

Botanica Farmaceutica

Prof.ssa DANIELA DE VITA

Email: daniela.devita@uniroma1.it
Tel.: 06-49912788

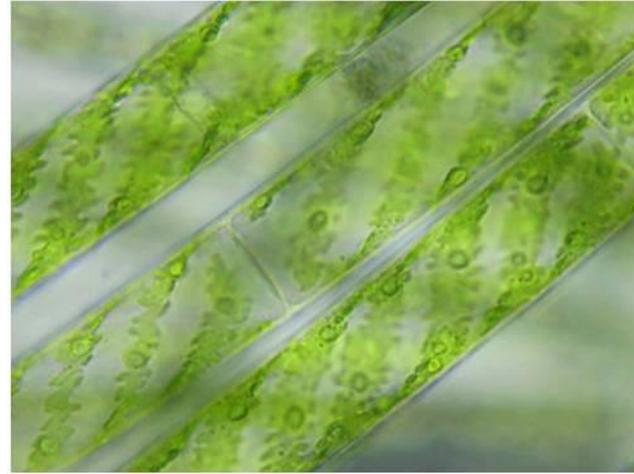
Prof. LUCA SANTI

Email: l.santi@uniroma1.it
Tel.: 06-49912195

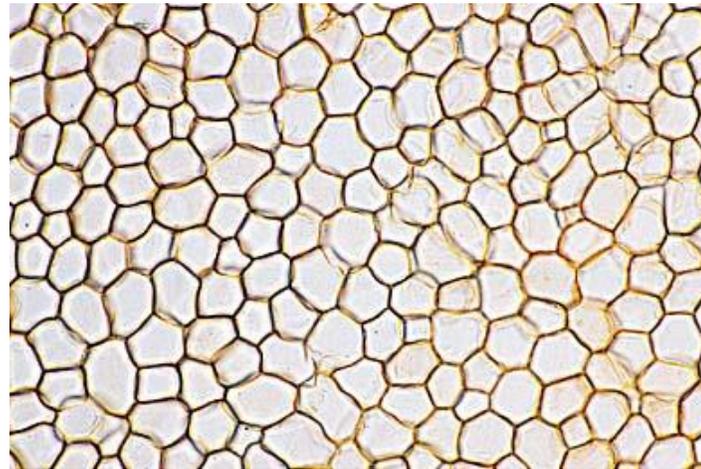
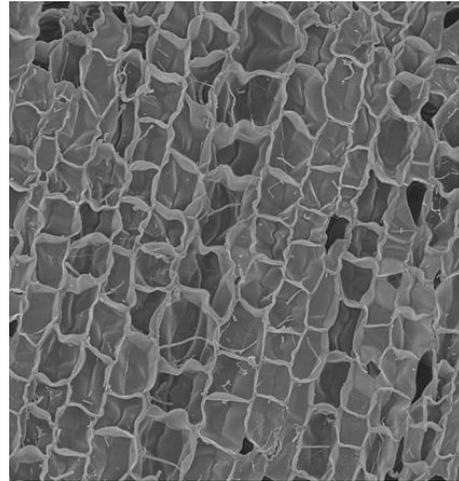
CITOLOGIA VEGETALE

PRINCIPIO UNIFICANTE DELLA BIOLOGIA MODERNA

Tutti gli organismi viventi sono formati da cellule



Nel 1665 Robert Hooke usa per primo la parola cellula osservando la struttura del sughero al microscopio, riferito alle cavità separate da pareti



Nel 1838 Matthias Schleiden, un botanico tedesco giunse alla conclusione che tutti i tessuti vegetali sono costituiti da cellule.

Nel 1839 Theodor Schwann estese le osservazioni di Schleiden ai tessuti animali.

TEORIA CELLULARE

l'eterna continuità

Rudolf Virchow (1858) affermò che le cellule possono essere generate solo da cellule pre-esistenti



Omnis cellula e cellula

Quando una cellula esiste ci deve essere stata una cellula pre-esistente, proprio come un animale si origina solo da un animale e una pianta si origina solo da una pianta.....*Per tutte le varietà di esseri viventi, sia interi organismi animali o vegetali, sia le parti che li compongono, domina una legge eterna di continuità.*

LE CELLULE SONO L'UNITA' DI BASE DELLA VITA

La **teoria cellulare** si basa su tre affermazioni:

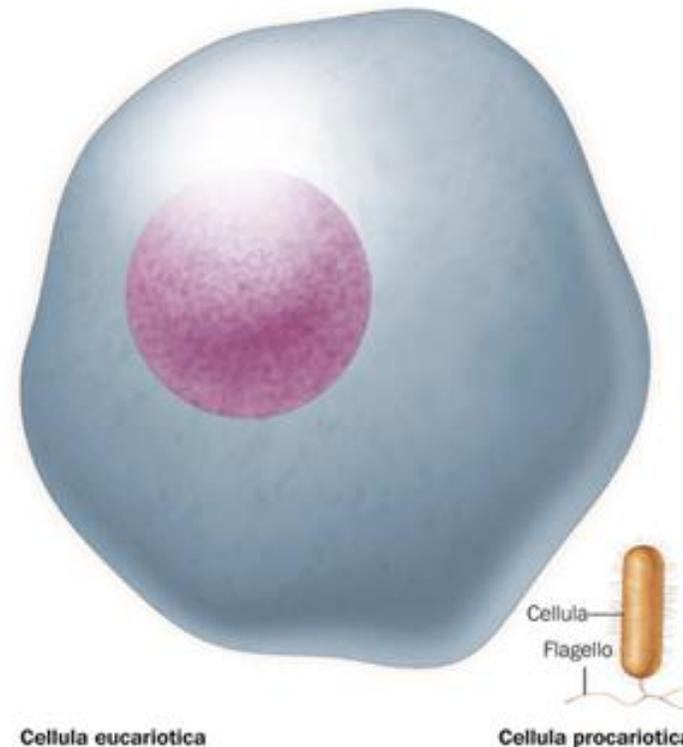
- La cellula è l'unità di base dei viventi;
- Tutti gli organismi viventi sono costituiti da cellule (essi possono essere *unicellulari* o *pluricellulari*);
- Nuove cellule possono derivare soltanto da cellule preesistenti.

CELLULE PROCARIOTICHE - EUCARIOTICHE

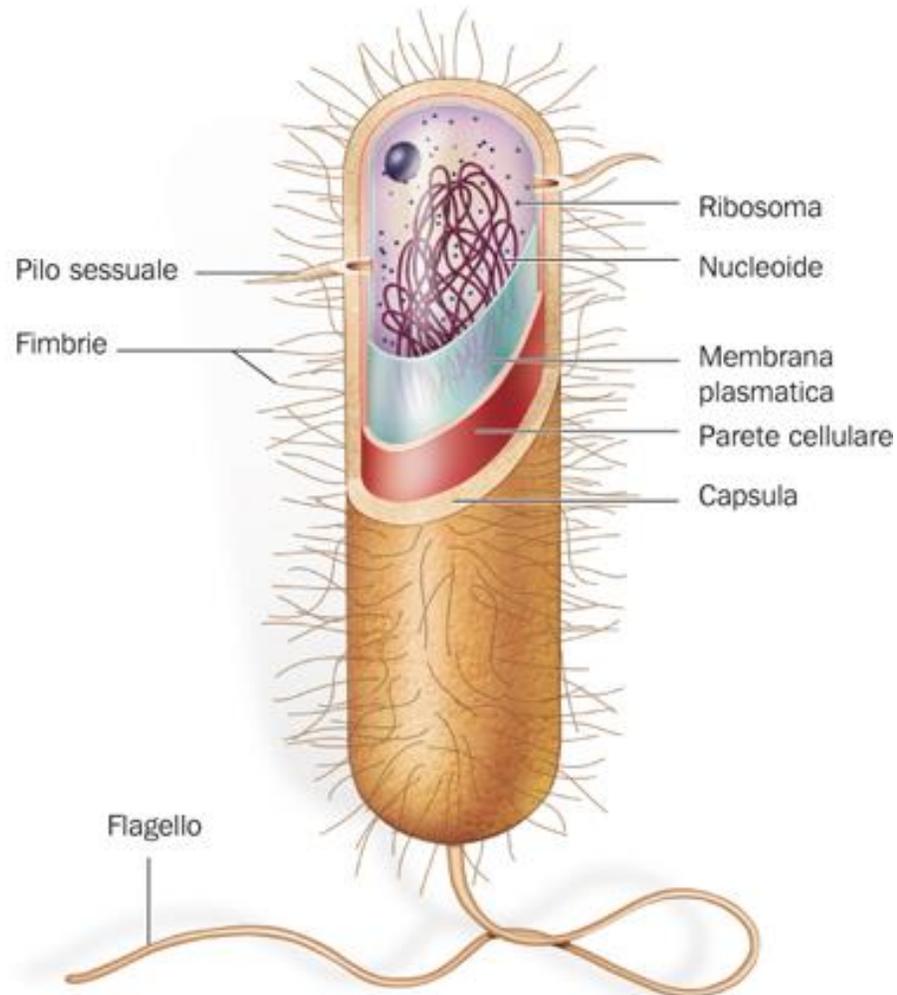
Le cellule procariotiche ed eucariotiche
Possiedono due strutture comuni:

- La **membrana plasmatica**;
- Il **citoplasma**.
- Posseggono inoltre **materiale genetico**

Le cellule procariotiche sono molto
più piccole di quelle eucariotiche e hanno una struttura di base *più semplice*.



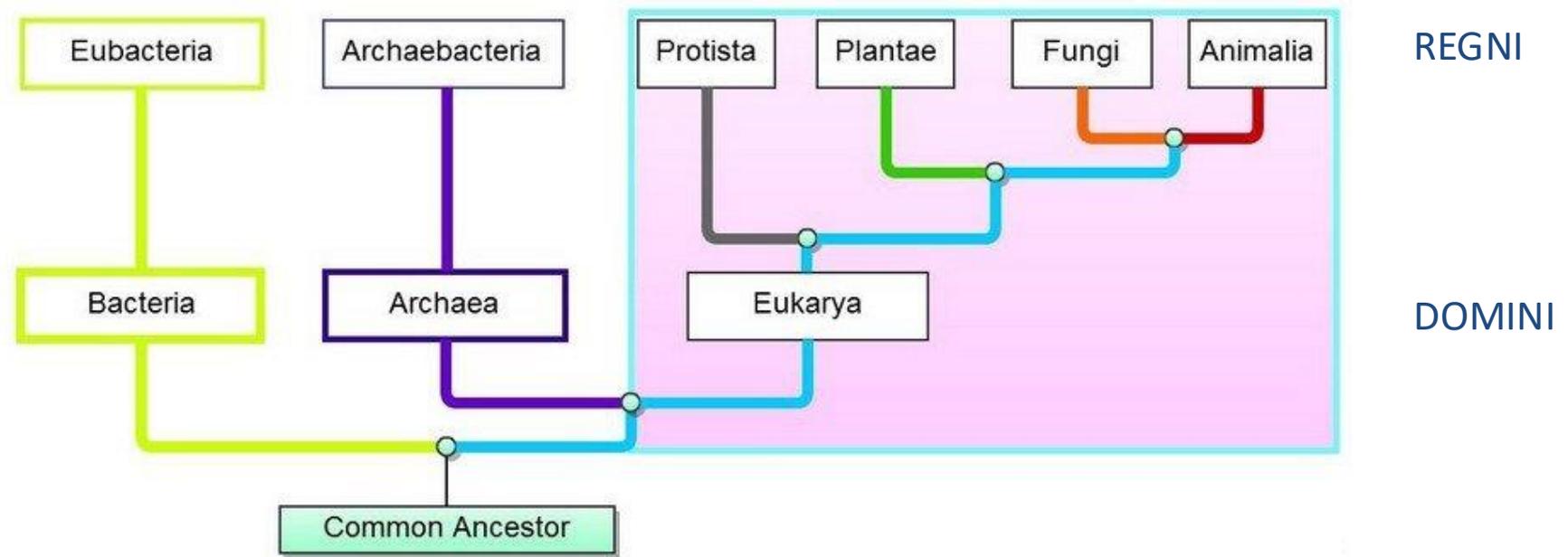
LE CELLULE PROCARIOTICHE SONO COMPARSE PRIMA



Le cellule procariotiche (da *pro*, prima e *karyon*, nucleo) sono **prive di un nucleo** racchiuso da una membrana.

Gli organismi unicellulari costituiti da cellule procariotiche, i **procarioti**, sono classificati in due domini:

- **Archaea** (archei);
- **Bacteria** (batteri).



(LUCA) *last universal common ancestor*

CELLULA PROCARIOTICA

Sono generalmente più piccole delle cellule eucariotiche.

Manca di un vero e proprio nucleo.

Non esistono veri e propri cromosomi: il nucleoide è la principale struttura in cui è localizzata l'informazione genetica delle cellule procariotiche ed è rappresentata da un singolo cromosoma, che non è circondato da membrana nucleare, come avviene negli organismi eucarioti.

Mancano i mitocondri, i cloroplasti ed un sistema vacuolare. *Sono presenti ribosomi e granuli di varia natura, costituiti da sostanze di riserva.*

Queste cellule sono le prime che si sono evolute e da esse si sono originati i diversi tipi di cellule eucariotiche.

CELLULA EUCARIOTICA

La cellula eucariotica è costituita da due porzioni: il **nucleo** e il **citoplasma**, delimitate dalle loro rispettive membrane.

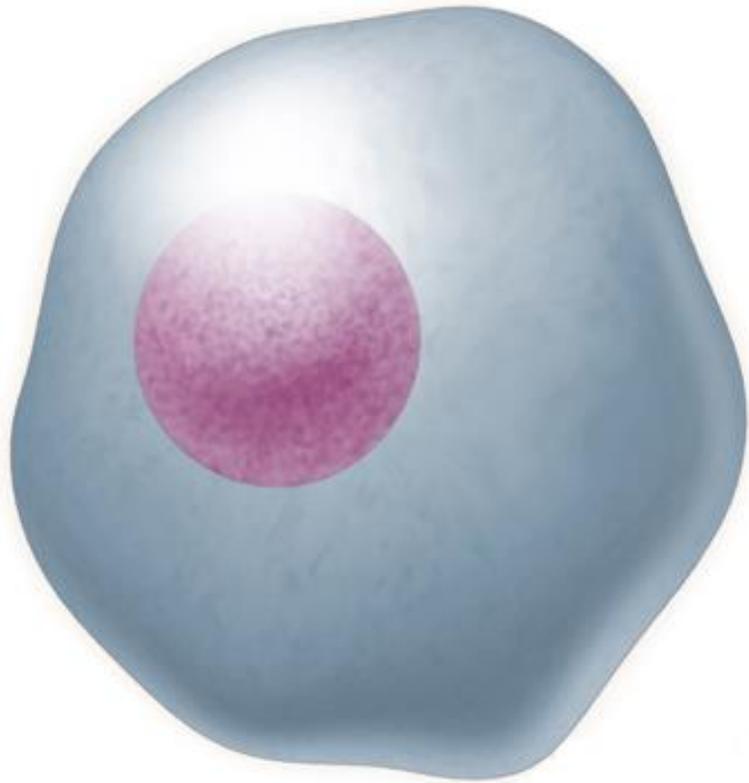
Nel nucleo sono presenti i cromosomi.

Piante, alghe e funghi possiedono inoltre una parete cellulare.

All'interno del citoplasma sono presenti diversi organuli, organelli e sistemi di membrane (ribosomi, mitocondri, l'apparato di Golgi e il reticolo endoplasmatico).

Nelle cellule vegetali sono inoltre presenti i plastidi, fra cui i cloroplasti, ed il vacuolo.

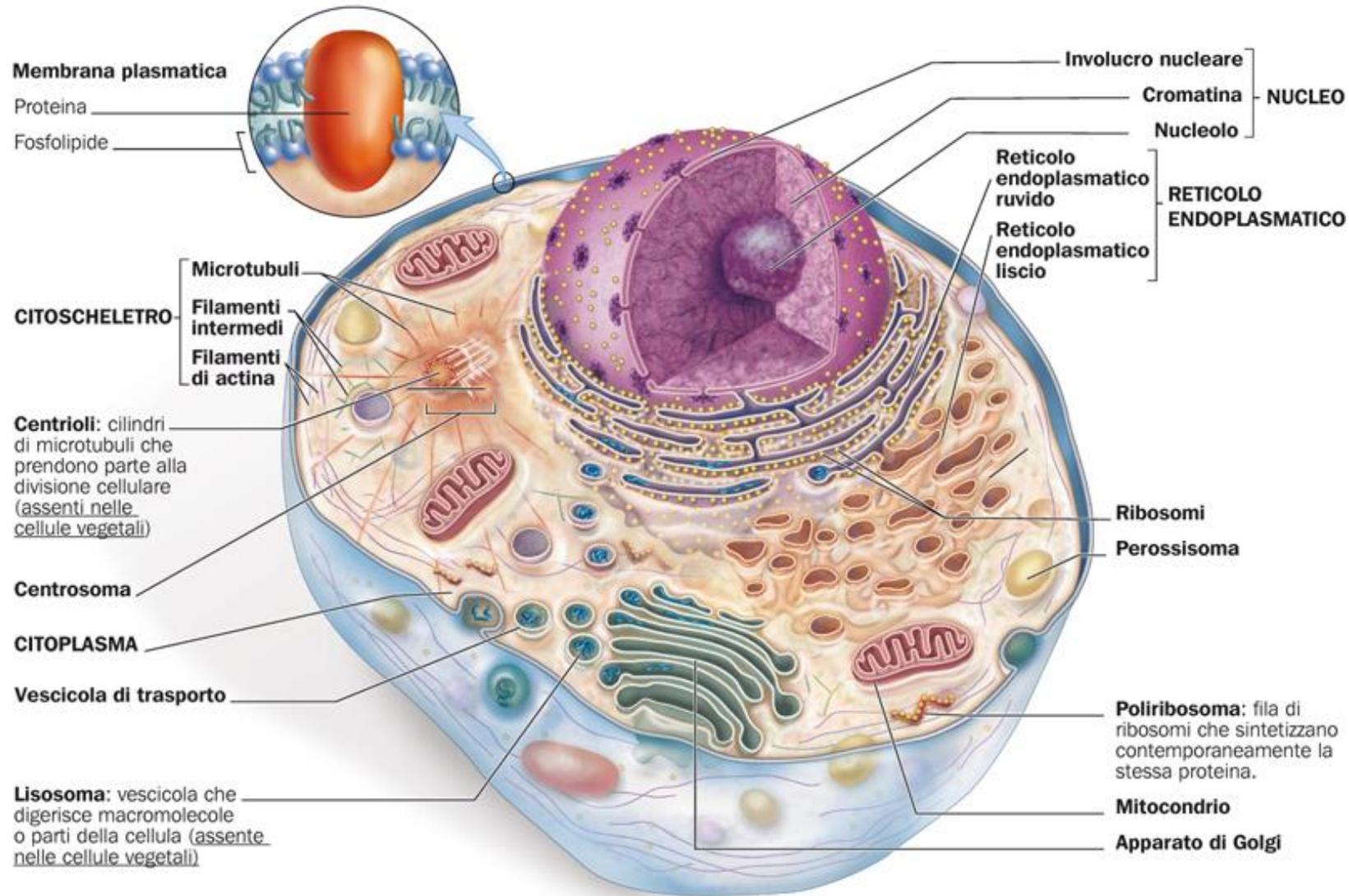
LE CELLULE EUCARIOTICHE CONTENGONO ORGANELLI SPECIALIZZATI



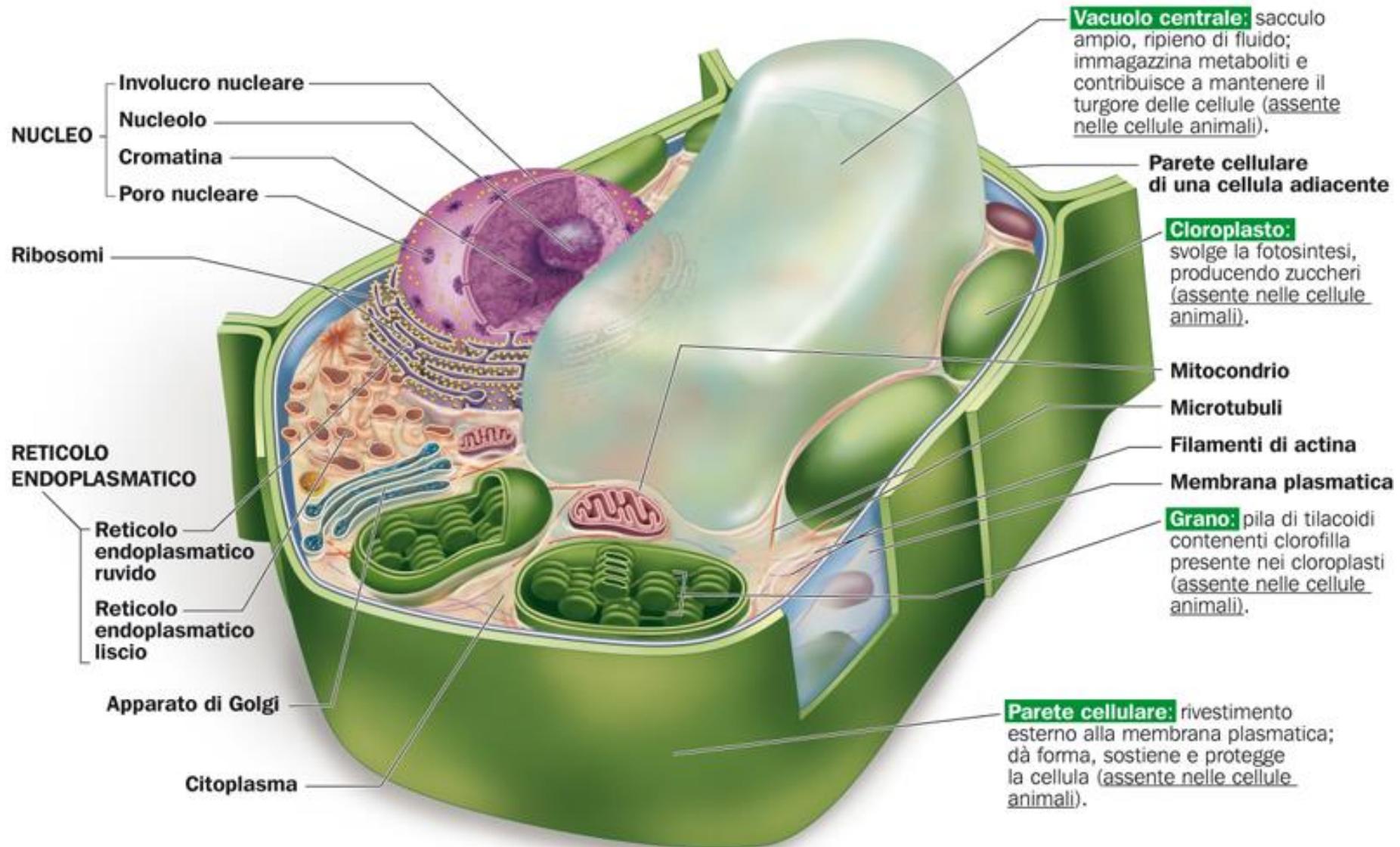
Le cellule eucariotiche (da *eu*, buono, e *karyon*, nucleo) hanno un **nucleo delimitato da una membrana** ben distinta, che racchiude il DNA.

