, i vasi in caso di differenze di pressione del vaso floematico, permettendo di mantenere il sistema in continuo turgore e evitando in tal modo una crescita volumetrica di questo a seguito di brusche variazioni di pressione.

I vasi sono soggetti a pressione positiva: quando dall'esterno va a ledere un vaso xilematico, da quell'apertura potrebbe uscire la linfa se le proteine non ne ostruissero l'uscita. Hanno perciò una funzione per così dire "CICATRIZZANTE".

PROTEINE P e ZUCCHERO CALLOSO (contenute negli elementi del cribro) ==> sostanze secrete in caso di bruschi sbalzi di pressione per evitare la fuoriuscita di flusso floematico ed evitare perciò un danno fisico o di tipo entomologico, dovuto alla presenza di insetti che si inseriscono nella linfa floematica nutrendosi di questa stessa. Hanno dunque la funzione di mantenimento del flusso floematico in pressione positiva.

N.B.: Le placche cribrose inoltre presentano dei pori, i quali, in determinati periodi dell'anno, in modo particolare a fine stagione vegetativa, vengono ad essere ostruiti dal CALLOSO, uno zucchero a grandi molecole che in periodo invernale isola termicamente la pianta, mantenendola in uno stato di quiescenza.

COMPOSIZIONE DEL FLOEMA (H₂O + SACCAROSIO)

TRASPORTO DEL FLOEMA = è un flusso di massa (H₂O + SACCAROSIO) la cui entità dipende da gradienti di potenziale osmotico che determinano gradienti di pressione. Avviene in risposta ad un gradiente di pressione che si crea in seguito a caricamento e scaricamento del floema, da zone in cui la pressione è maggiore, perchè maggiore concentrazione di soluti (in questo caso di saccarosio) e zone di pressione minore (minor quantitativo di saccarosio). Il saccarosio varia di concentrazione e determina dunque variazioni del potenziale osmotico --> le altre sostanze traslocano grazie al movimento determinato dal saccarosio.

L'H₂O si muove contro gradiente di potenziale idrico, ma il movimento è per flusso di massa e non per osmosi.

La presenza delle placche cribrose impedisce che si raggiunga immediatamente l'equilibrio di pressione tra sorgente e pozzo.

CARICAMENTO FLOEMATICO = meccanismo mediante il quale gli zuccheri fotosintetizzati nelle cellule del mesofillo fogliare entrano nel floema. L'ingresso avviene a livello del complesso cellula compagna/elemento del cribrio, considerati come un'unica unità funzionale. Si tratta di un trasporto attivo che avviene contro gradiente di potenziale chimico (nel cribrio gli zuccheri sono più concentrati che nelle cellule del mesofillo). Il caricamento può essere sia di tipo simplastico (per mezzo dei numerosi plasmodesmi presenti tra le cellule compagne e le cellule della guaina del fascio), sia di tipo apoplastico (mediante un simporto saccarosio/protone localizzato tra le cellule transfer e la membrana plasmatica delle cellule compagne; il complesso SE/CC appare simplasticamente isolato).

SCARICAMENTO FLOEMATICO = trasporto del saccarosio dalla sorgente al pozzo. Non esiste un unico modello. I pozzi possono essere molto diversi (es.: ORGANI VEGETATIVI = apici radicali, foglie giovani; TESSUTI DI RISERVA = radici e fusti; ORGANI RIPRODUTTIVI: fusti e semi). LO SCARICAMENTO PUO' ESSERE DI TIPO SIMPLASTICO E APOPLASTICO, a seconda della natura dei pozzi. E' ad esempio di tipo apoplastico per quei pozzi che accumulano grandi quantità di zuccheri come tuberi di barbabietola e fusti di canna da zucchero.

Il trasporto nei tessuti "pozzo" dipende dall'attività metabolica.

- Nello scaricamento simplastico la concentrazione di saccarosio viene mantenuta bassa mediante la respirazione, la polimerizzazione e mediante reazioni di biosintesi --> richiesta energetica indiretta.
- Nello scaricamento apoplastico si ha almeno uno stadio di trasporto attivo (es.: antiporto saccarosio/protone).

IL TRASPORTO FLOEMATICO PUO' ESSERE DI TIPI:

- A BREVE DISTANZA: mesofillo --> elementi del cribro a livello della sorgente
elementi del cribro a livello del pozzo --> cellule riceventi
- A LUNGA DISTANZA: traslocazione sorgente --> pozzo

(teorie attive = richiesta di energia per la traslocazione degli zuccheri e delle altre sostanze da sorgenti a pozzi; teoria passiva = la richiesta energetica è indiretta cioè soltanto per il mantenimento dell'integrità funzionale delle cellule coinvolte --> modello del flusso di pressione)

RIPARTIZIONE DEI PRODOTTI DELLA FOTOSINTESI, FORZA DI UN SINK.

La ripartizione degli zuccheri tra i vari organi della pianta segue dei modelli di traslocazione tipici di ciascuna pianta e di ciascuna fase dello sviluppo delle piante stesse. Nelle piante coltivate bisogna fare in modo che i sink di zuccheri siano negli organi per i quali quella pianta è coltivata e non in altri che tanto non vengono raccolti. I modelli di traslocazione usano degli indici, ad esempio l' 'harvest index' è usato nei cereali: 'harvest index = peso secco frutto / peso secco totale'.

Questo indice misura la percentuale di peso dei frutti rispetto al peso totale della pianta. Gli elementi minerali (K) e le sostanze organiche (aminoacidi) portate dallo xilema vengono rimobilizzate attraverso il floema e portate ai sink. Grazie a questa rimobilizzazione queste sostanze possono raggiungere gli organi sink che hanno poca capacità traspirativa. La cosa difficile da fare è aumentare la forza di un sink, anche perché tale forza non è una costante, ma dipende da due grandezze: dalla dimensione del sink e dalla sua attività metabolica. Il prodotto di dimensione per attività risulta nella forza del sink; tanto più un sink è forte tanto più è in grado di scaricare saccarosio.