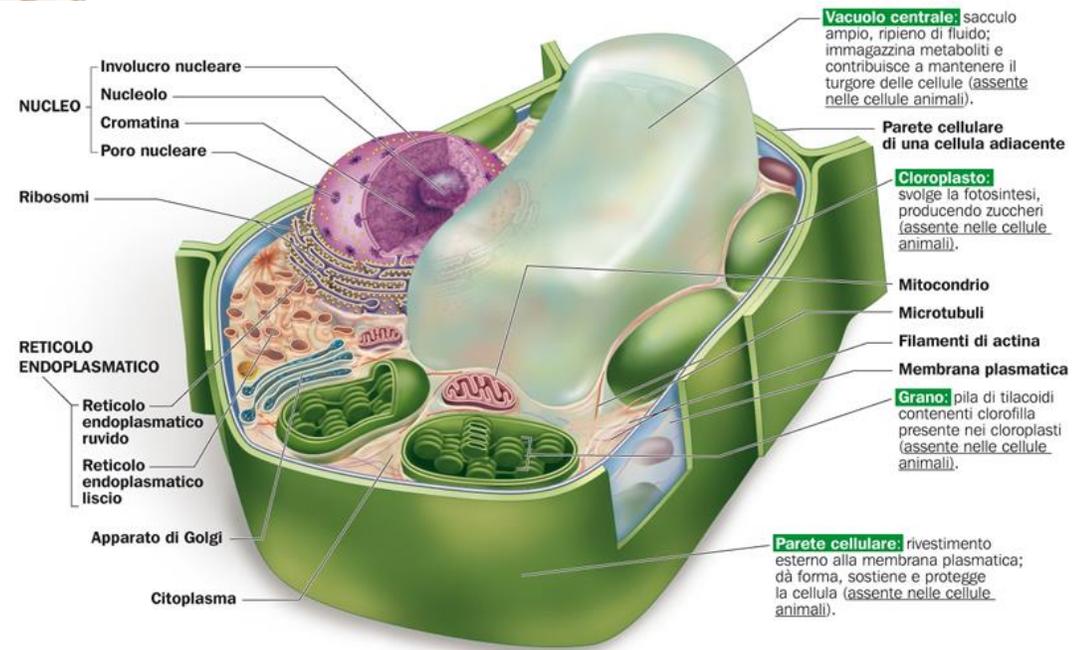
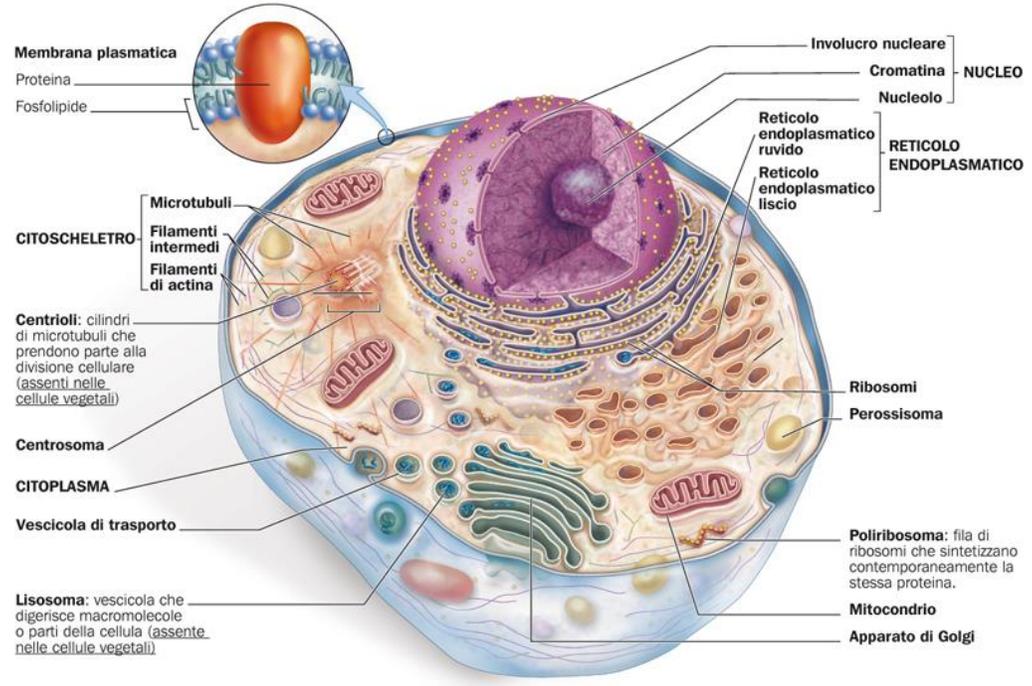
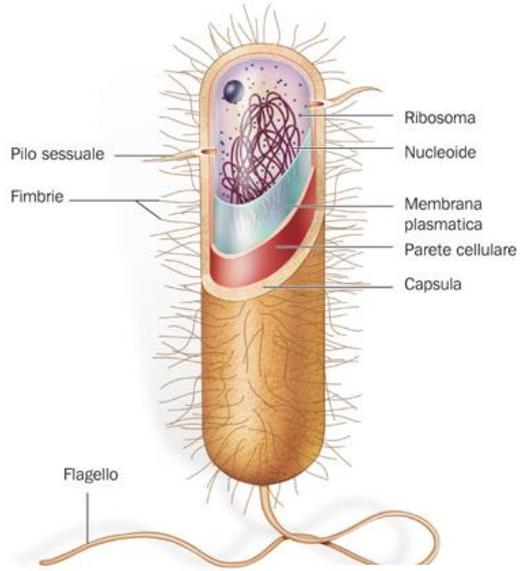
Gli organismi eucariotici, ossia **protisti, funghi, piante e animali**, fanno tutti parte del dominio degli *Eukarya* (**eucarioti**).

LA STRUTTURA DELLA CELLULA ANIMALE



LA STRUTTURA DELLA CELLULA VEGETALE





I MICROCORPI

Corpuscoli sferici (0.2-1.7 μ m) circondati da singola membrana, privi di DNA e ribosomi, ma ricchi di proteine enzimatiche.

All'interno dei microcorpi avvengono specifiche reazioni che non potrebbero avvenire nel citoplasma (compartimentazione): degradazione H₂O₂, β ossidazione acidi grassi, catabolismo aminoacidi ramificati.

In alcuni microcorpi delle cellule vegetali sono stati localizzati fino a 50 enzimi diversi.

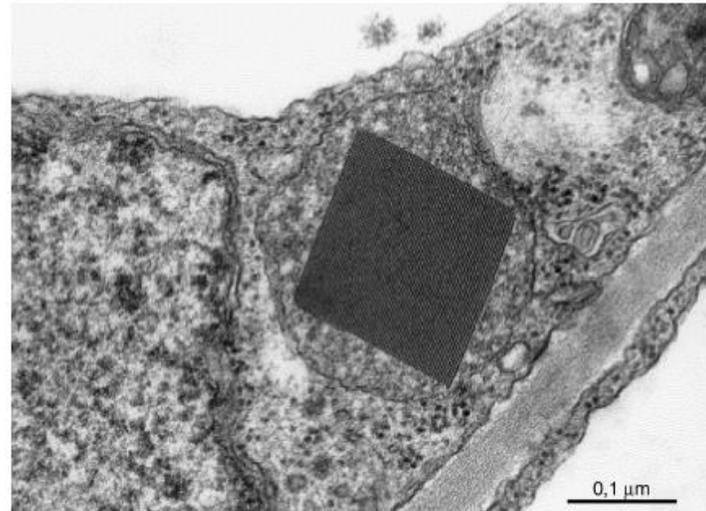


Figura 1.8
Ultrastruttura di un perossisoma (da A.U. Igamberdiev, P.J. Lea, 2002).

I MICROCORPI

La matrice dei microcorpi puo' contenere inclusioni cristalline o fibrillari, o regioni dense ed amorfe dette **nucleoidi**.

Per amorfo si intende un particolare stato di aggregazione della materia. Lo stato di una sostanza solida che non ha struttura cristallina

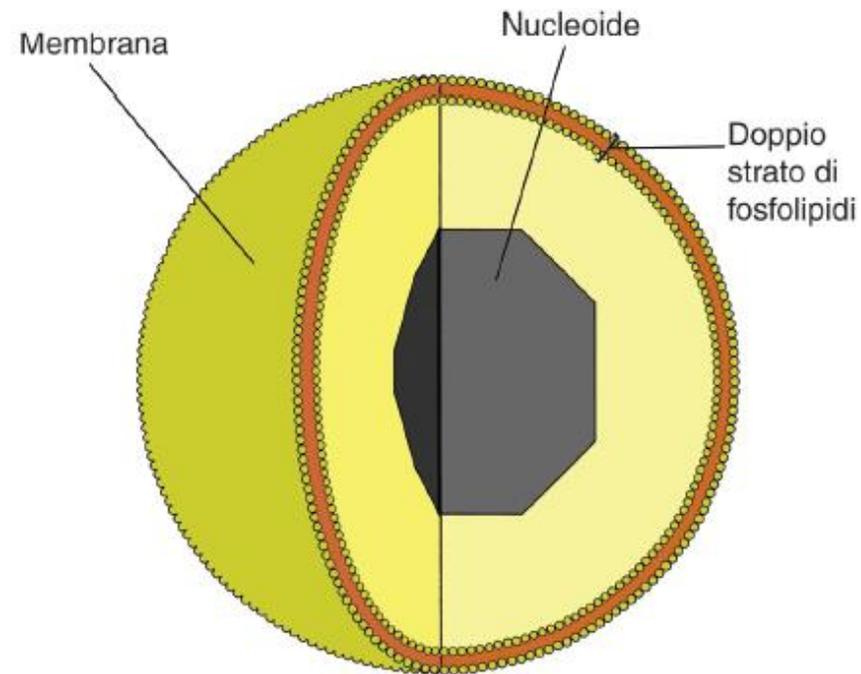


Figura 1.9
Struttura di perossisoma con nucleoide (disegno di R. Braglia).

I MICROCORPI

Nelle piante sono stati identificati diversi tipi di microcorpi:

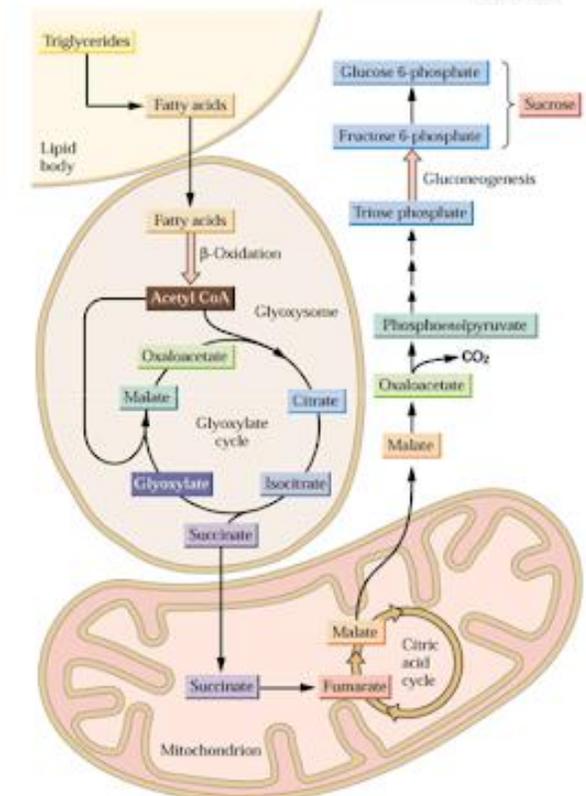
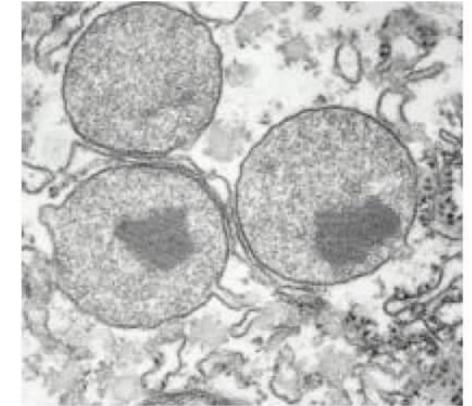
I perossisomi fogliari: coinvolti nella fotorespirazione processo respiratorio attuato per l'eliminazione dell' O_2 in eccesso. Sono spesso localizzati fra cloroplasti e mitocondri

I gliossisomi: nei cotiledoni ed endosperma di semi oleosi. in particolare nei tessuti di riserva dei grassi e nei semi in fase di germinazione.

Il gliossisoma è specializzato nel produrre carboidrati a partire da substrati lipidici, questo processo avviene attraverso un ciclo metabolico denominato ciclo del gliossilato, possibile solo per le piante, si trasforma in perossisoma successivamente durante l'inverdimento dei cotiledoni.

I perossisomi propriamente detti: nelle piante si trovano nelle cellule fotosintetizzanti. Contengono numerosi enzimi fra cui la catalasi in grado di degradare il perossido di ossigeno (H_2O_2), composto potenzialmente dannoso.

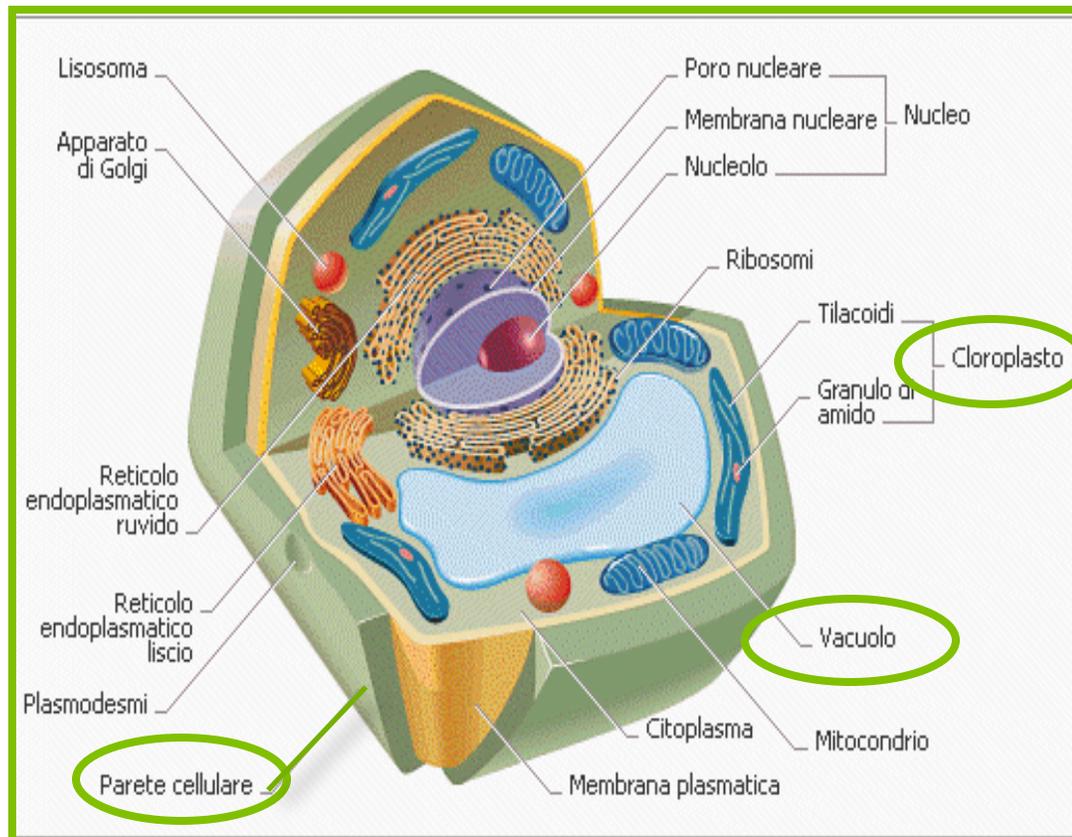
I perossisomi non specializzati: Più piccoli e con funzione incerta



LA PARETE CELLULARE

La **parete cellulare** è esterna alla membrana plasmatica:

- è sufficientemente rigida da determinare la forma e da sostenere la cellula;
- è sufficientemente plastica da consentirne la crescita.



La rigidità limita le dimensioni del protoplasto impedendo che subisca rotture quando il vacuolo aumenta di volume per assorbimento d'acqua e determina la forma delle cellule e quindi la struttura definitiva degli organi della pianta.

Protoplasti sono cellule vegetali alle quali si è artificialmente rimossa la parete.

Trattando una cellula con enzimi che digeriscono la parete cellulare, essa assume una forma sferica (protoplasti).

Rigidità e plasticità sono conferite dai componenti della parete cellulare.

La maggior parte delle cellule presenta solo una **parete primaria**;

in alcuni tessuti, come quelli di conduzione e di sostegno (**tessuti conduttori e meccanici**), le cellule presentano anche una **parete secondaria** particolarmente inspessita.

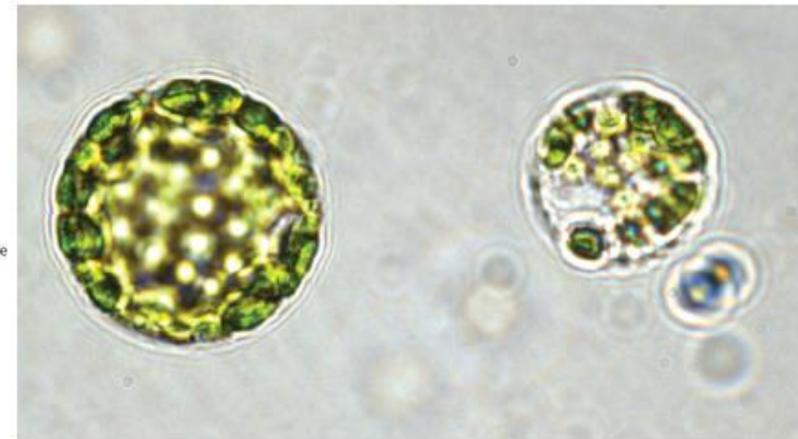
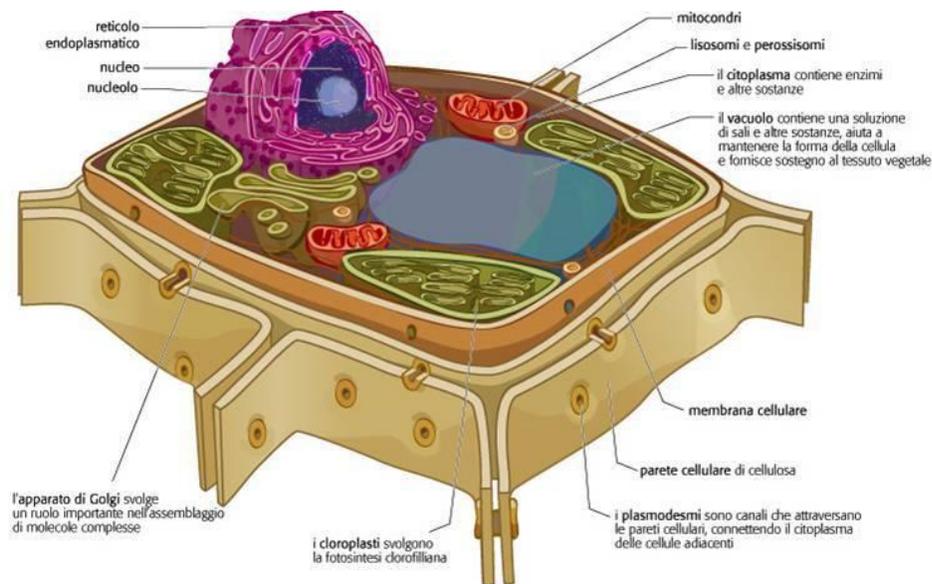


Figura 2.1

Micrografia al microscopio ottico di protoplasti di cellule di foglia di pomodoro, ottenuti *in vitro* rimuovendo la parete cellulare con enzimi litici. L'assenza di parete fa assumere alle cellule una forma sferica (osservazione di M. Silvestrin e L. Trainotti).

COMPOSIZIONE DELLA PARETE CELLULARE

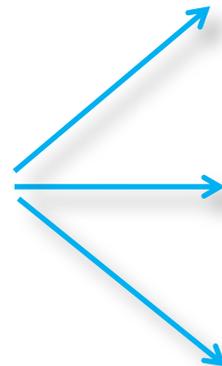
La parete presenta due componenti:

1.Componente fibrillare



Cellulosa (polisaccaride, polimero del glucosio); le molecole di glucosio sono disposte a formare catene lineari che si uniscono a formare microfibrille.

2.Componente matriciale



Acqua

Polisaccaridi

emicellulose (sia lineari che ramificate)

pectine

Proteine strutturali, presenti in piccole quantità

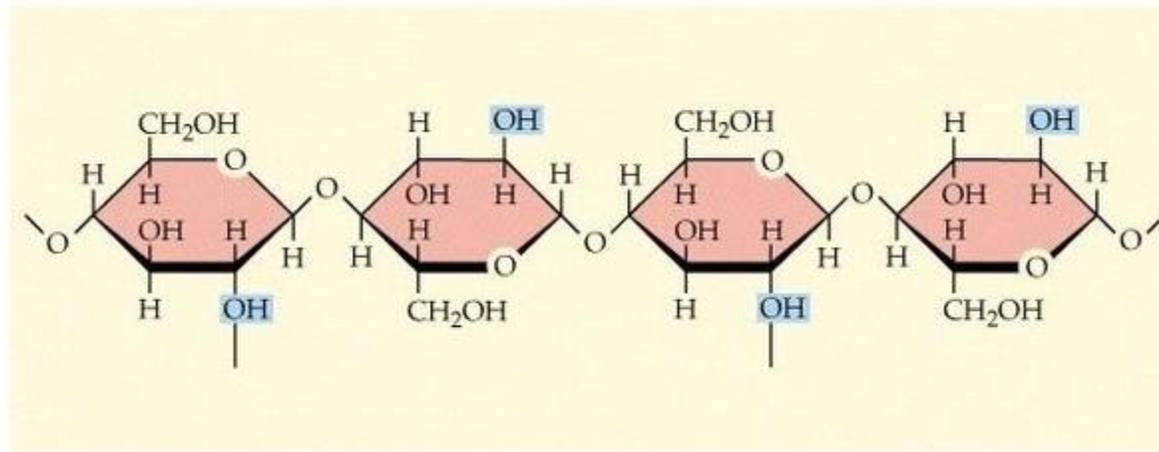
COMPONENTE FIBRILLARE

LA CELLULOSA

Il principale componente fibrillare della parete è la cellulosa:

La cellulosa è un omopolisaccaride lineare, composto esclusivamente da unità di D-glucosio tenuti insieme da legami ($\beta 1 \rightarrow 4$).

Una singola catena di cellulosa può contenere da alcune migliaia fino a 15.000 residui di glucosio.



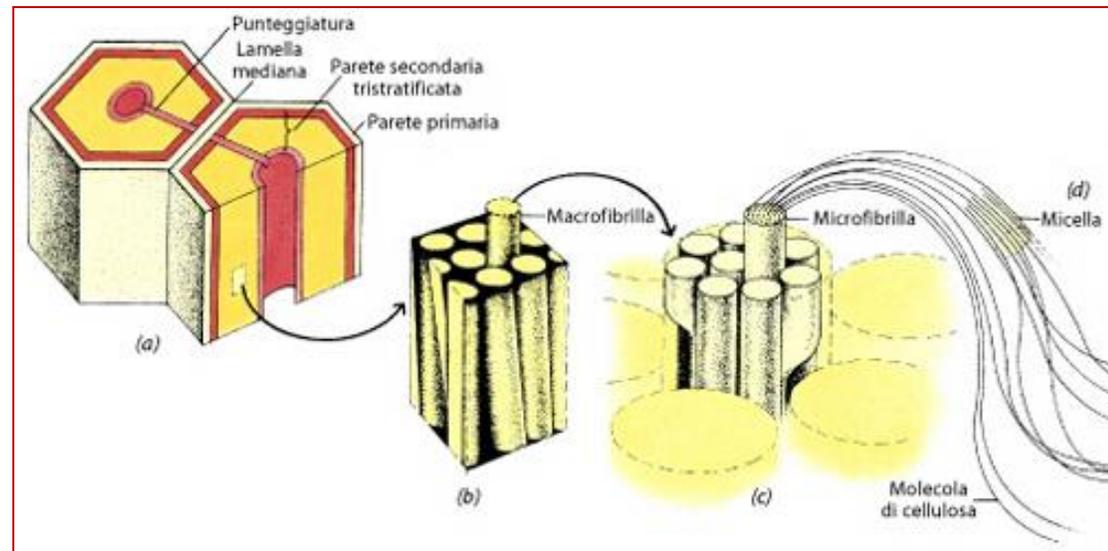
COMPONENTE FIBRILLARE

LA CELLULOSA

6 molecole di cellulosa si dispongono parallelamente a formare una **micella**,

6 micelle si associano a formare una **microfibrilla**, del diametro di circa 10-25 nm, composta da 36 molecole di cellulosa.

Le microfibrille si uniscono tra loro per formare **macrofibrille**, sottili filamenti del diametro di 0,5 μm . Ogni macrofibrilla ha una resistenza maggiore di un filamento d'acciaio di ugual diametro.



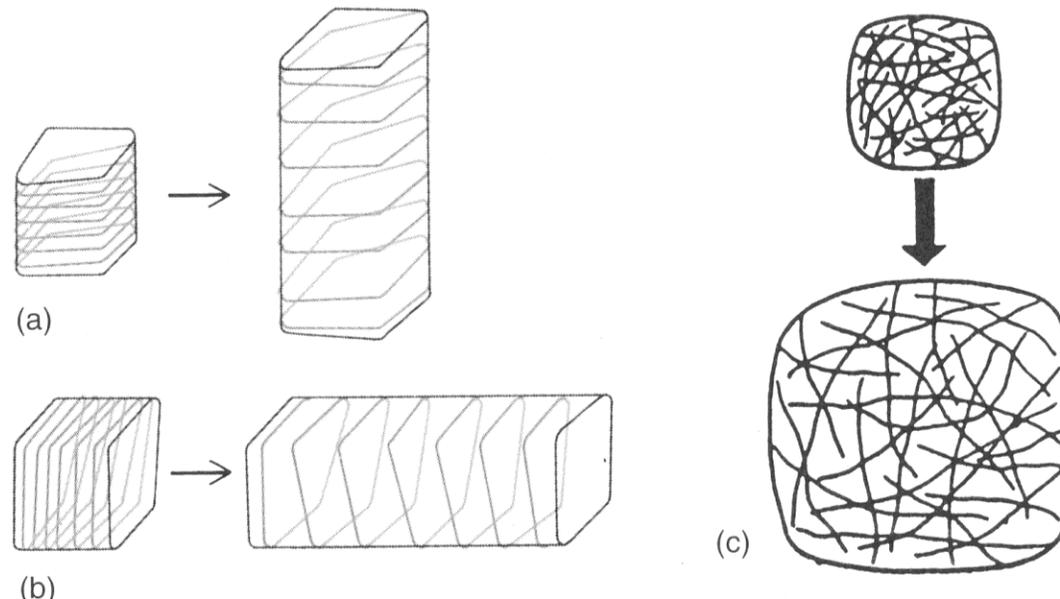
COMPONENTE FIBRILLARE

LA CELLULOSA

Una volta che si è formata, una nuova cellula cresce per **distensione**.

L'entrata di acqua genera una pressione (pressione di turgore) che viene bilanciata dalla parete. Ma perché la cellula possa crescere, è necessario che la parete si “rilassi”, ovvero che i polimeri che la compongono possano scivolare tra loro in modo controllato.

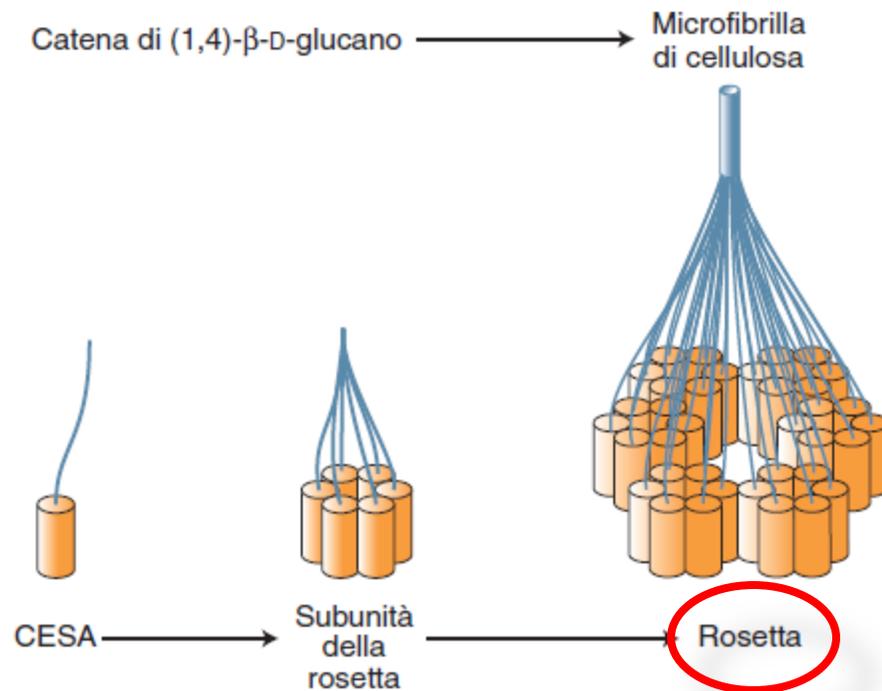
La disposizione delle microfibrille di cellulosa (soprattutto dello strato più interno deposto più recentemente) influenza la direzione della distensione e la forma della cellula.



LA SINTESI DELLA CELLULOSA

Avviene direttamente sul posto, a livello della membrana plasmatica, ad opera di una struttura chiamata 'complesso della rosetta'.

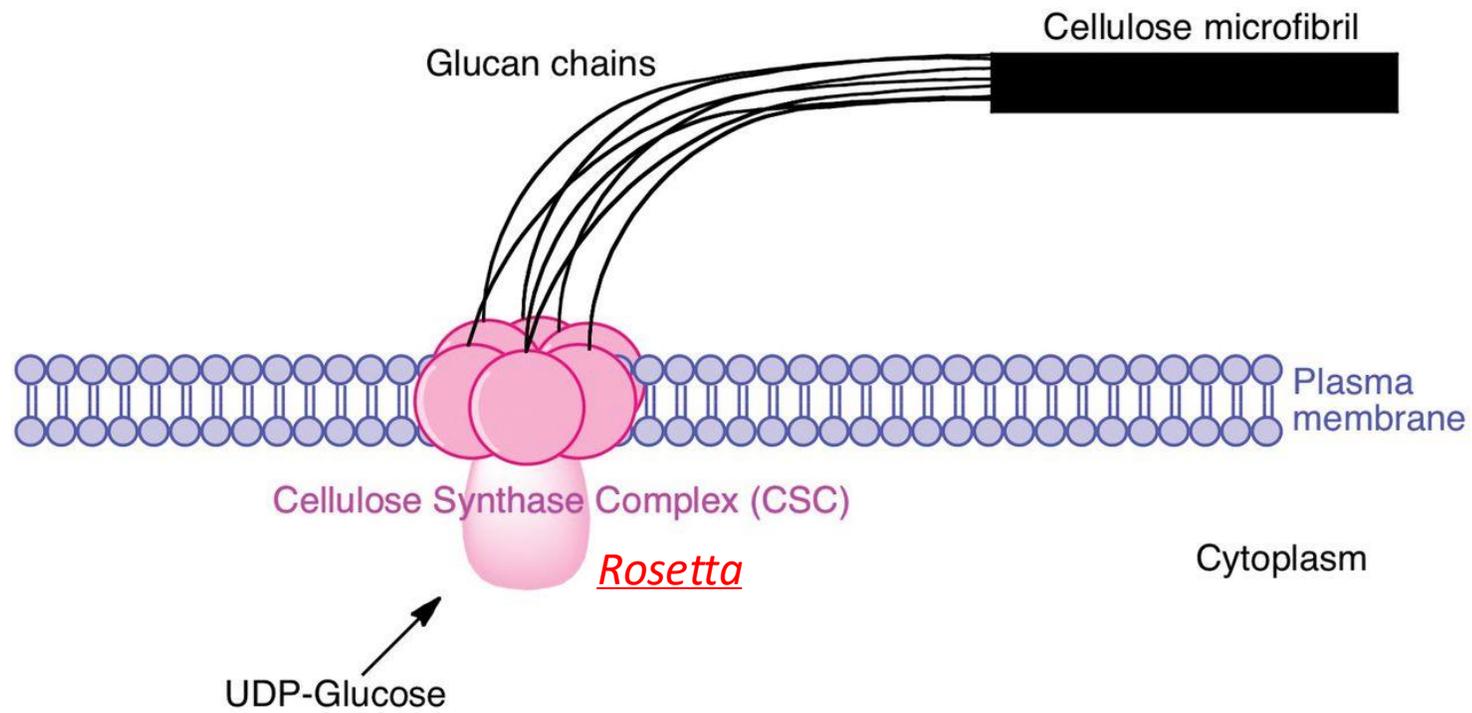
La rosetta è un complesso di enzimi: è formato da 6 sub-unità, ciascuna subunità è composta da 6 molecole polipeptidiche di cellulosa sintasi (CESA); ogni CESA genera una molecola di cellulosa, ogni subunità della rosetta genera 6 molecole e ogni rosetta una microfibrilla composta da 36 catene di cellulosa.

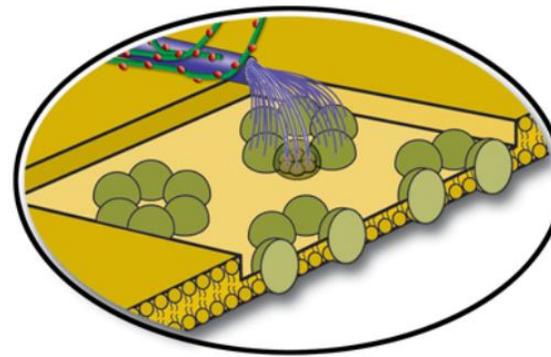
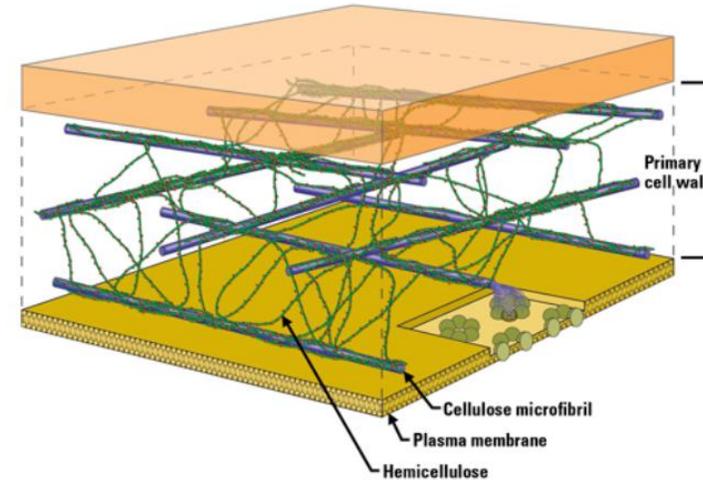
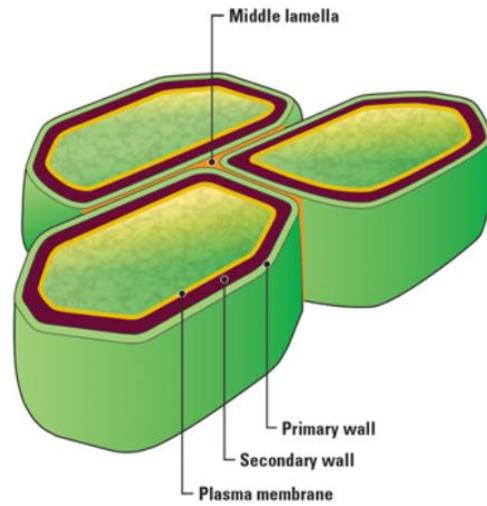


La rosetta è un complesso di enzimi formato da 6 subunità

Ogni subunità della rosetta è formata da 6 CESA (molecole polipeptidiche)

Ciascuna CESA genera una molecola di cellulosa



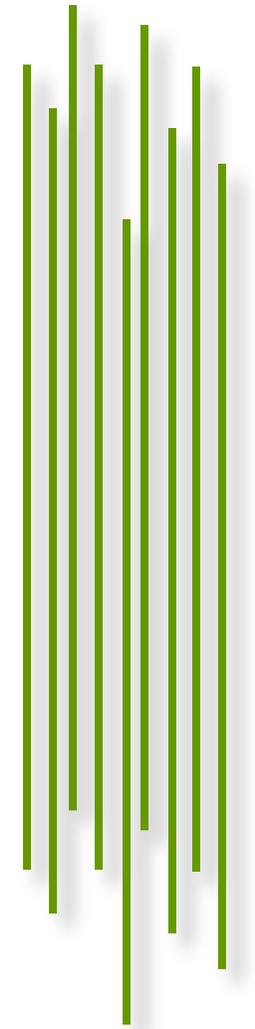


Cellulose synthase complexes

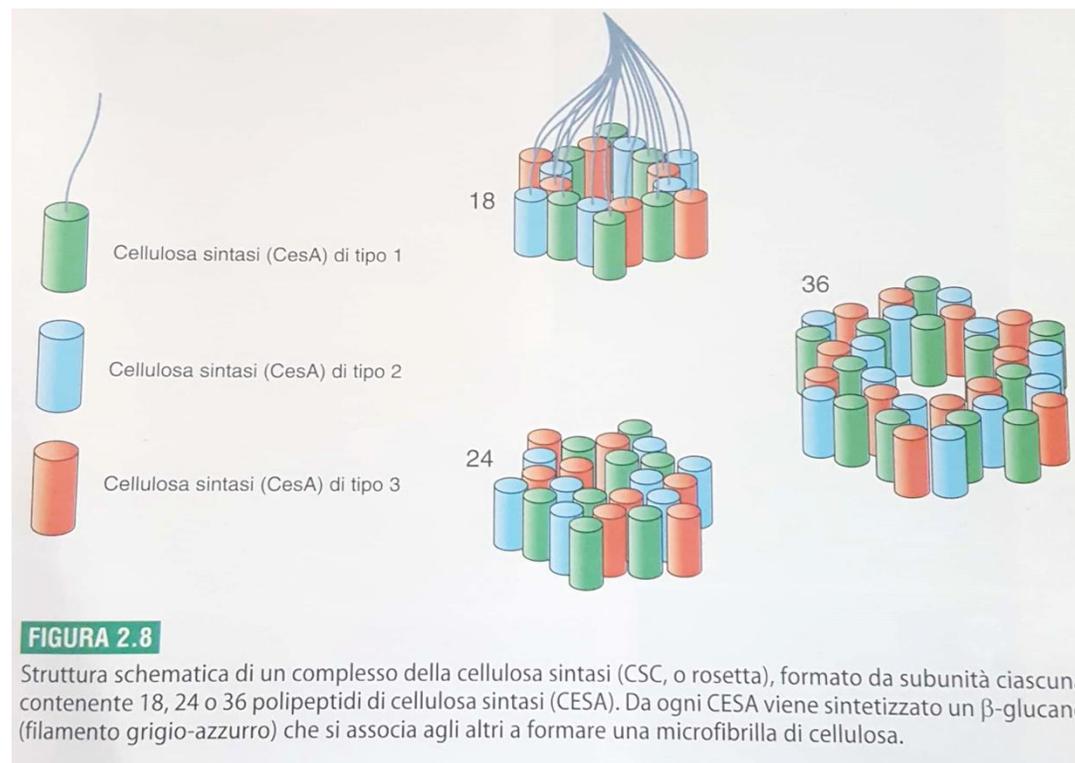
COMPLESSO A ROSETTA
 Ogniuno composto da
 6 gruppi di 6 enzimi:
 Cellulosa sintasi

La lunghezza di ogni catena è variabile, pertanto le singole catene iniziano e finiscono in punti diversi, come avviene con le fibre che costituiscono i filati.

In generale una catena contiene qualche migliaio di residui glucosidici che corrispondono mediamente ad una lunghezza di 2-3 μm



MODELLO PIÙ RECENTE



In realtà recenti scoperte hanno messo in evidenza l'esistenza di tre tipologie di CESA che si possono associare a formare complessi (rosette) non esclusivamente formate da 36 sub-unità ma nelle piante superiori più frequentemente da 18-24 sub-unità.

Di conseguenza anche le microfibrille risultanti non saranno sempre formate da 36 catene ma 18-24 a seconda delle sub-unità presenti nei complessi che le hanno formate.

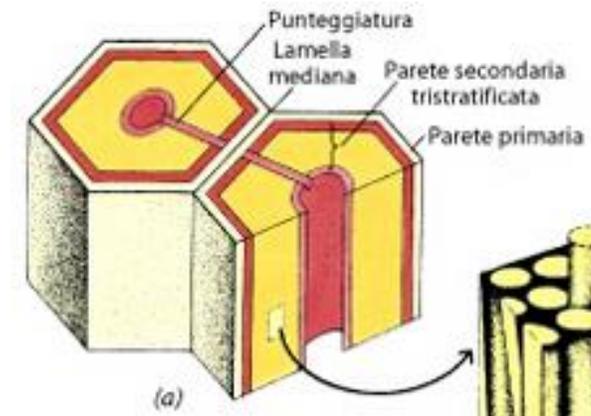
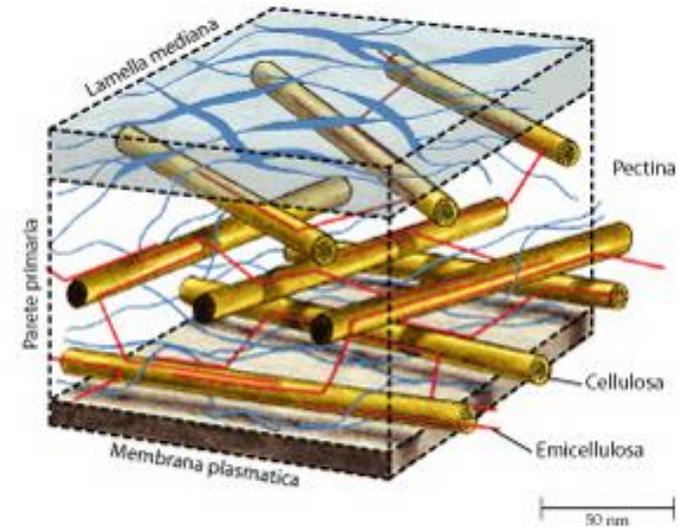
La parete cellulare è strutturata in:

- lamella mediana
- parete primaria
- parete secondaria

Le pareti delle cellule vegetali variano molto in spessore, a seconda del ruolo che le cellule svolgono e dell'età delle cellule.

Nelle pareti di tutte le cellule vegetali vi sono due strati: la lamella mediana e la parete primaria. La lamella mediana si trova tra le pareti primarie di cellule adiacenti.

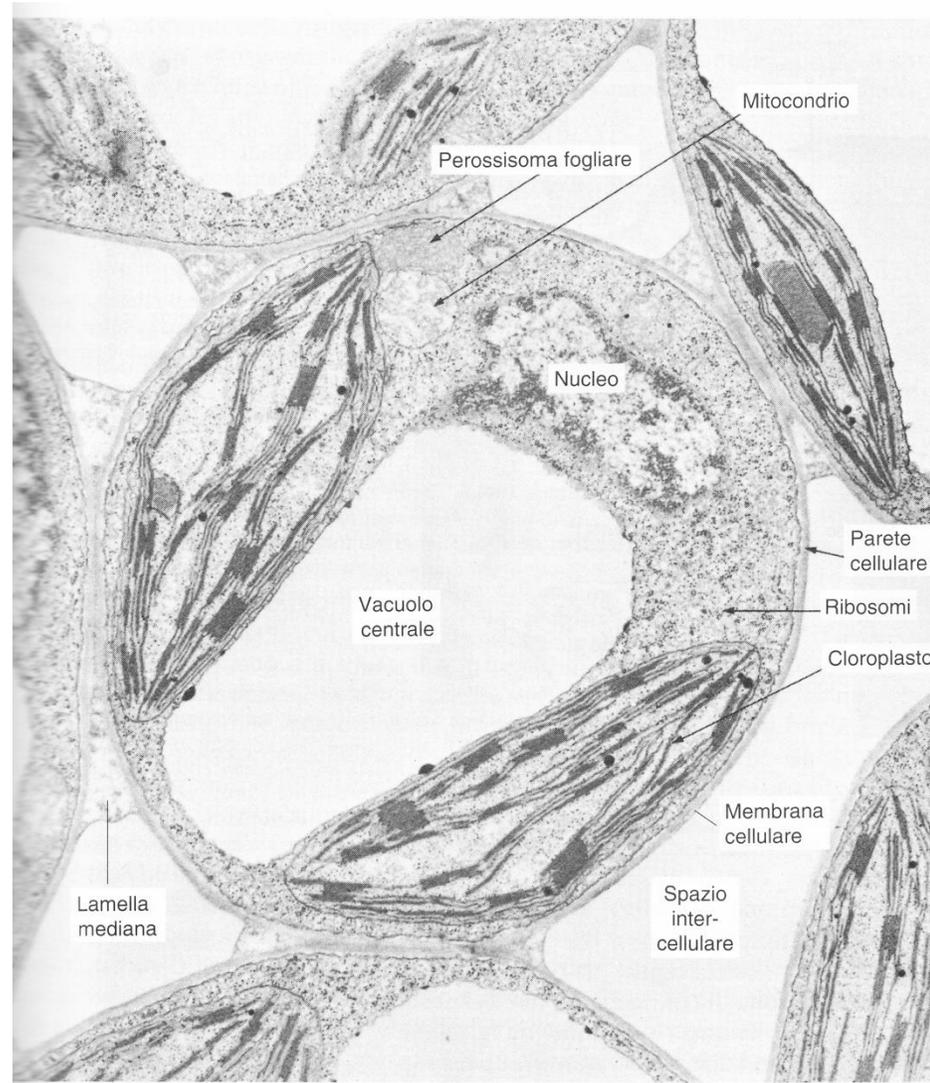
Molte cellule, ma non tutte, presentano poi la parete secondaria, depositata dal protoplasto della cellula sulla superficie interna della parete primaria.



LA LAMELLA MEDIANA

La lamella mediana costituisce il collante che tiene unite le cellule.

In alcuni punti questo 'collante' è interrotto, e tra le cellule vi sono degli spazi liberi ('spazi aeriformi') in grado di garantire un flusso di gas tra le cellule.



LA COMPONENTE MATRICIALE DELLA PARETE

Le microfibrille di cellulosa sono immerse in una matrice ricca di:

Acqua;

Polisaccaridi: tra i polisaccaridi, numerose sono le emicellulose e le pectine.

Le emicellulose hanno la capacità di formare molti legami idrogeno e pertanto connettono le fibrille di cellulosa contribuendo a formare una estesa rete.

Le pectine, formate principalmente da acido galatturonico, ed altri zuccheri, contribuiscono a conferire rigidità alla parete;

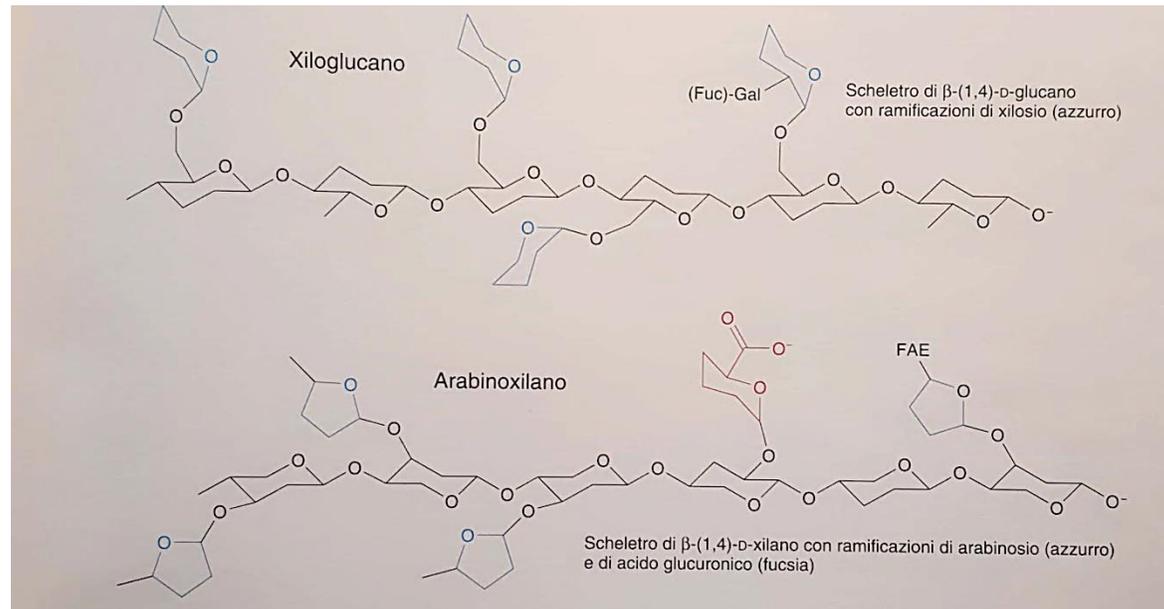
Proteine strutturali: il numero e tipo varia da specie a specie, sono in buona parte glicosilate. Gli aminoacidi delle proteine legano lateralmente dei glucidi, favorendo la formazione di legami e il conseguente ruolo strutturale.

EMICELLULOSE

Eteropolisaccaride ramificato

È un polisaccaride di composizione irregolare. In contrapposizione alla cellulosa, la cui molecola lineare è formata da unità di solo glucosio, le emicellulose sono invece costituite da zuccheri differenti, inoltre hanno una struttura ramificata e non fibrosa. La caratteristica principale delle emicellulose è la facilità a formare legami idrogeno.

Esse ricoprono le singole microfibrille di cellulosa e possono anche connetterle fra di loro per formare delle reti «Glicani che formano legami crociati», incrementando ulteriormente la rigidità della parete.

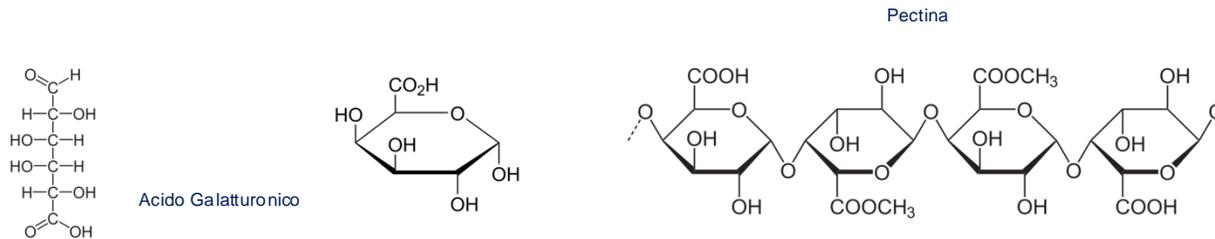


PECTINA

Eteropolisaccaride ramificato

La **pectina** è un eteropolisaccaride, composto dall'unione di monosaccaridi differenti.

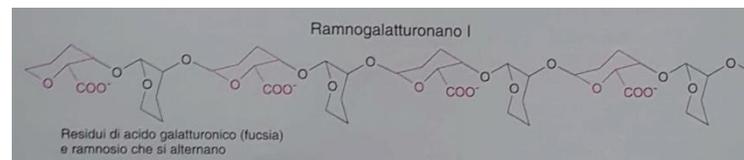
Una delle più diffuse strutture principali si basa su una catena di unità di acido galatturonico unite da legami $\alpha(1-4)$.

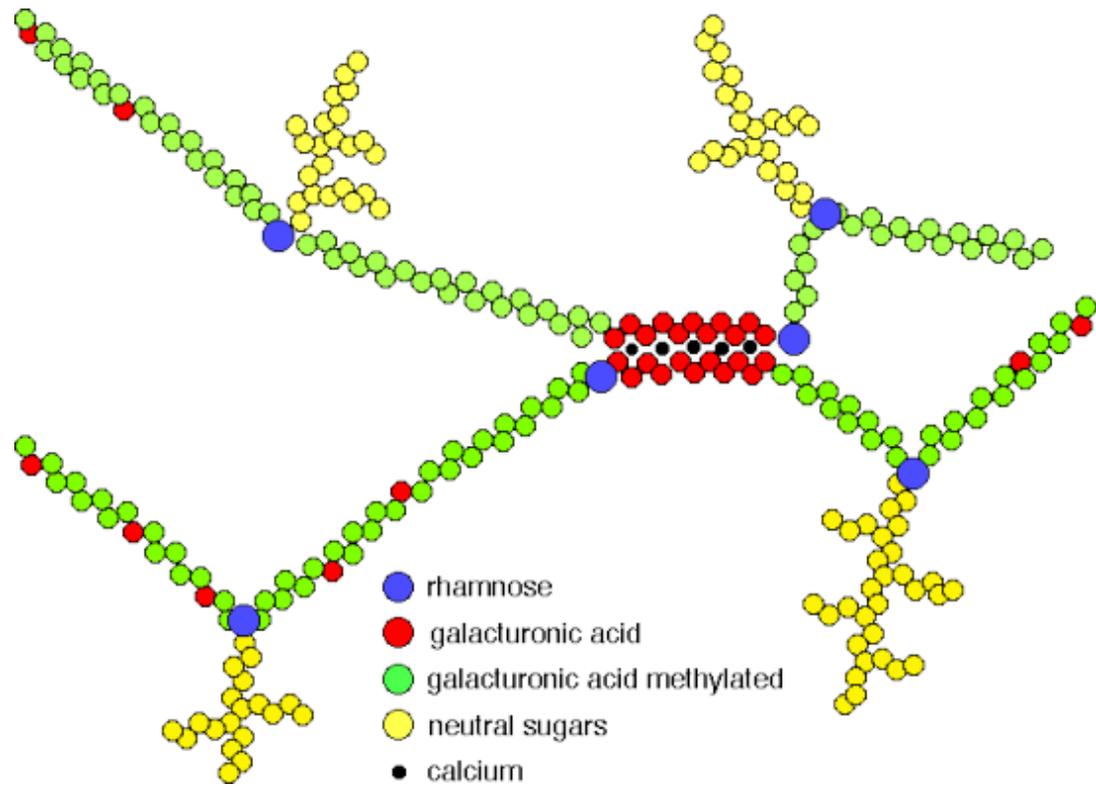


Le pectine formano dei colloidii gelatinosi, abbondanti nella parete cellulare della frutta: essi vengono idrolizzati con la maturazione da alcuni enzimi come la *pectasi* e la *pectinasi* (sono presenti soprattutto nelle mele e nelle pere).

Ogni frutto ha una percentuale di pectina variabile a seconda della specie e della sua età di maturazione. La pectina cementifica lo spazio tra una cellula e l'altra, tenendole unite e dando croccantezza a frutta o verdura. Con il procedere della maturazione questo legame si scinde e il frutto perde consistenza.

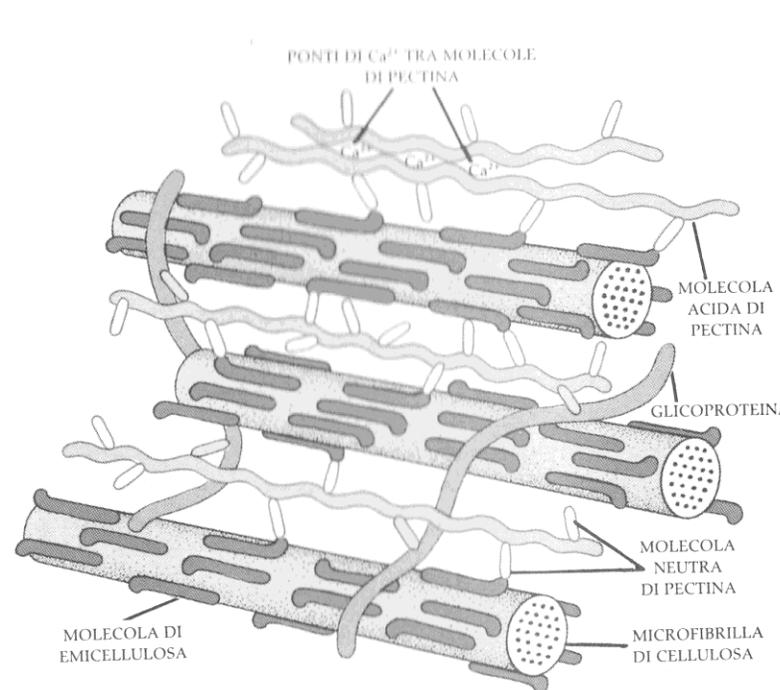
La pectina trova impiego nell'industria alimentare come gelificante soprattutto nella realizzazione di marmellate e confetture.





Durante la sintesi delle microfibrille di cellulosa viene deposta la matrice contenente acqua, sostanze pectiche ed emicellulose, oltre ad alcune sostanze *proteiche* e *lipidiche*.

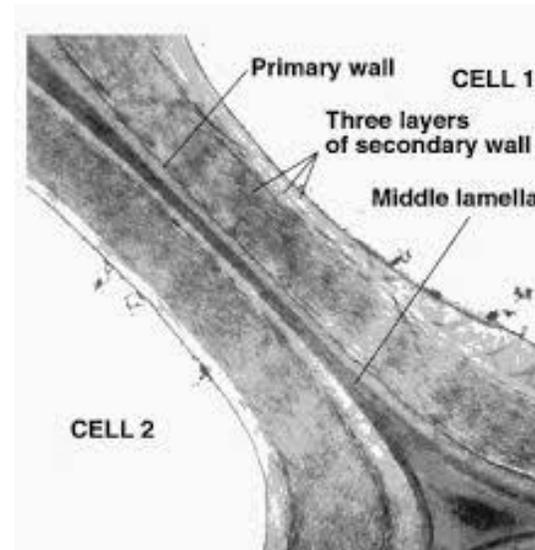
Le **glicoproteine** sono di due tipi: **estensina**, che regola l'estensibilità della parete, e le **lectine**, che regolano il riconoscimento e la compatibilità tra superfici cellulari (es: tra granulo pollinico e carpello).



Le cellule in attiva divisione e la maggior parte delle cellule differenziate, per esempio quelle parenchimatiche, normalmente posseggono **solo pareti primarie**, sono plastiche e contengono un protoplasto vivo.

Le cellule meristematiche e parenchimatiche hanno una parte primaria sottile.

In alcune cellule la parete primaria può essere **più spessa** e costituita da più strati, come nel *collenchima* e nell'*epidermide*, dove contiene anche molecole impermeabilizzanti idrofobiche.

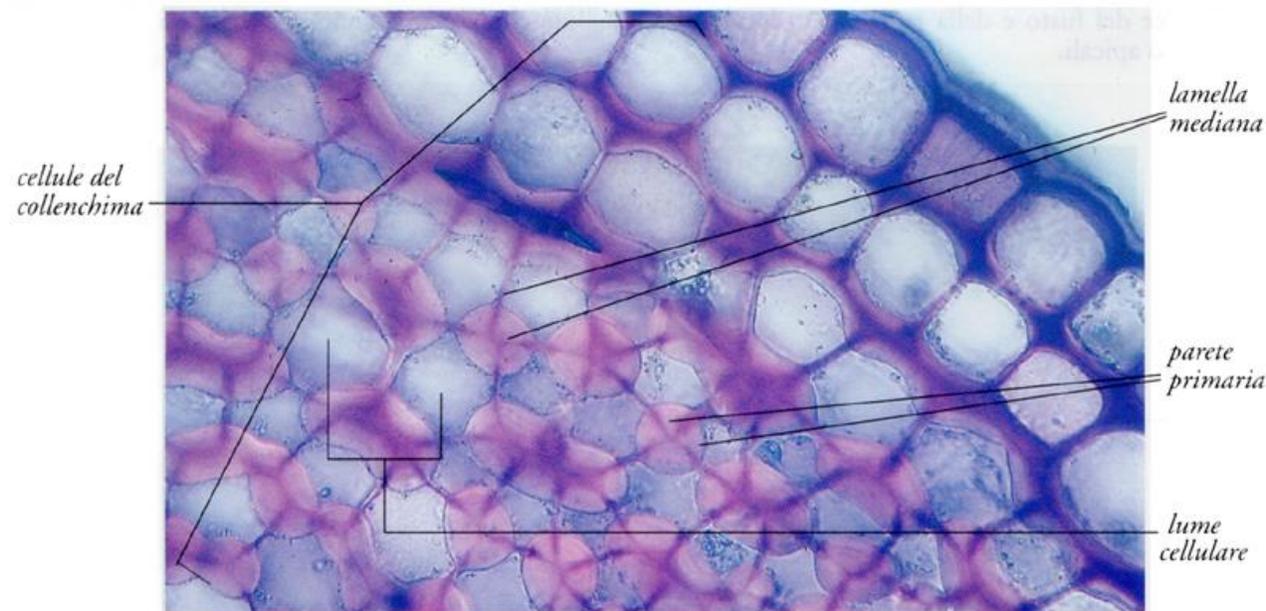


PARETE PRIMARIA NELLE CELLULE DI COLLENCHIMA

Il collenchima è un tessuto meccanico situato al di sotto dell'epidermide e della corteccia, composto da cellule vive, con sola parete primaria inspessita in maniera *non omogenea*.

Sulla base dei punti inspessiti, si distinguono diversi tipi di collenchima: **angolare** (inspessimenti agli angoli), **lamellare** (pareti tangenziali), **anulare** (inspessimenti circolari)

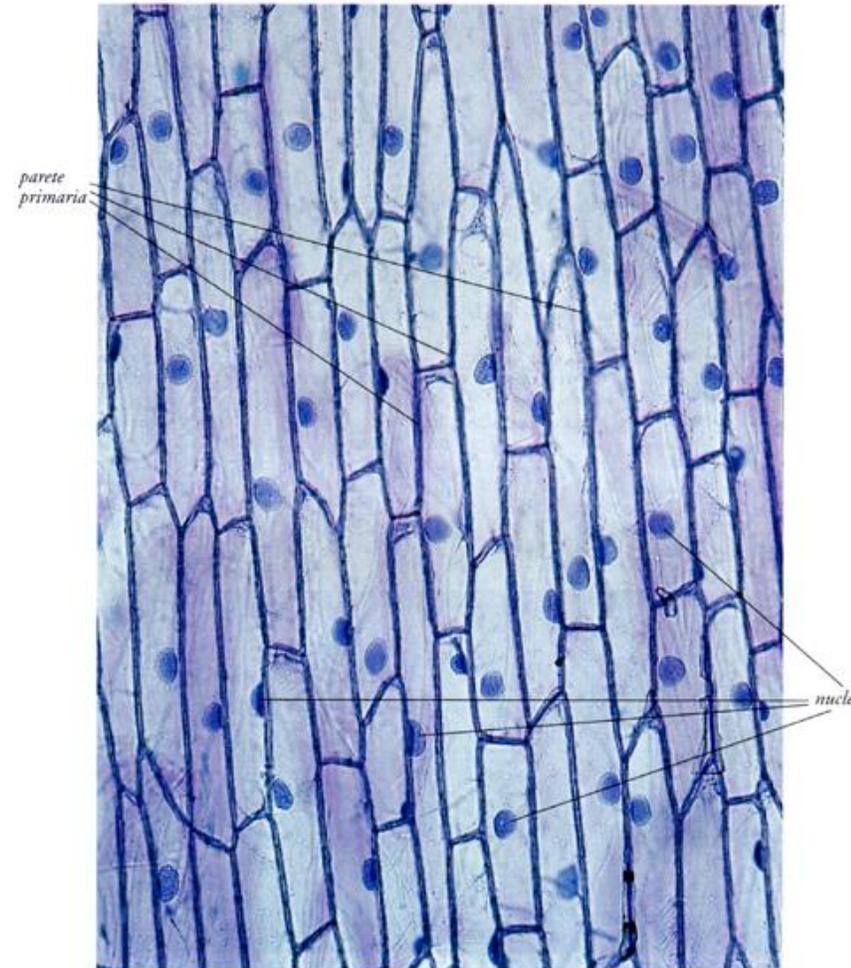
In rosa gli inspessimenti lamellari (in alto) e angolari (in basso) della parte primaria



Lamella mediana nelle cellule del collenchima del picciolo di sambuco *Sambucus nigra* L.

PARETE PRIMARIA NELLE CELLULE EPIDERMICHE

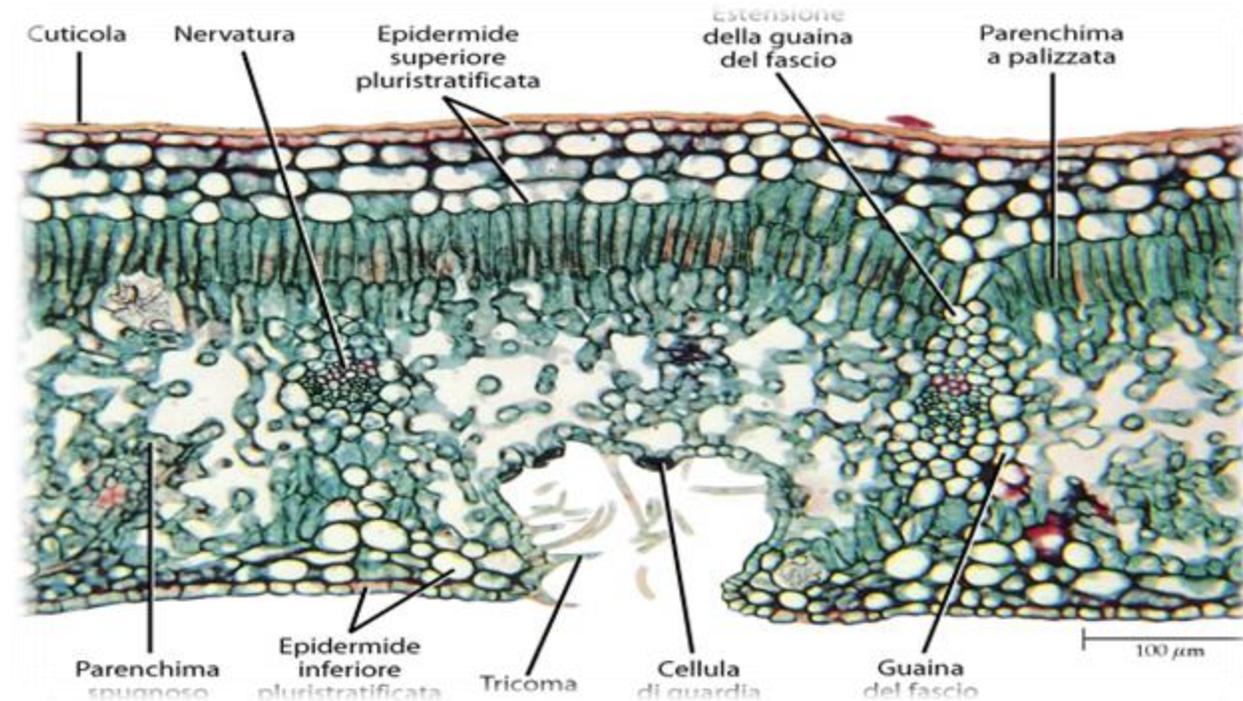
L'epidermide è un tessuto di rivestimento con funzione di protezione; le sue cellule pertanto sono disposte l'una accanto all'altra senza lasciare spazi intercellulari; maggiore è l'apposizione di cellulosa e molecole impermeabilizzanti e maggiore la protezione; in ambienti umidi, dove minore è il rischio di perdita d'acqua per traspirazione, lo spessore è minore.



| Parete primaria nelle cellule epidermiche dei catafilli interni del bulbo di cipolla

La forma allungata delle cellule è correlata alla morfologia dell'organo

Le cellule dell'epidermide presentano spesso pareti impregnate di **cutina**, una sostanza di natura lipidica, altamente idrofoba. Essa conferisce resistenza alle infezioni, ai danni meccanici, alle radiazioni e limita la perdita d'acqua per traspirazione. La cutina, oltre ad impregnare la parete, può ricoprire la superficie dell'epidermide formando uno strato chiamato cuticola, al quale sono spesso associate delle cere.

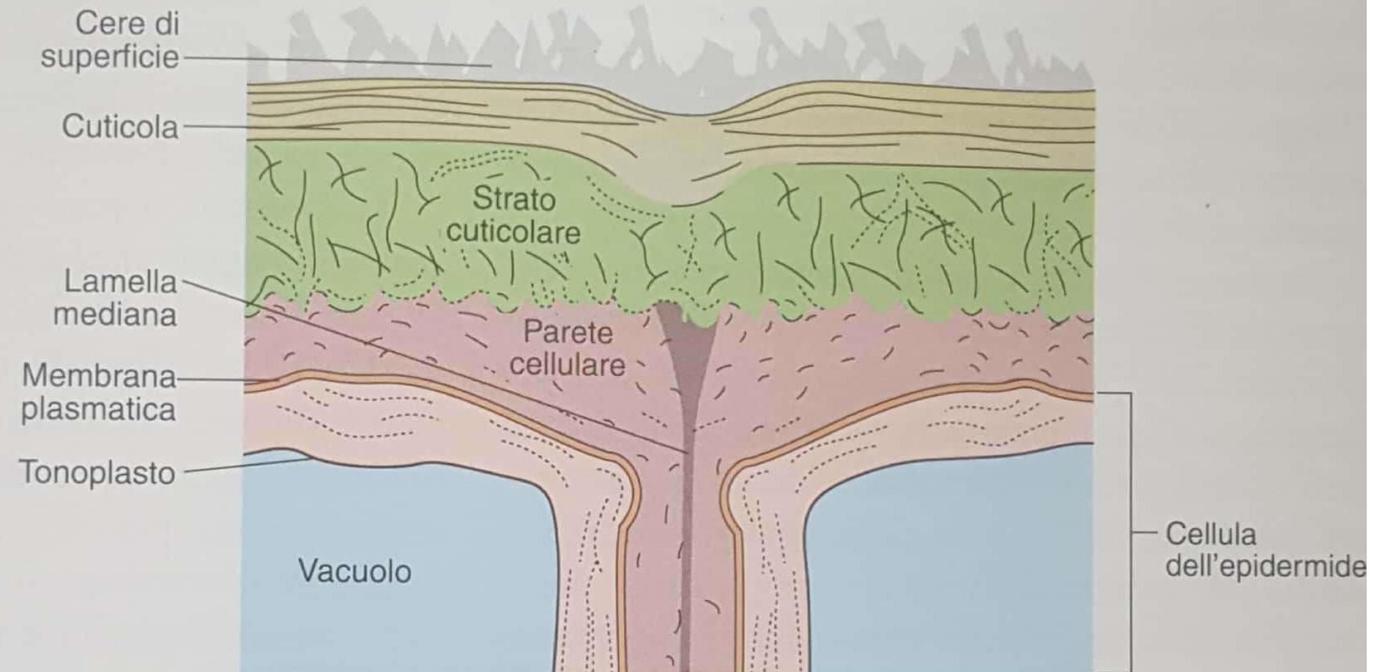


Specializzazione della parete in relazione al tipo di tessuto

LA CUTICOLA

FIGURA 2.14

Rappresentazione schematica di una cuticola, lo strato protettivo che ricopre le cellule dell'epidermide di foglie e giovani fusti. Esternamente alla parete primaria, un primo strato cuticolare comprende, oltre alla cutina, pectine, cellulosa e altri carboidrati. La cuticola vera e propria è costituita da cutina e cere, che sono anche il costituente unico dello strato esterno.



DALLA PARETE PRIMARIA ALLA PARETE SECONDARIA

PARETE SECONDARIA:

Viene depositata tra la parete primaria e la membrana plasmatica, dopo che l'espansione cellulare è completata.

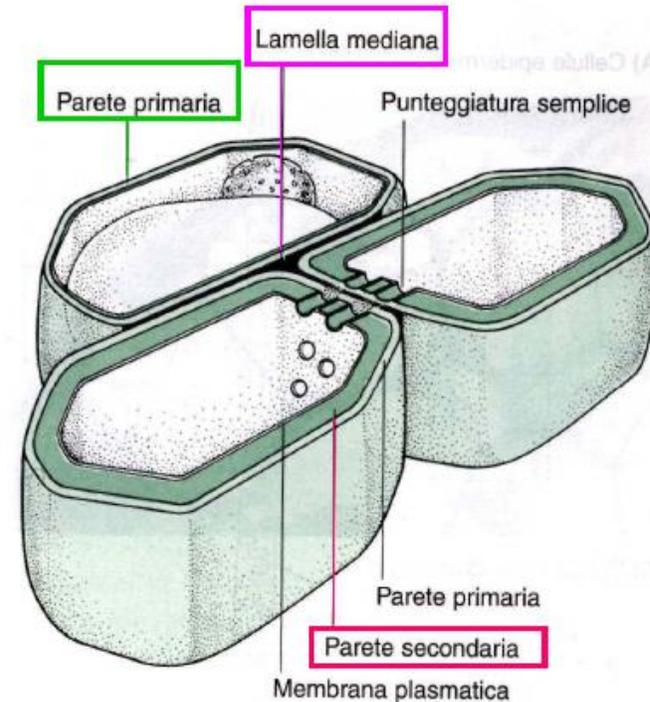
Ha funzione di supporto.

E' ricca in cellulosa.

Priva di proteine sia strutturali che enzimatiche.

Può contenere lignina, suberina, cutina e cere.

Ha uno spessore variabile (3-5 μm)

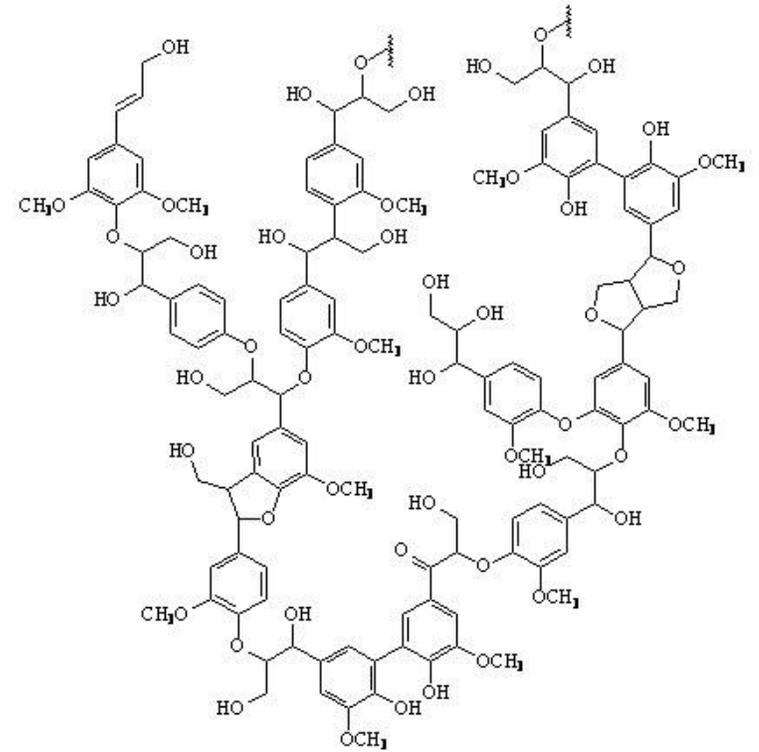


LA LIGNINA

La **lignina** è un importante costituente delle piante, è presente quasi esclusivamente nella parete secondaria, ma non è necessariamente presente in tutte le pareti secondarie.

E' il polimero a cui si deve la conquista delle terre emerse a partire dal Devoniano (416 milioni di anni fa).

E' un polimero idrofobico, di natura fenolica. Dopo la cellulosa, è il polimero più abbondante delle pianta (fino a 20-30% del peso)

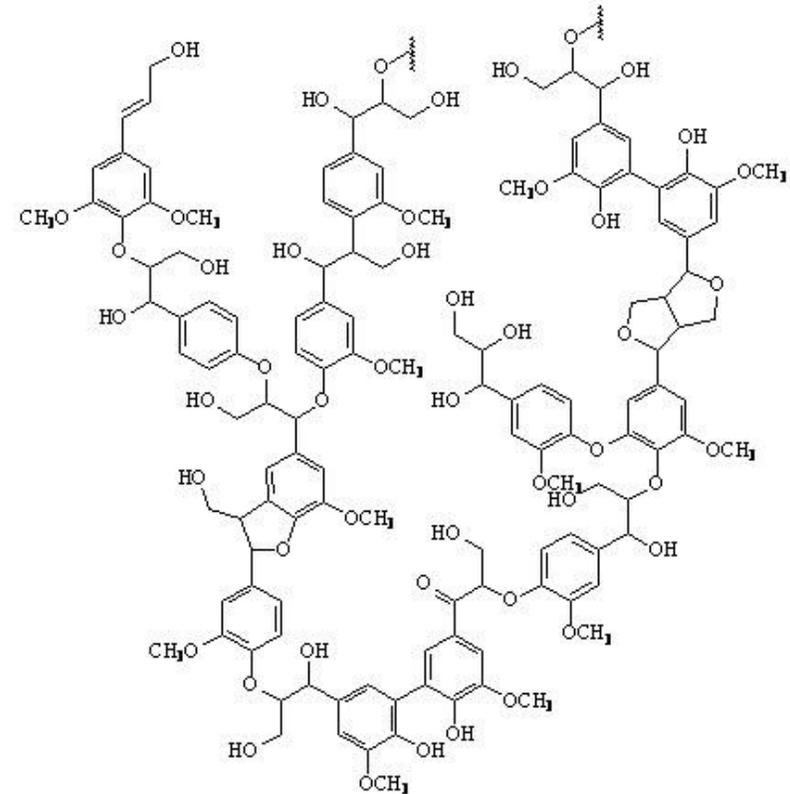


LA LIGNINA

- Conferisce impermeabilità, resistenza e durezza alla parete cellulare e la troviamo in cellule con funzione meccanica o di sostegno.

-rende impermeabile la parete cellulare e come tale è presente nelle cellule conduttrici;

-viene anche prodotta dalla pianta in risposta all'attacco di funghi ed altri patogeni ("lignina da ferita"): protegge le pareti dalla penetrazione meccanica del fungo e dall'attività degli enzimi secreti dal patogeno.

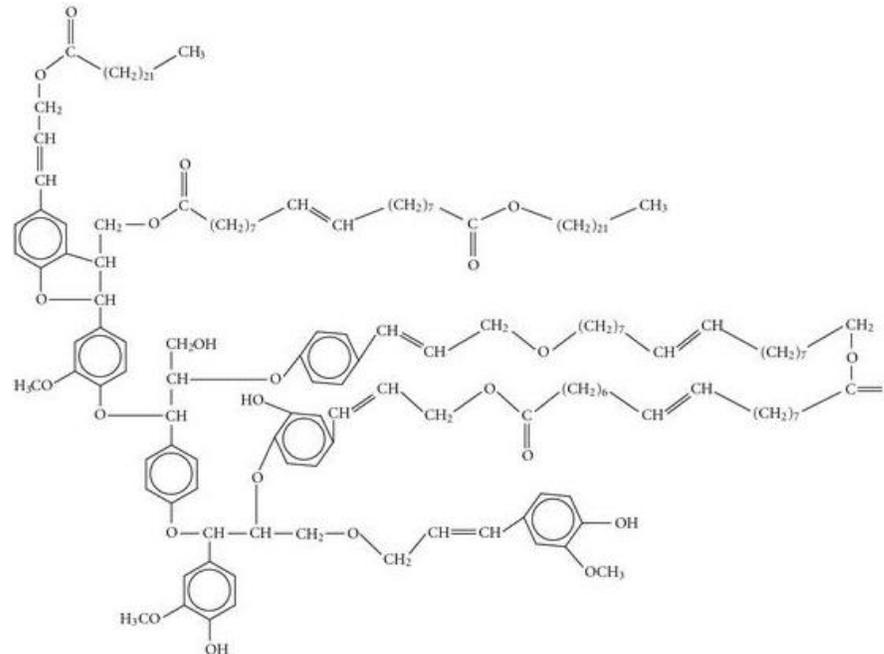


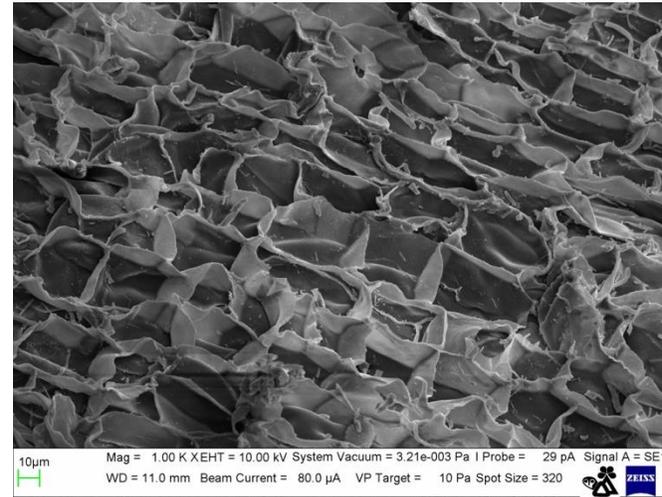
SUBERINA

Si tratta di una sostanza idrofobica depositata, sotto forma di lamelle, a livello della parete secondaria delle cellule del sughero che a maturità muoiono. E' in oltre presente in molte altre parti del corpo vegetale, come nella radice a livello della banda del Caspary

Dal punto di vista chimico è un *poliestere di acidi organici, come l'acido fellonico e suberinico, uniti a composti aromatici.*

Queste due classi di monomeri si distribuiscono a formare due differenti "domini" della macromolecola di suberina.



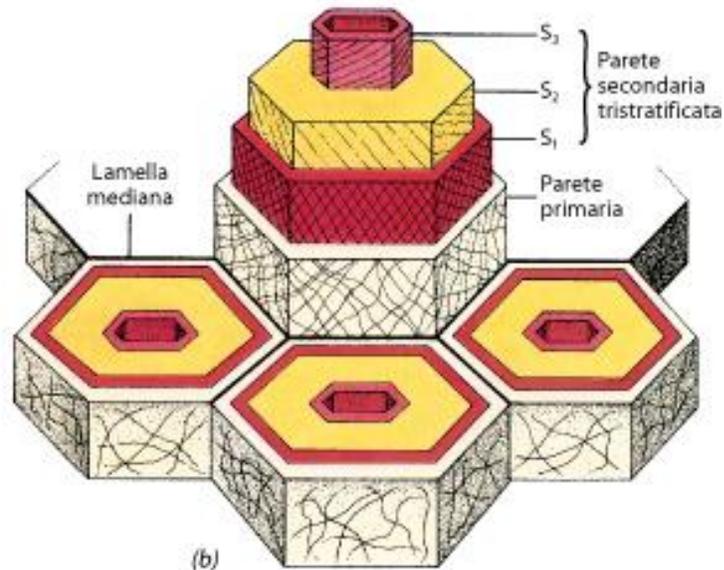


PARETE SECONDARIA

Le cellule di alcuni tessuti, cessata la crescita, depongono una parete secondaria, internamente alla parete primaria. E' il caso, ad esempio, delle cellule dei tessuti di conduzione e di sostegno.

Nella parete secondaria c'è una maggiore quantità di cellulosa e mancano le emicellulose e le sostanze pectiche: è quindi più rigida e meno estendibile.

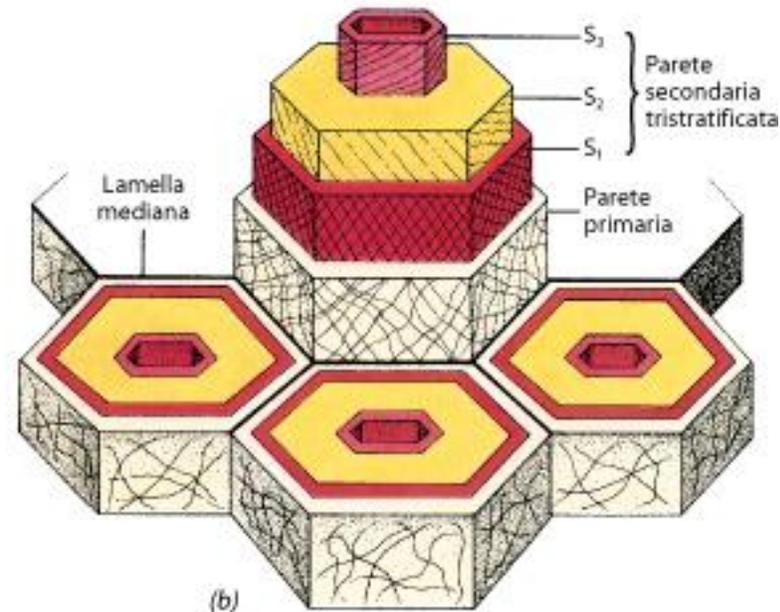
Spesso, anche se non sempre, contiene lignina, che conferisce maggiore rigidità.

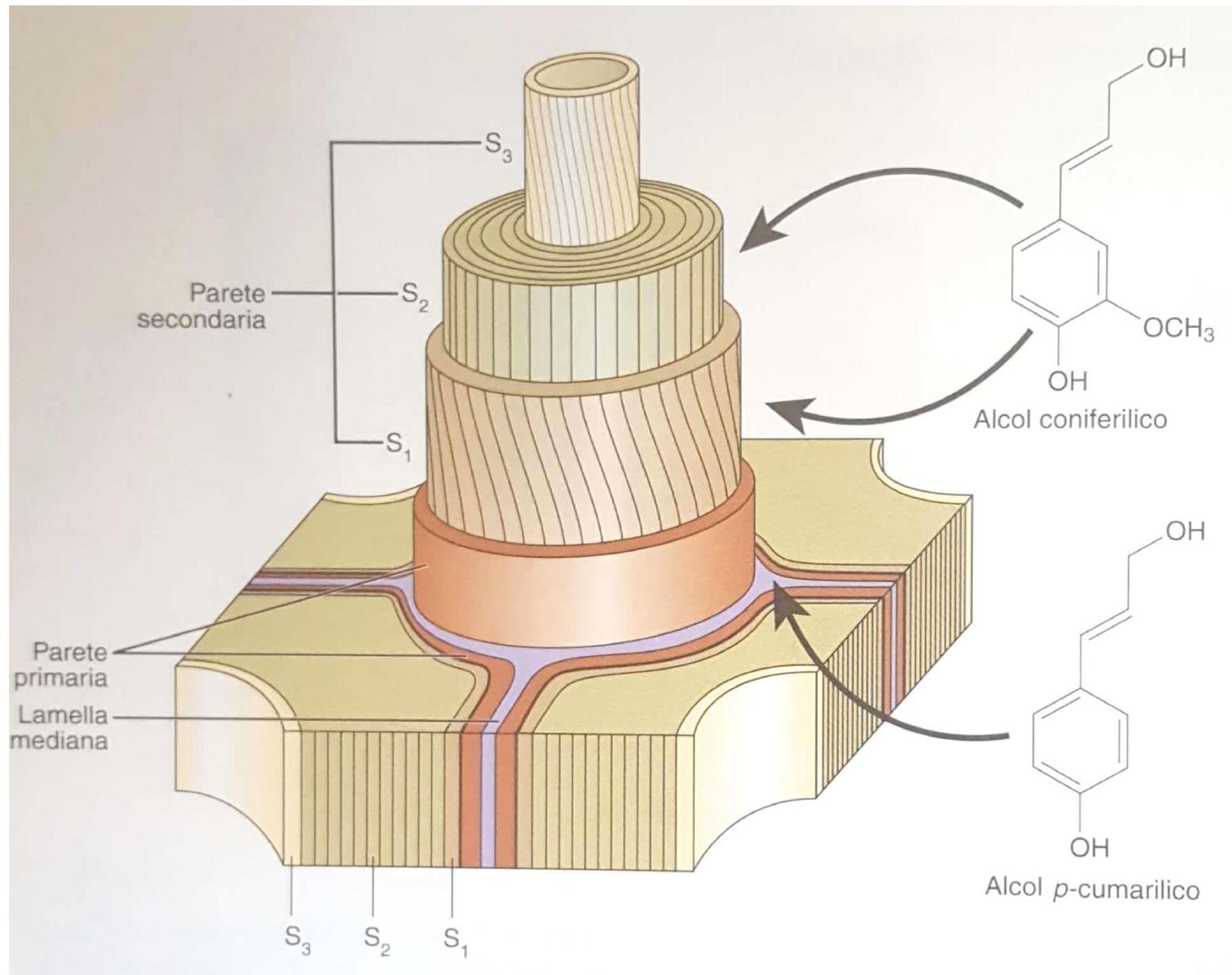


La deposizione di lignina porta la cellula verso la morte, tant'è che le cellule lignificate, come quelle di conduzione e di sostegno, svolgono la loro funzione da morte.

La parete secondaria è generalmente formata da tre strati, indicati con S1, S2 e S3 che differiscono, gli uni dagli altri, per l'orientamento delle loro microfibrille di cellulosa, che sono più dense di quanto non siano nella parete primaria.

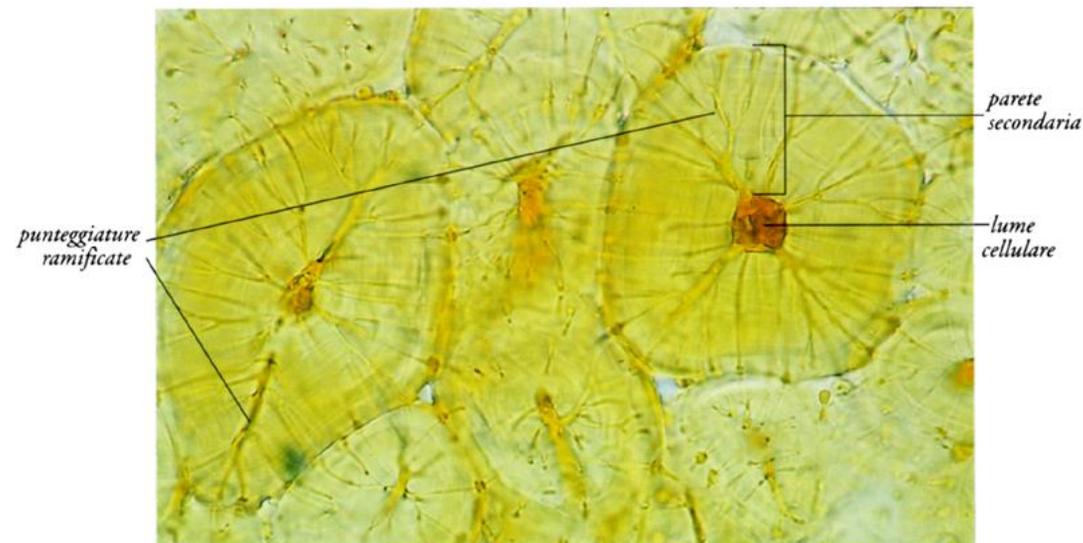
Il diverso orientamento e la maggiore densità la rendono più resistente.





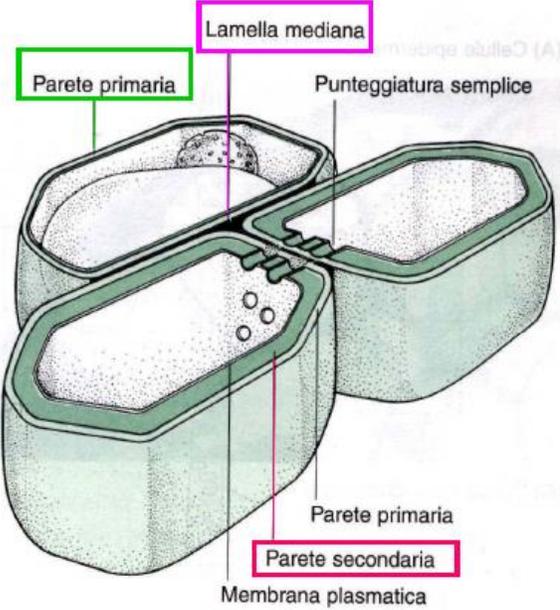
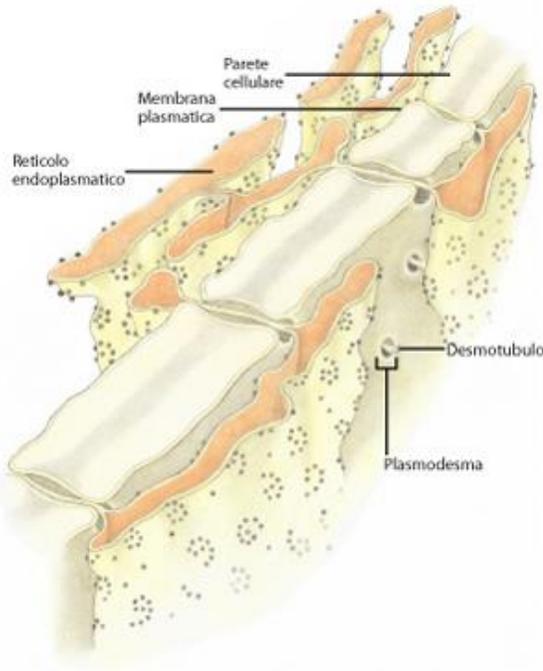
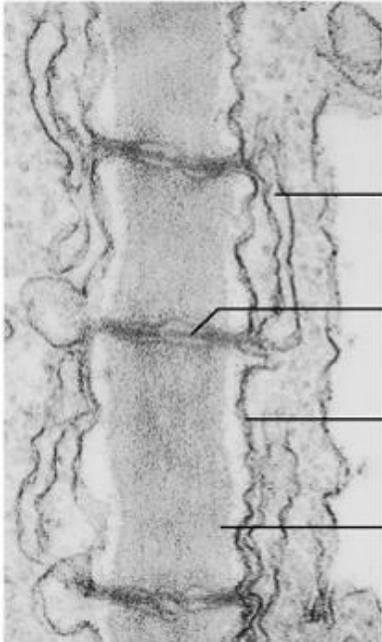
L'accrescimento della parete secondaria in spessore porta ad una riduzione dell'ampiezza del lume cellulare. Questo è ben evidente nelle cellule dello **sclerenchima** (tessuto meccanico).

Le **sclereidi** sono cellule morte con pareti secondarie inspessite, talvolta lignificate, sviluppate in modo uguale in tutte le direzioni. Possono essere presenti, isolate o riunite in gruppi, in fusto foglie e semi.



Sclereidi nel frutto della palma da cocco

PLASMODESMI

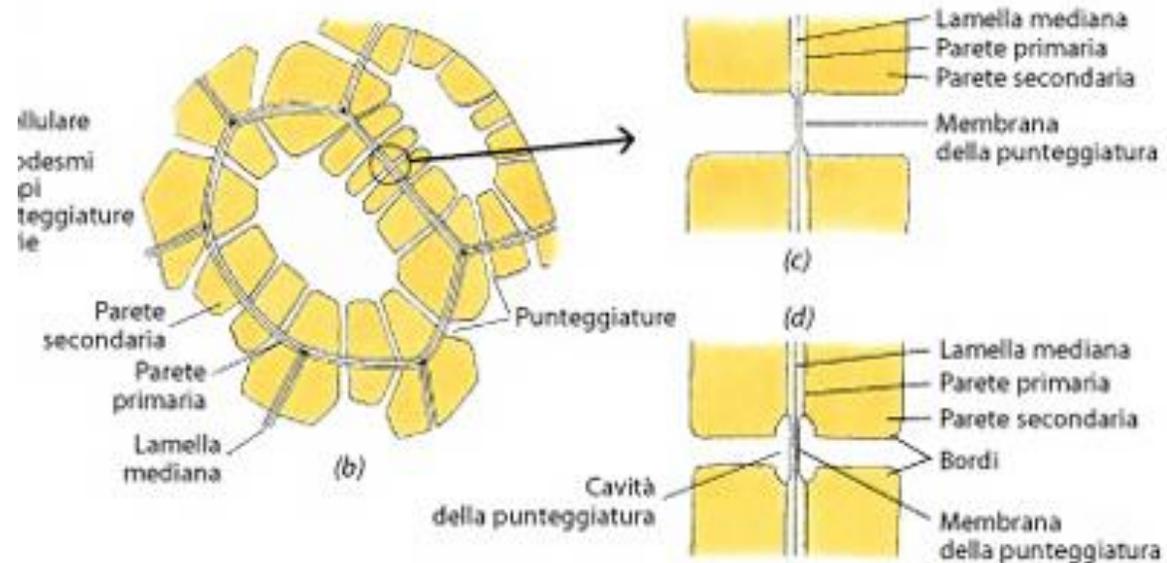


I plasmodesmi sono dei canali, attraversati da un tubulo del reticolo endoplasmatico (desmotubulo), che collegano i protoplasti di cellule vegetali adiacenti, consentendo il trasporto di sostanze.

PLASMODESMI

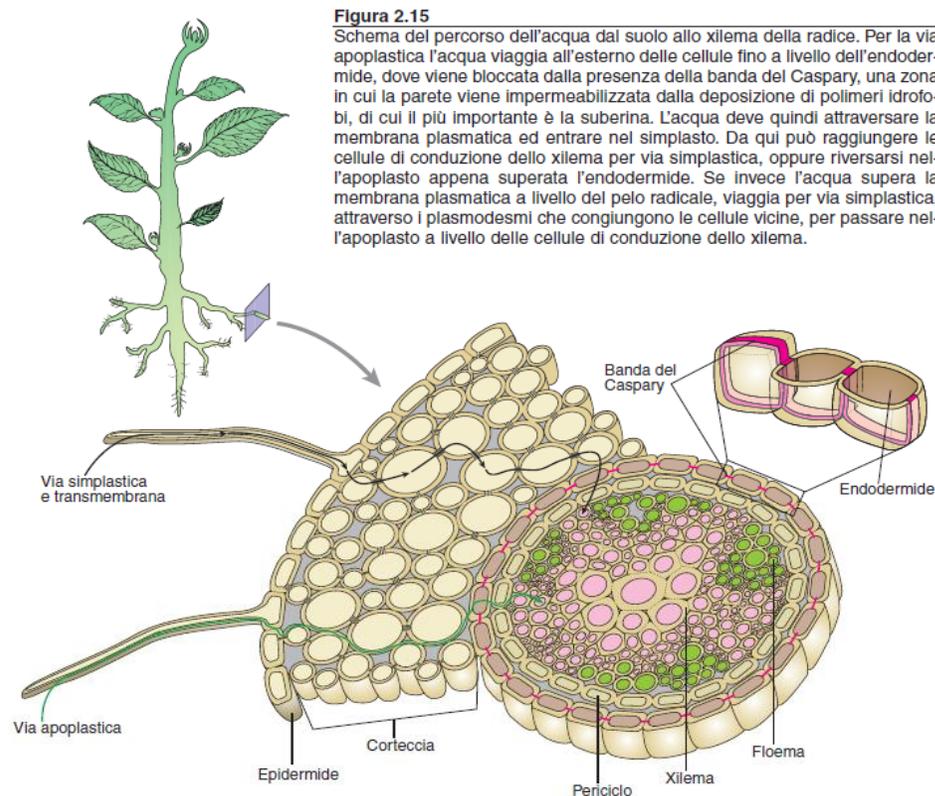
Le pareti primarie quindi non hanno uno spessore uniforme, ma presentano dei punti in cui si assottigliano, chiamati campi di punteggiature primarie.

Nelle cellule con parete secondaria, la parete secondaria non viene depositata in corrispondenza dei gruppi di plasmodesmi, e le strutture che si formano sono chiamate **punteggiature**.



PLASMODESMI

I plasmodesmi sono coinvolti nel movimento dell'acqua e dei soluti in essa disciolti da una cellula all'altra. L' Acqua può muoversi nella pianta attraverso due vie: la via simplastica (=attraverso il protoplasto), tra i citoplasmi delle cellule la cui continuità è garantita dai plasmodesmi, e la via apoplastica (=esternamente al protoplasto), nello spazio fra le pareti cellulari.

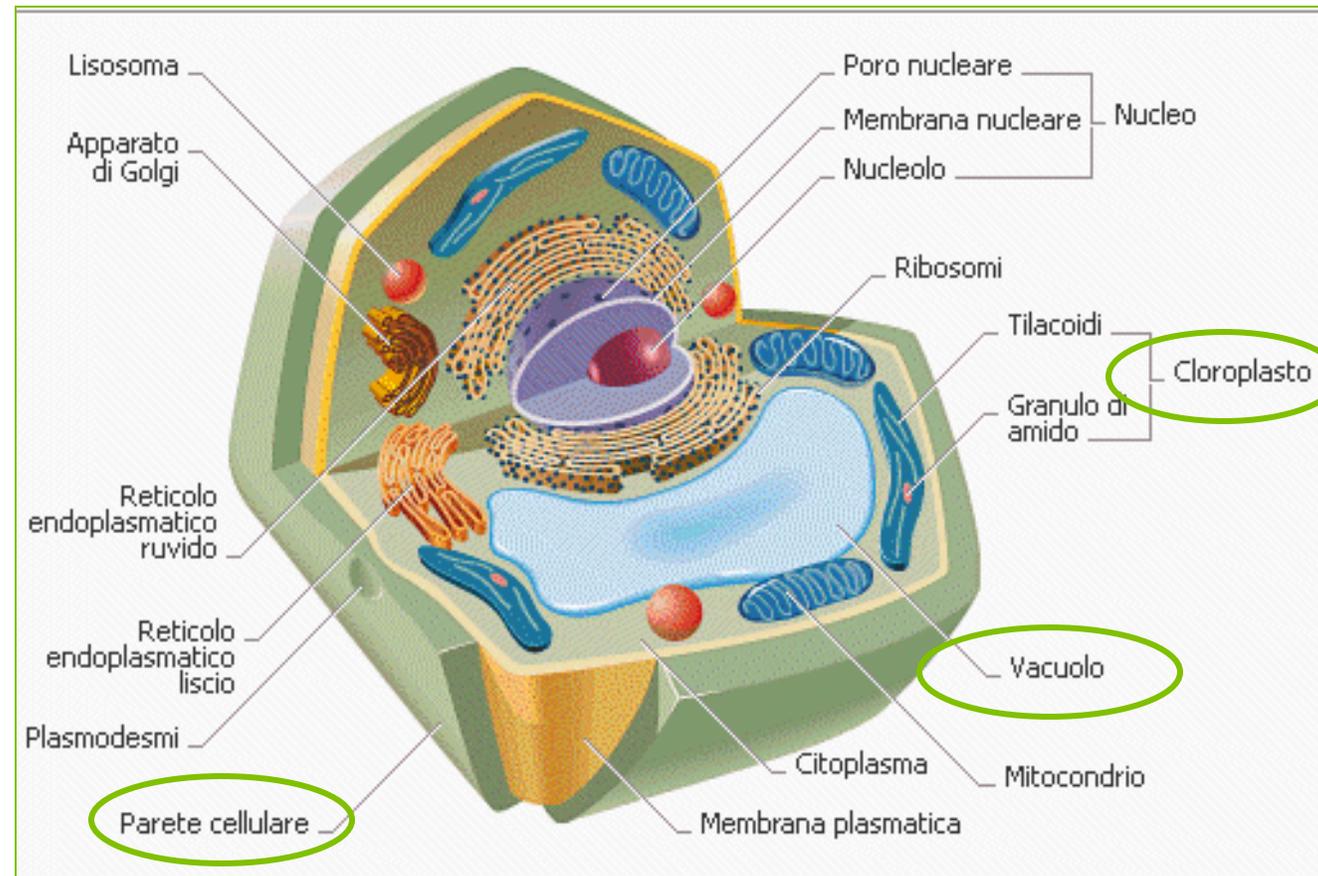


Gli inspessimenti di suberina, una sostanza impermeabilizzante, al livello dell'endodermide nella radice, rappresenterà una barriera al passaggio apoplastico dell'acqua.

IL VACUOLO

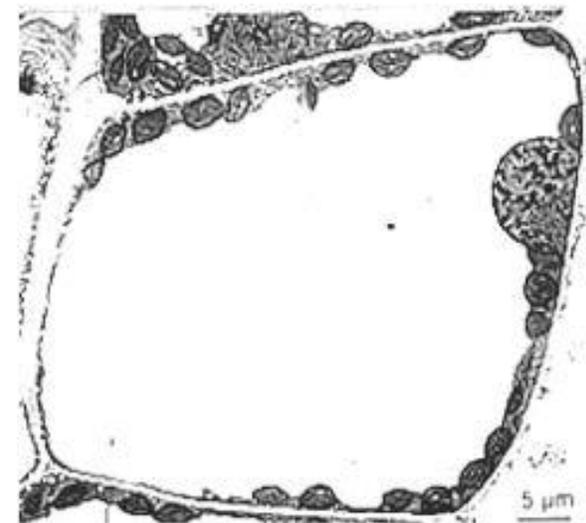
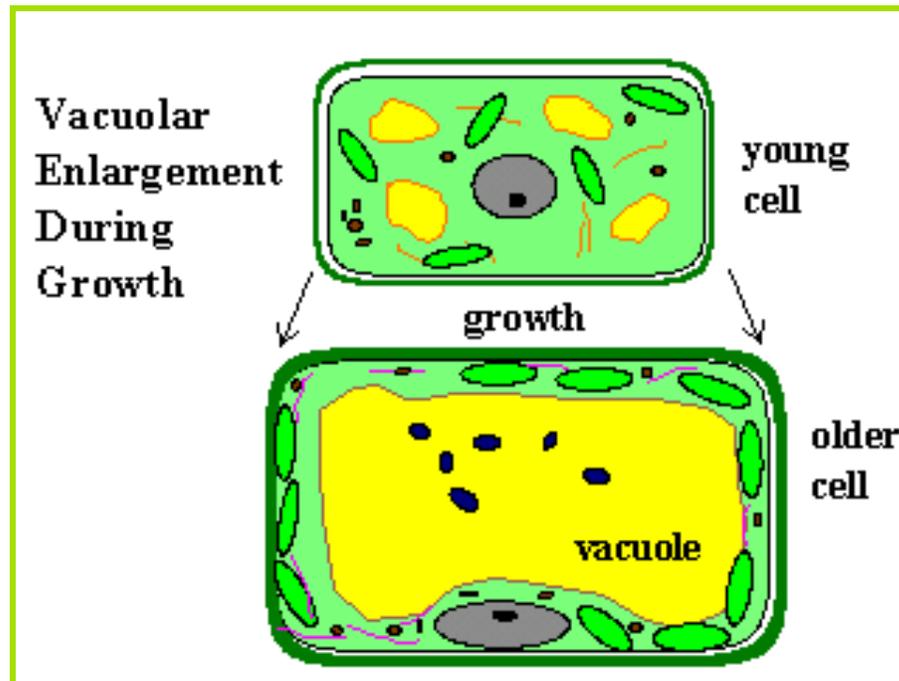
I **vacuoli**, delimitati da una membrana (membrana vacuolare o tonoplasto), contengono un liquido acquoso tipicamente acido detto succo vacuolare.

Nella cellula immatura vi sono più vacuoli di piccole dimensioni che si fondono in un unico grande vacuolo; nella cellula matura occupa più del 30%, fino al 90% del volume cellulare.



L'aumento di volume del vacuolo produce l'aumento di dimensioni della cellula e genera una pressione responsabile del mantenimento della rigidità dei tessuti.

Il principale componente del succo vacuolare è l'acqua in cui sono disciolte una gran quantità di molecole diverse.



IL VACUOLO

Tonoplasto e Succo vacuolare

Il **tonoplasto** è costituito principalmente da fosfolipidi e ricco in proteine.

Il succo vacuolare, contiene numerose sostanze, di natura diversa, che possono essere o disciolte, o presenti allo stato cristallino o variamente condensate.

Il pH del succo vacuolare ha un valore medio compreso tra 5,0 e 5,5, ma l'intervallo di tale valore può estendersi da circa 2,5 (i vacuoli del frutto di limone) a valori maggiori di 7,0 nei vacuoli di riserva contenenti proteine.

Tra le principali sostanze contenute nel succo vacuolare troviamo :

Succo vacuolare

1. Ioni inorganici

nel vacuolo si accumula una grande quantità di cationi inorganici (K^+ , in concentrazioni elevate, ma anche Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) ed anioni inorganici (Cl^- , PO_4^{3-} , NO_3^- , SO_4^{2-} , ecc.).

NO_3^- è lo ione nitrato, di cui le piante sono avidi e si accumula anche nel vacuolo.

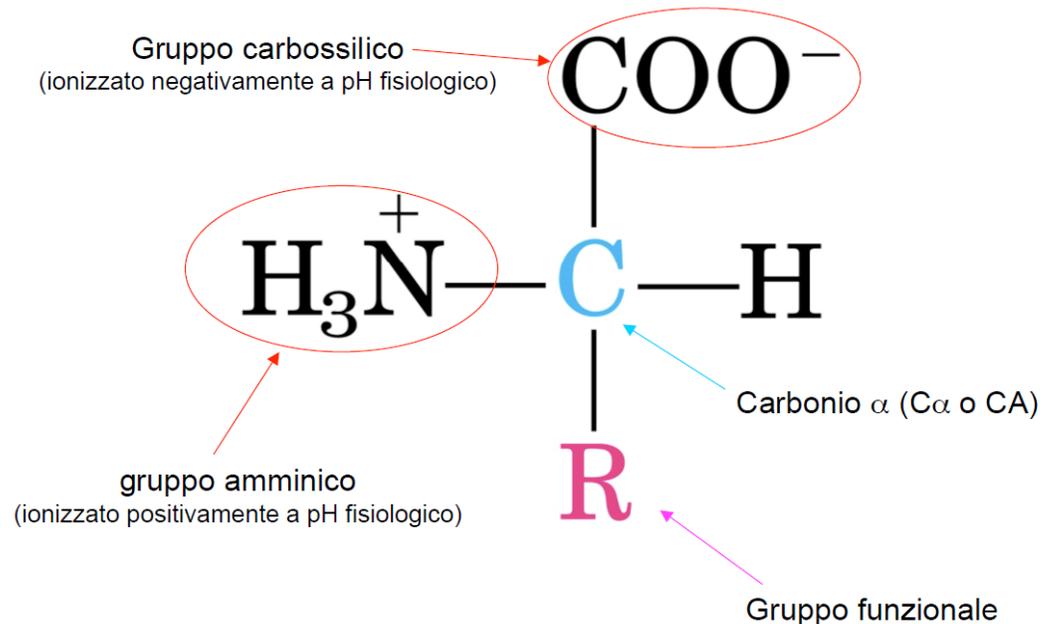
E' utilizzato come fertilizzante.

I nitrati nelle piante

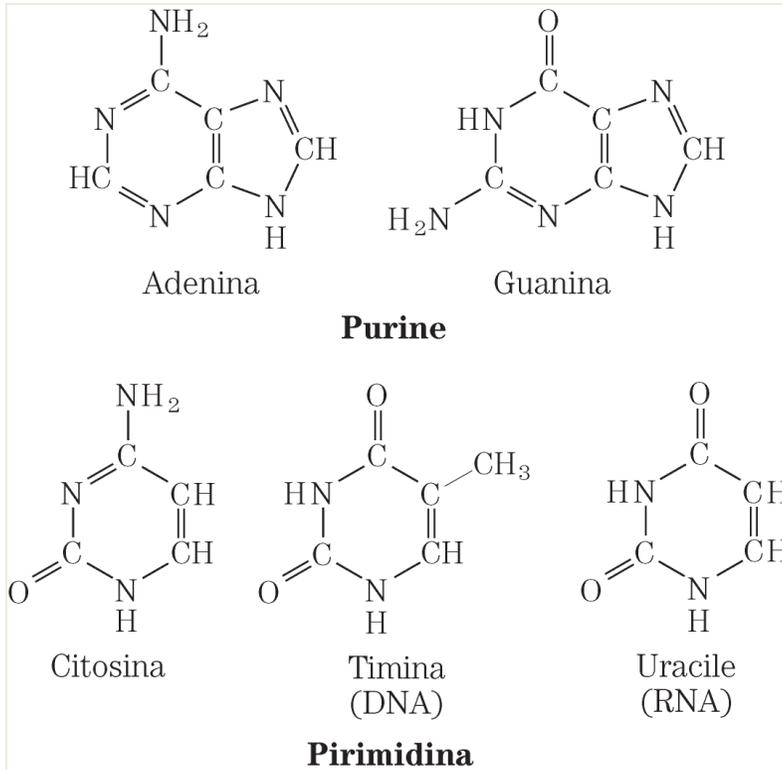
I nitrati sono composti inorganici contenenti e fonti di azoto per le piante. che non possono essere utilizzati tal quali dalla pianta per le sue esigenze di crescita, ma devono essere ridotti prima a *composti ammoniacali (ione ammonio NH_4^+)* e solo successivamente possono essere trasformati in composti organici azotati come aminoacidi e proteine.

La struttura di un aminoacido

Gli amino acidi ad un pH vicino alla neutralità si trovano in forma di **zwitterioni** (elettricamente neutri nel loro complesso)



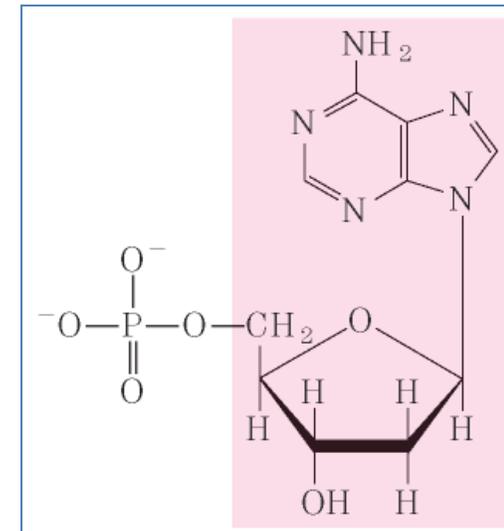
Basi azotate



2/3 atomi di N

4/5 atomi di N

Nucleotidi



Accumulo nei vacuoli.

In caso di assorbimento di grandi quantità il nitrato è immagazzinato nei vacuoli cellulari (in particolare quelli delle foglie), in attesa di essere ridotto a composti ammoniacali nel citoplasma.

La reazione di riduzione del nitrato a ione ammonio avviene in due fasi intermedie che sono:

A) Riduzione del nitrato (NO_3^-) a *nitrito* (NO_2^-) tramite l'enzima *nitrato riduttasi*.



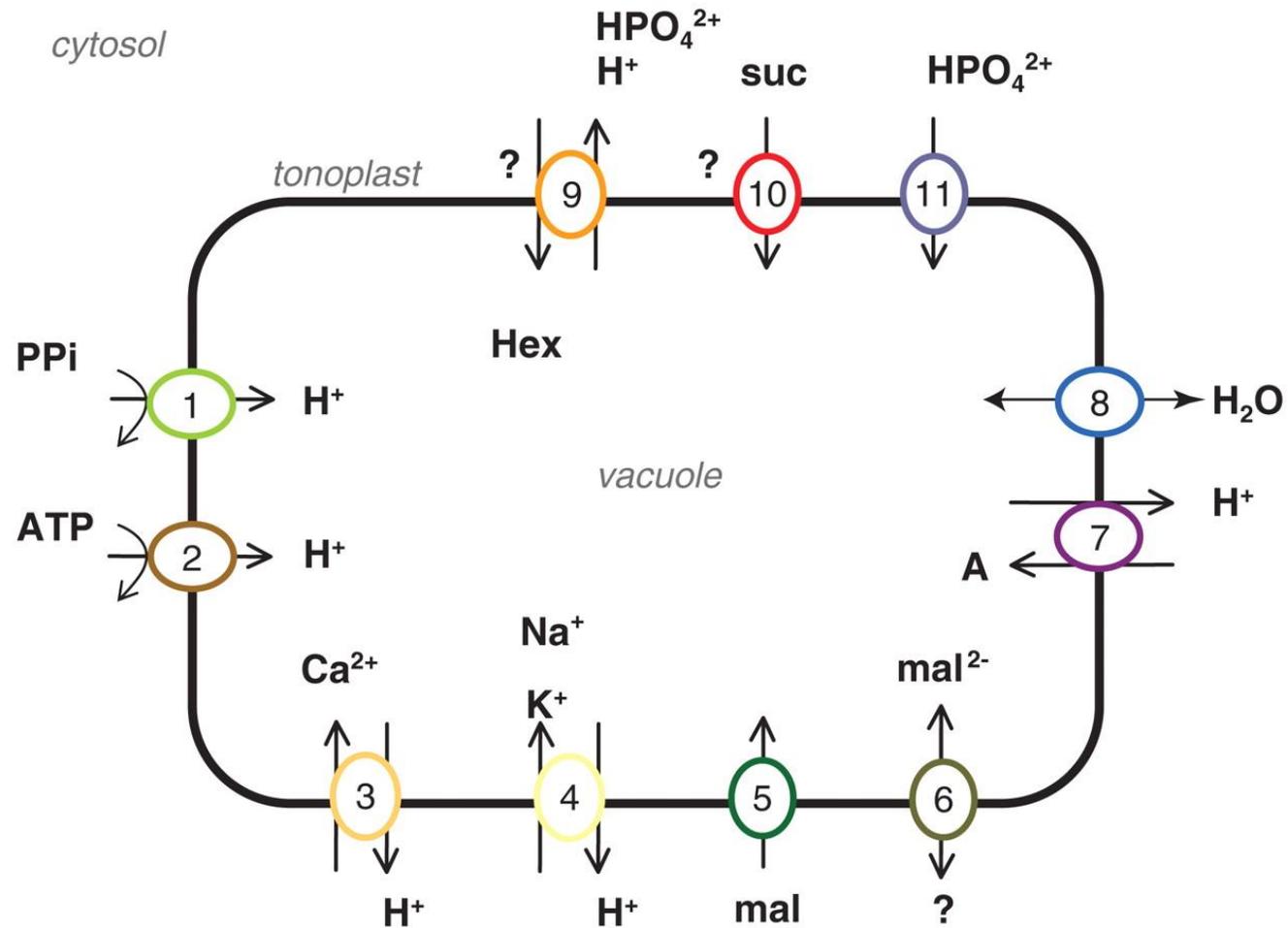
B) Riduzione del nitrito (NO_2^-) a ione ammonio (NH_4^+) tramite l'enzima *nitrito riduttasi*.



A questo punto l'azoto può essere incorporato, sempre tramite una reazione enzimatica, prima negli *amminoacidi* e successivamente nelle *proteine*.

Il Vacuolo ha anche il ruolo di sequestrare
ciò che ad alte concentrazioni può essere dannoso

- H^+ ha la funzione di regolazione del pH



-Accumulo di Na^+ e Cl^- , nelle piante capaci di resistere alla salinità (ALOFITE)



Euphorbia paralias

Euforbia marittima

-ioni di metalli pesanti, nelle piante che sopravvivono in suoli contaminati
(METALLOFITE)

<i>Metal</i>	<i>Chemical Symbol</i>
Mercurio	Hg
Piombo	Pb
Cadmio	Cd
Selenio	Se
Tallio	Tl
Nickel	Ni
Argento	Ag
Manganese	Mn
Cromo	Cr
Ferro	Fe
Bario	Ba



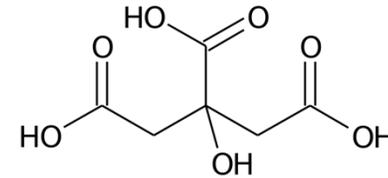
La pianta acquatica tropicale *Eichhornia crassipes*, ha particolari capacità di accumulo di ioni metallici e viene usata per depurare acque di scarico.

SUCCO VACUOLARE

2. Acidi organici

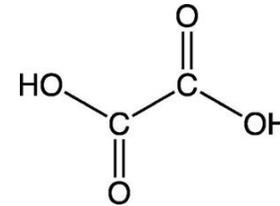
Si tratta spesso di metaboliti prodotti in eccesso

✓acido citrico (agrumi)



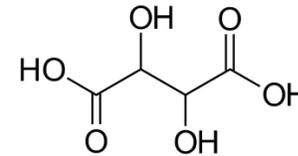
Citrus

✓acido ossalico (rabarbaro)



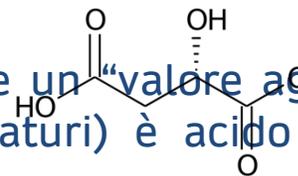
Rheum

✓acido tartarico (uva)



Vitis

✓acido malico (mela) ecc..



Il contenuto in acidi può assumere anche un "valore aggiunto", come succede nei frutti: il frutto acerbo (con i semi immaturi) è acido e quindi inappetibile agli animali.

Succo vacuolare

3. Carboidrati, con funzione di riserva

Sono tra le più frequenti sostanze presenti nel succo vacuolare, si rinvengono sotto forma di:

- ✓ **monosaccaridi**: il glucosio (uva, ciliegia, susina) e il fruttosio (pera, pesca) sono i più frequenti.
- ✓ **disaccaridi** prevale il saccarosio (canna da zucchero, barbabietola da zucchero).
- ✓ **polisaccaridi** come l'inulina (polimero del fruttosio presente in molte *Asteraceae* come dalia, cicoria, topinambur), i mannani (polimeri del mannosio, nelle *Liliaceae*) ecc..

Nei cianobatteri (cianoficee), nei batteri e nei funghi le riserve di carboidrati sono costituite da **glicogeno**.

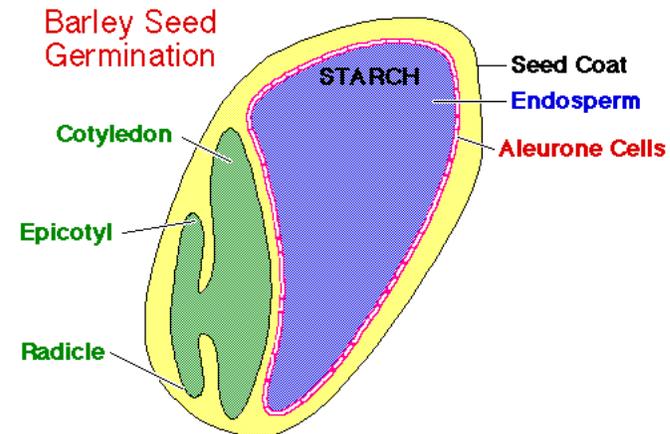
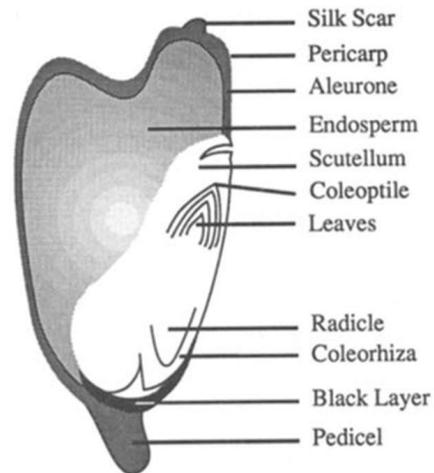
IMPORTANTE: l'amido è un incluso del plastidio, il vacuolo non contiene mai amido!

SUCCO VACUOLARE

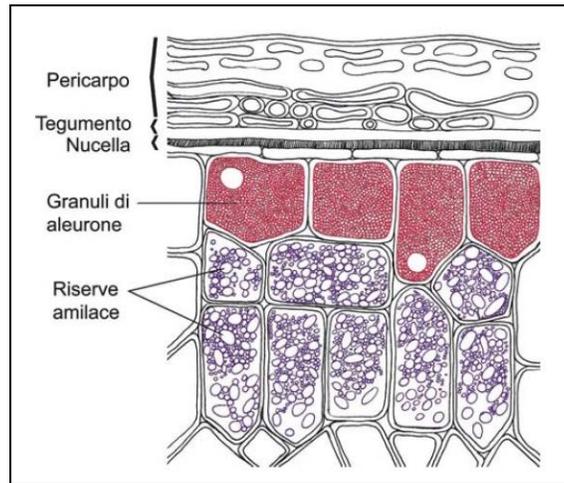
4. Aminoacidi, proteine

gli aminoacidi più frequenti sono arginina, leucina, tirosina, istidina, glutammina e asparagina. Aminoacidi e proteine solubili sono per lo più accumulate nel succo vacuolare di alcune cellule che compongono i **semi** ed utilizzata la crescita durante la germinazione.

Durante la disidratazione che accompagna la maturazione dei semi, le proteine di riserva diventano meno solubili, precipitano e formano depositi denominati granuli di aleurone (glutine), di composizione e grandezza variabili.



SUCCO VACUOLARE

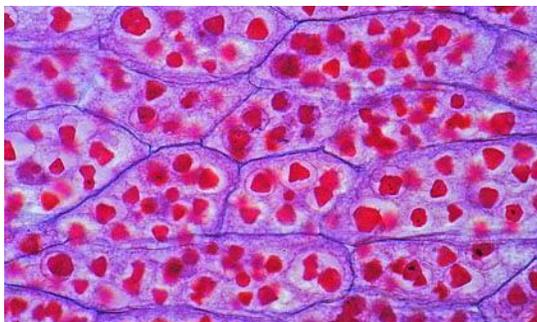


Granuli di aleurone nella cariosside del frumento.

L'aleurone delle cariossidi di frumento è localizzato nei tessuti che sono tra i tegumenti del seme e le cellule amilifere.



Durante la germinazione e le prime fasi di crescita della plantula, il contenuto dei corpi proteici viene idrolizzato per fornire substrati ed energia per la crescita della plantula. Quando l'idrolisi delle sostanze di riserva è completata, i corpi proteici diventano piccoli **vacuoli acquosi**, che si fonderanno poi a formare il **grosso vacuolo della cellula**.



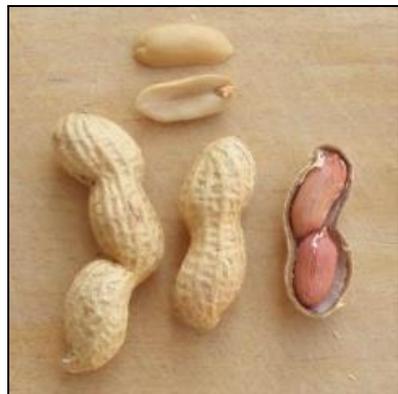
SUCCO VACUOLARE

5. Lipidi

Sono spesso accumulati nei vacuoli a livello dei semi e dei frutti.

La loro quantità è assai esigua, ad eccezione dei **semi** di talune piante (es. arachide, soia) e di alcuni **frutti** come girasole (achenio), mais (cariosside), olivo (drupa) nei quali possono raggiungere percentuali elevatissime (fino al 70%).





Fabaceae
Arachis hypogaea

Fabaceae
Glycine max



Asteraceae
Helianthus annuus



Poaceae
Zea mays

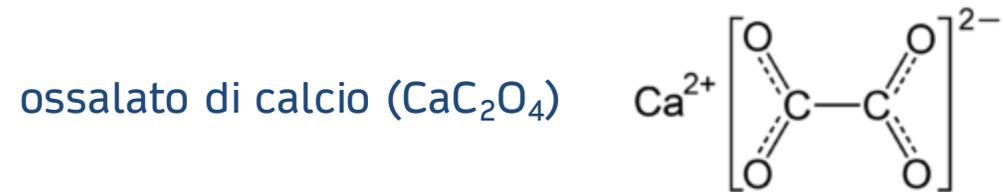
Oleaceae
Olea europaea



Succo vacuolare

6. Inclusi solidi

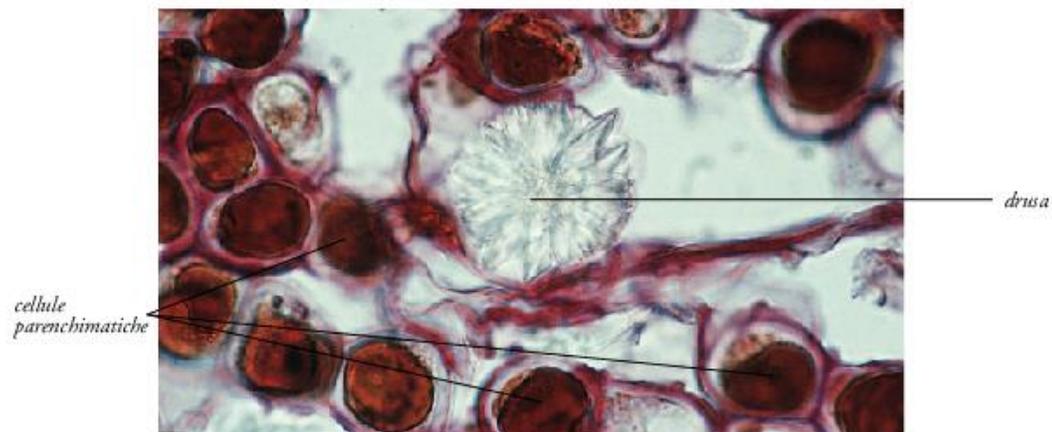
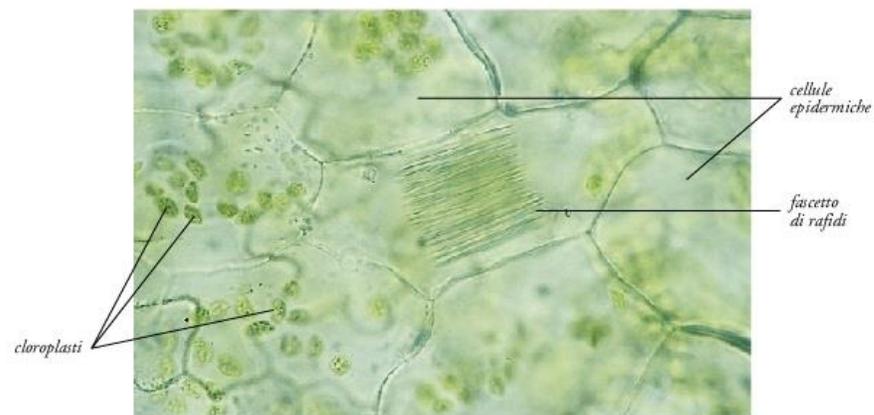
Si tratta di depositi di natura cristallina localizzati nei vacuoli. Le cellule che producono questi cristalli, spesso di ossalato di calcio, si trovano sparse in tutta la pianta, più frequentemente nelle foglie e nelle radici.



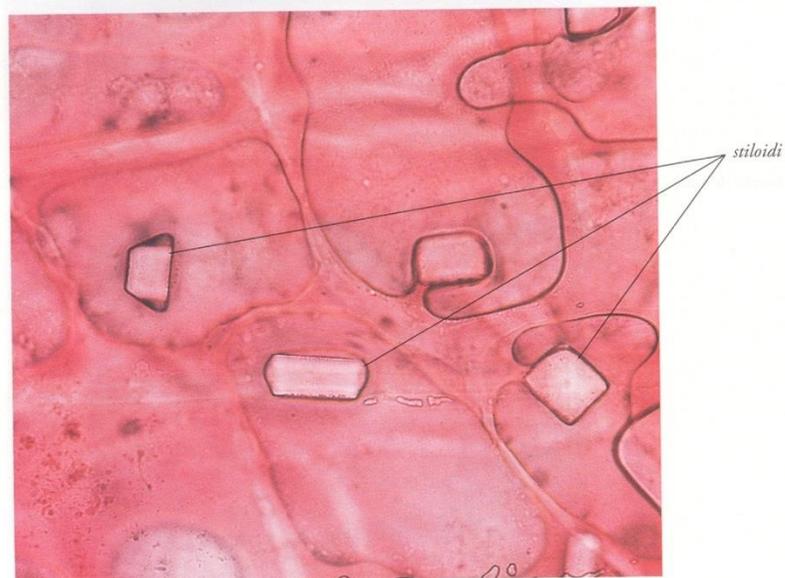
A seconda del tipo di tessuto, i precipitati di ossalato di calcio assumono differenti forme, caratterizzate da una diversa struttura dei cristalli in relazione al loro modo di formazione, che viene influenzato ad esempio dal pH, dalla presenza di mucillagini e dalla quantità di acqua inglobata.

I tipi più diffusi sono:

- i **rafidi** (cristalli aghiformi disposti a fascetti);
- le **druse** (aggregati con forma di bipiramidi tetragonali);



- gli **stiloidi** (cristalli di ossalato di calcio prismatici), la cui formazione potrebbe essere legata a processi di detossificazione in ambienti particolarmente ricchi di calcio.



SUCCO VACUOLARE

7. Metaboliti secondari

Sono un gruppo di molecole organiche che non prendono parte direttamente ai processi metabolici primari della cellula (processi di base per la vita cellulare come produzione di energia), ma sono coinvolte nelle interazioni della pianta con l'ambiente, antagonistiche (competizione, predazione) e mutualistiche (impollinazione).

Le vie metaboliche secondarie derivano solo e unicamente dal metabolismo primario, e mai viceversa.

I metaboliti primari sono le proteine, gli acidi nucleici, i lipidi e i carboidrati

I metaboliti secondari delle piante sono stimati essere **200.000** composti differenti ed includono:

- Glicosidi e alcaloidi
- Glucosidi cianogenetici
- Fenoli
- Resine, balsami, caucciù
- Pigmenti

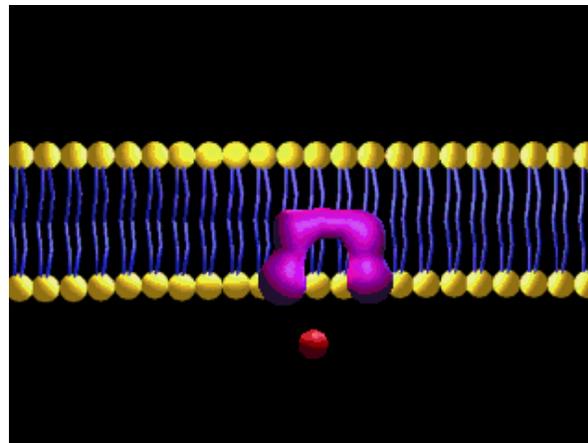
DISTENSIONE CELLULARE

Il **tonoplasto**, che delimita il vacuolo è, come tutte le membrane, semipermeabile, cioè permeabile all'acqua grazie alla massiccia presenza di acquaporine ed pressochè impermeabile ai soluti (ioni e a buona parte delle molecole organiche) che possono attraversarlo passivamente solo se presenti specifiche proteine di membrana (carriers);

il trasporto può avvenire:

-per **diffusione facilitata** (senza dispendio energetico) se lungo un gradiente di concentrazione, o

-per **trasporto attivo** (con consumo di ATP) se contro un gradiente di concentrazione.



DISTENSIONE CELLULARE

Nelle cellule vegetali la crescita è prevalentemente dovuta all'aumento di volume del vacuolo cellulare.

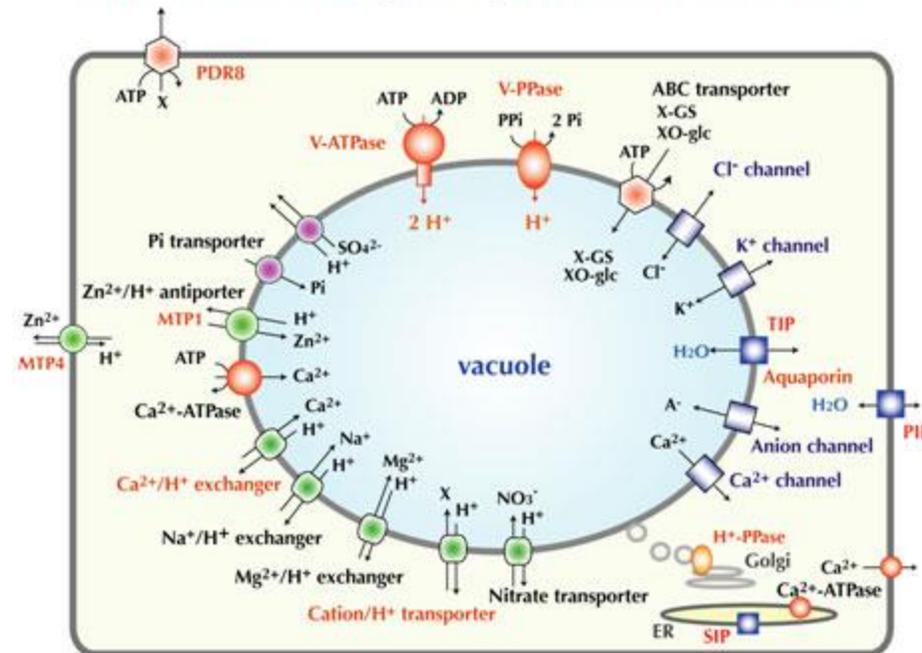
L'ambiente extracellulare è generalmente ipotonico e pertanto l'acqua fluisce dall'esterno al citoplasma e dal citoplasma al vacuolo.

Quando il vacuolo ha un elevato contenuto d'acqua la cellula è turgida, e la pressione esercitata dal vacuolo sulle pareti è chiamata “pressione di turgore”; essa contribuisce alla rigidità strutturale della cellula.

Ad essa si contrappone la “pressione di parete”, cioè la pressione meccanica, di uguale intensità ma verso opposto, esercitata dalla parete.

Il “turgore cellulare” è la normale condizione delle cellule vegetali. Raggiunto il turgore cellulare, esso è mantenuto da un trasporto attivo, operato da pompe, di ioni H^+ verso l’interno del vacuolo, contro un gradiente di concentrazione. Ad esso segue il passaggio di acqua, mediato dalle aquaporine, che sono tra le proteine di membrana più abbondanti nel tonoplasto.

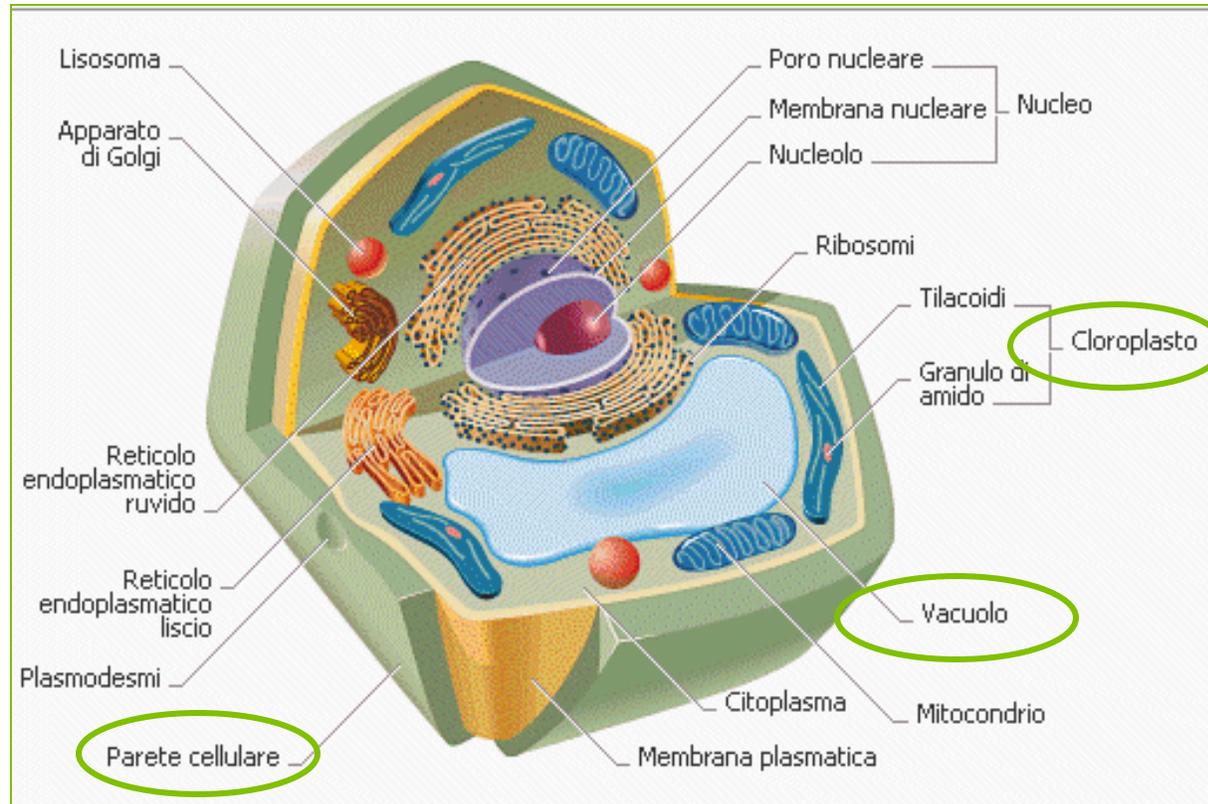
Membrane Transport Systems in Plant Cells



I PLASTIDI

I **plastidi** sono delimitati da una doppia membrana, quella esterna continua che delimita l'organello e quella interna diversamente ripiegata.

La sostanza interna è lo stroma.



Come le cellule procariotiche, i plastidi contengono ribosomi 70S, nucleoidi (DNA circolare privo di nucleo), e sono in grado di replicarsi per scissione binaria.

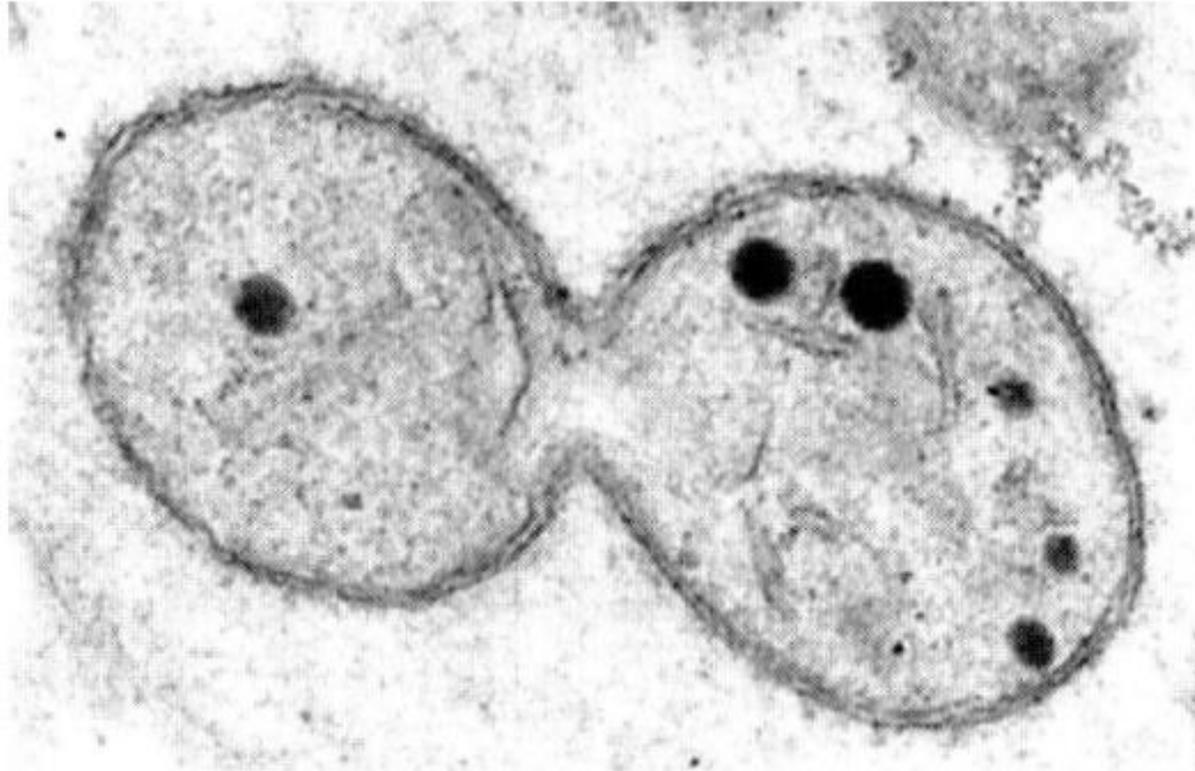


Figura 6.17

Scissione di un plastidio (da N. Bagni et al., 2007).

I plastidi maturi sono classificati in base ai pigmenti o agli altri costituenti che contengono, ma hanno tutti origine a partire da protoplastidi.

Principali tipi di plastidi e loro funzioni

		Principale costituente	Localizzazione nella pianta	Funzioni	
PLASTIDI	Cloroplasti	clorofilla	parti verdi	fotosintesi; sintesi di amido 1°, acidi	
	Cromoplasti	carotenoidi xantofille	varia	colorazione di fiori, frutti, ecc.; azione vessillare	
	Amiloplasti	amido 2°	tessuti di riserva; cuffia radicale	organello di deposito per riserva energetica; geotropismo	
	Leucoplasti	Elaioplasti	lipidi	tessuti di riserva	organello di deposito per riserva energetica
	Proteinoplasti				

PLASTICITÀ DEI PLASTIDI

I diversi tipi di plastidi possono, entro certi limiti trasformarsi l'uno nell'altro e derivano dalla stessa forma embrionale: Il proplastidio.

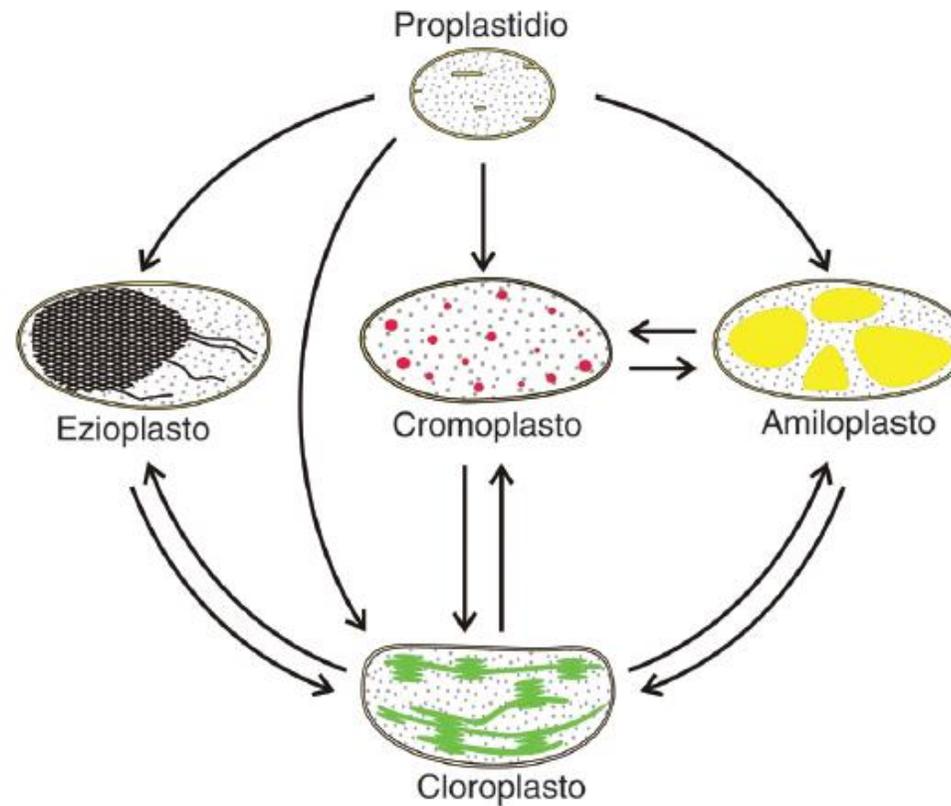


Figura 6.19

Schema dell'interconversione tra diversi tipi di plastidio (disegno di A. Valletta).

I PROPLASTIDI

Chiamati anche protoplastidi si trovano nell'embrione e nelle cellule meristematiche degli apici radicali e caulinari.

Presentano dimensioni relativamente ridotte (0,5 – 1 μm). Il loro sistema di membrane è poco sviluppato e sono incolori o di un colore verde pallido.

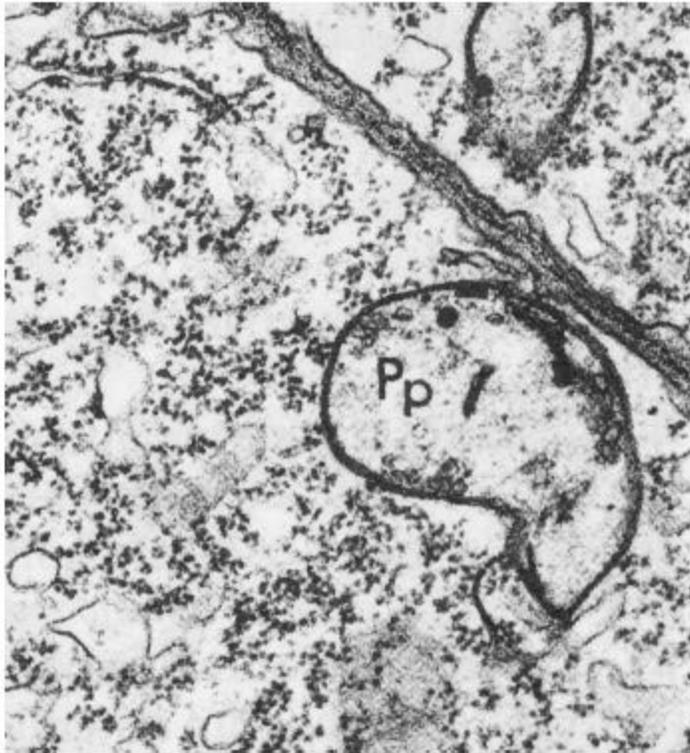


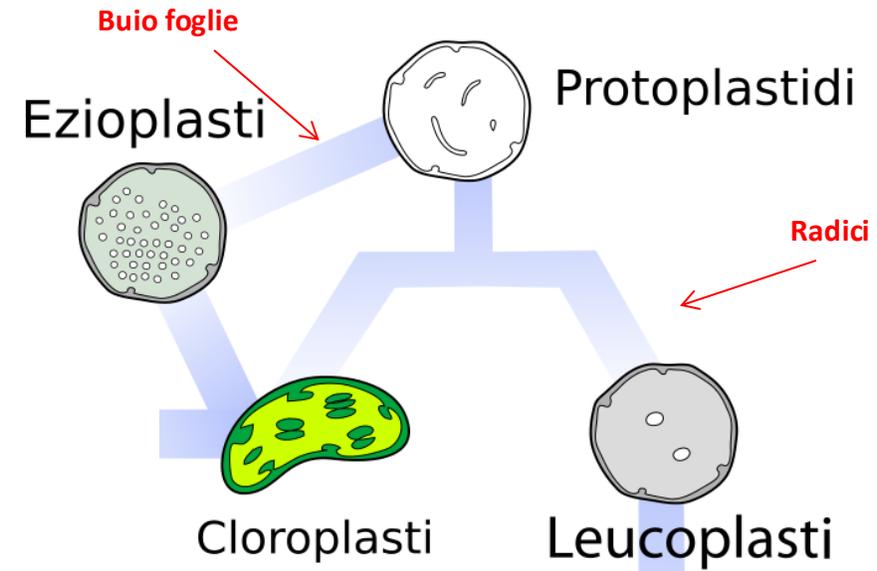
Figura 6.1

Micrografia al microscopio elettronico di un proplastidio (Pp) (da M.C. Ledbetter e K.R. Porter, 1970, per gentile concessione della Springer Science and Business Media).

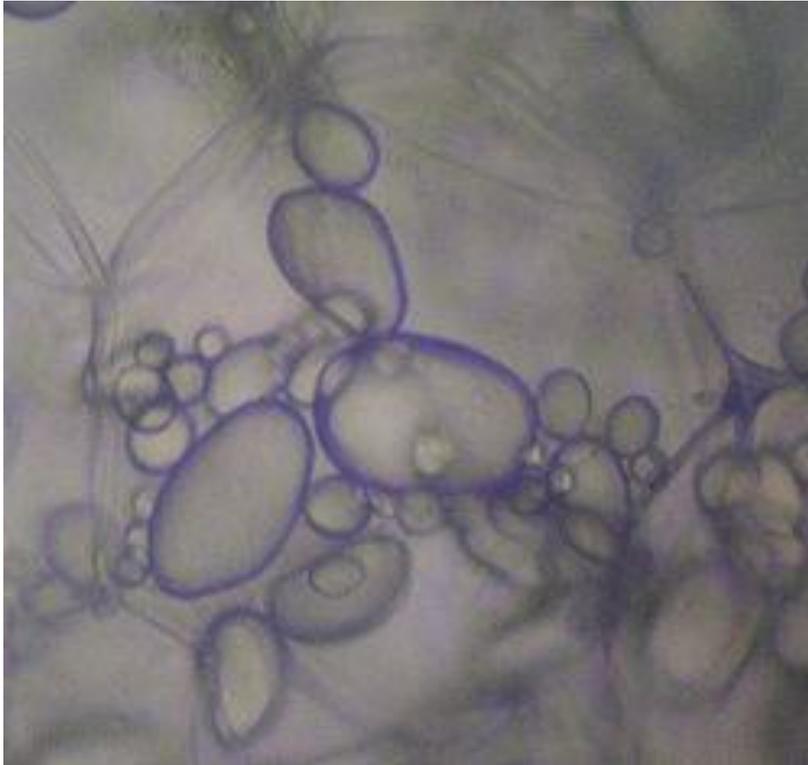
GLI EZIOPLASTI

Il differenziamento dei proplastidi nelle varie forme di plastidi dipende sia da fattori ambientali sia dal loro organo di appartenenza.

Se una plantula viene fatta crescere al buio, i proplastidi della foglia non diventeranno amiloplasti, come accade nella radice, bensì ezioplasti.



EZIOPLASTI



I proplastidi sono i precursori dei plastidi.

Nella foglia in assenza di luce, dai proplastidi si sviluppano gli **ezioplasti**, che contengono la protoclorofilla, un precursore della clorofilla.

Se esposti alla luce, la protoclorofilla si trasforma in clorofilla e gli ezioplasti evolveranno in cloroplasti.

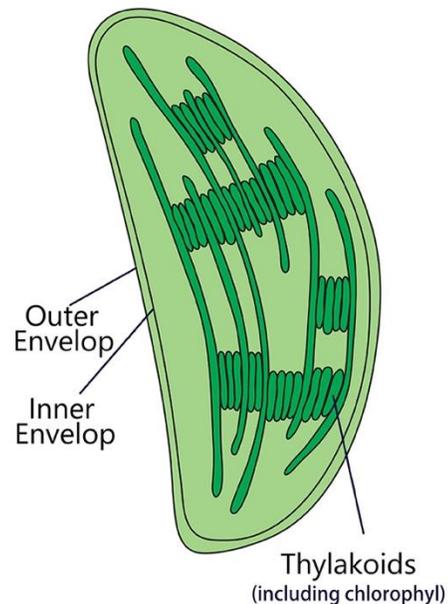
Gli ezioplasti abbondano nelle cellule delle foglie delle piante che crescono al buio.

I CLOROPLASTI

Nei cloroplasti ha luogo la fotosintesi; contengono clorofille e pigmenti carotenoidi (caroteni e xantofille)

Contengono DNA e si autoreplicano: hanno dimensioni variabili (4-10 μm), forma discoidale e sono in numero variabile, fino a 40-50 per cellula.

Sono presenti in tutti gli organismi autotrofi eucariotici. In 1 mm^2 di foglia possono essere presenti centinaia di migliaia di cloroplasti



CLOROFILLE

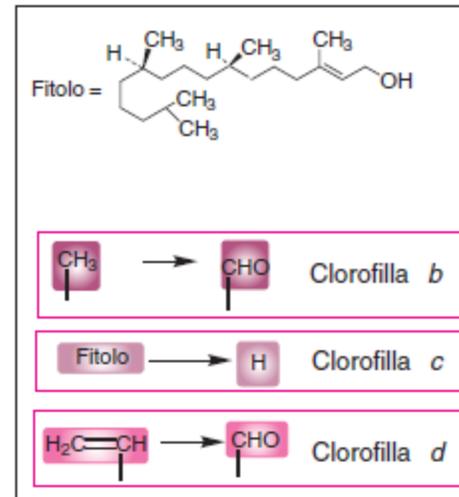
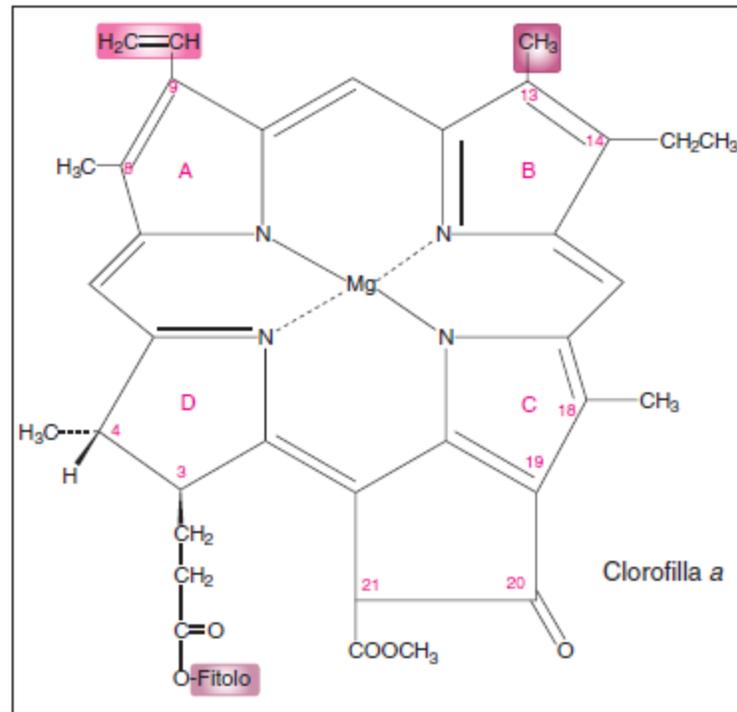


Figura 6.12
Struttura delle clorofille.

CAROTENOIDI

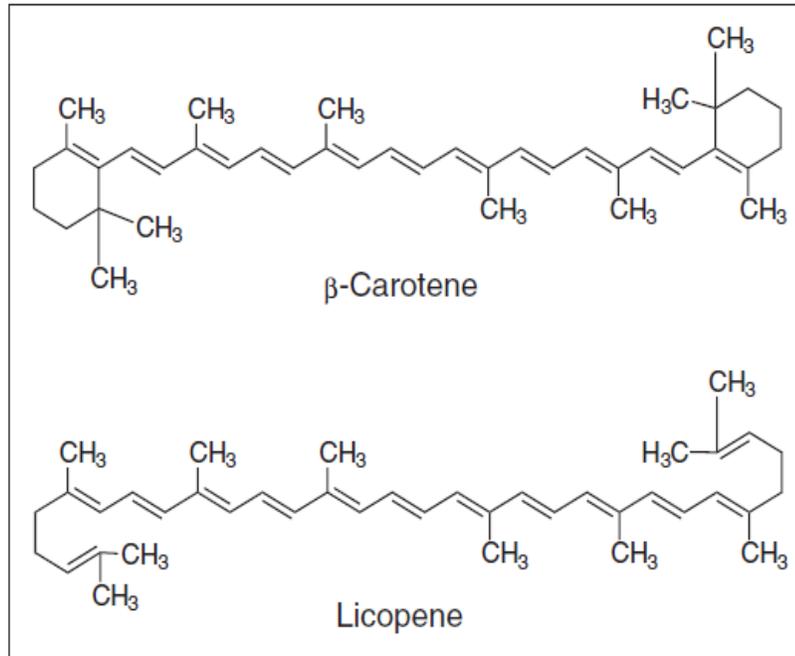


Figura 6.14
Struttura del β -carotene e del licopene (caroteni).

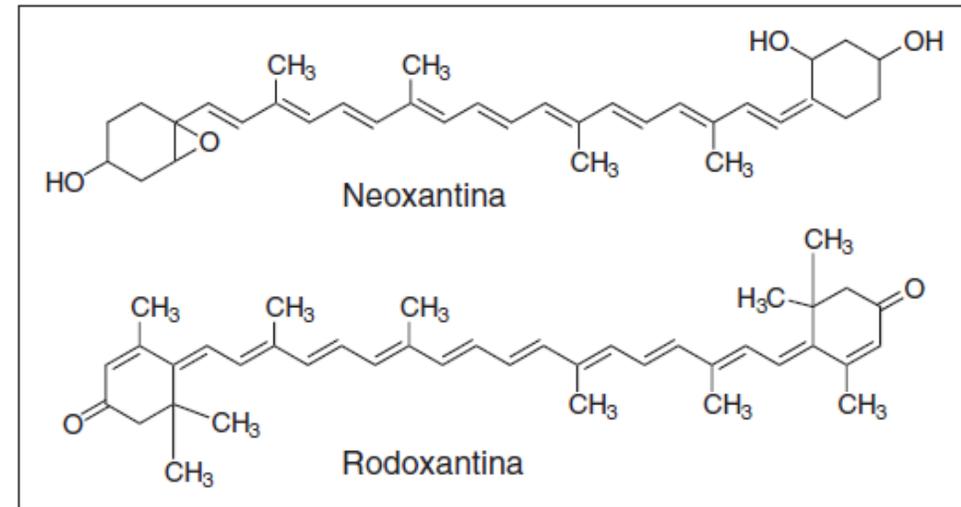
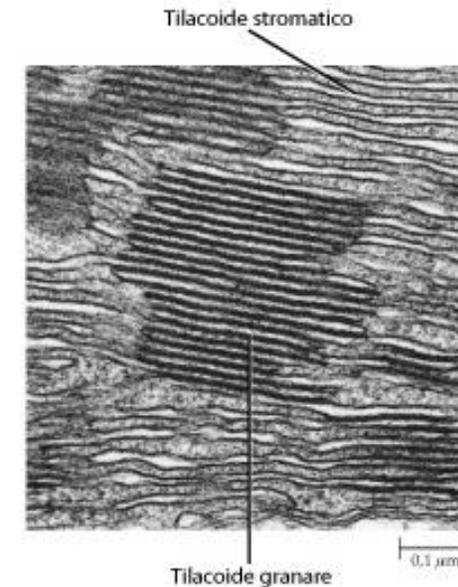
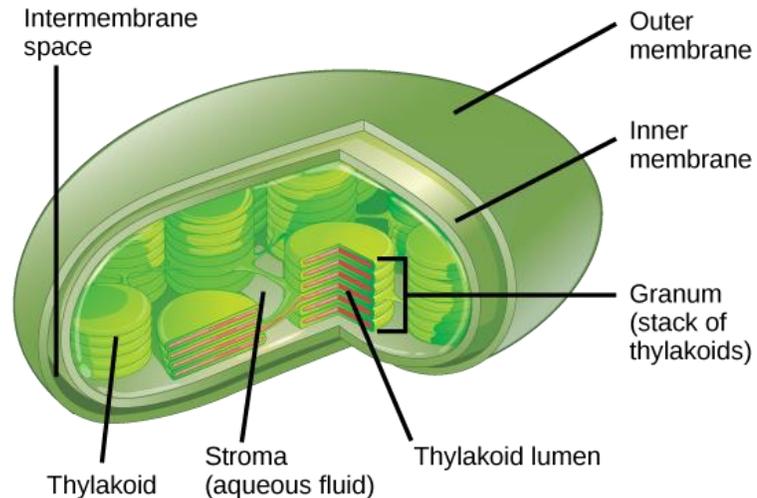
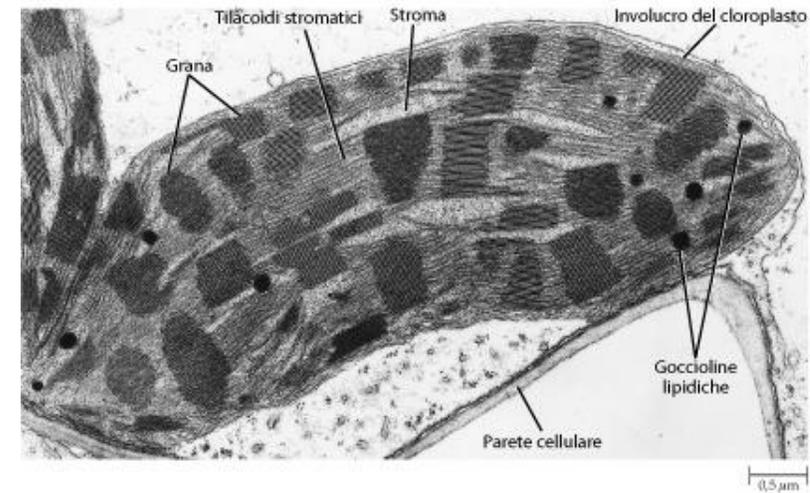


Figura 6.15
Struttura della neoxantina e della rodoxantina (xantofille).

I CLOROPLASTI

La membrana interna si inflette a formare dei sacchetti appiattiti, immersi in una matrice (**stroma**), detti **tilacoidi (granali)**, disposti in pile, i **grana**, collegati tra loro da tilacoidi stromatici (o intergranali).

Tutti i tilacoidi sono in continuità tra loro, e formano un sistema chiuso di membrane che racchiude una singola camera interconnessa chiamata **lume**.



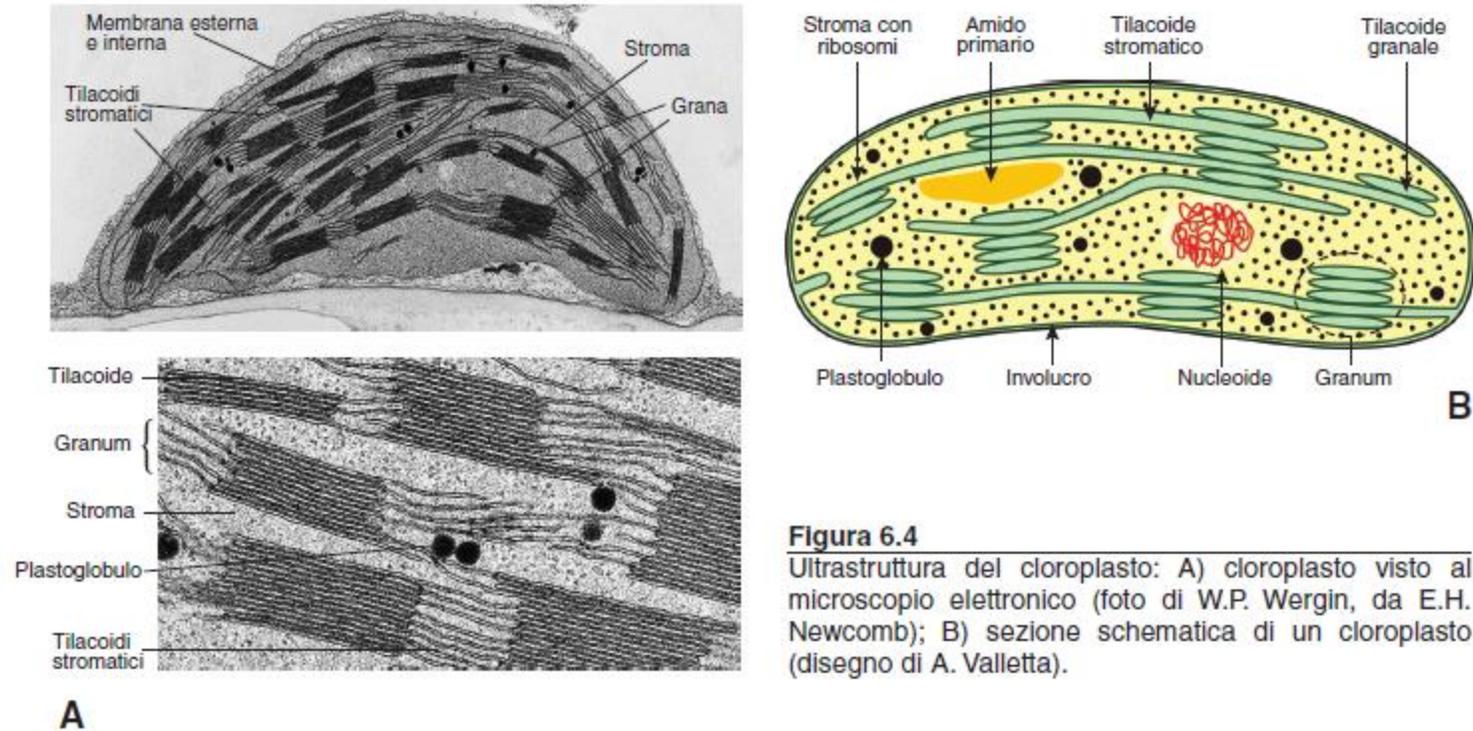
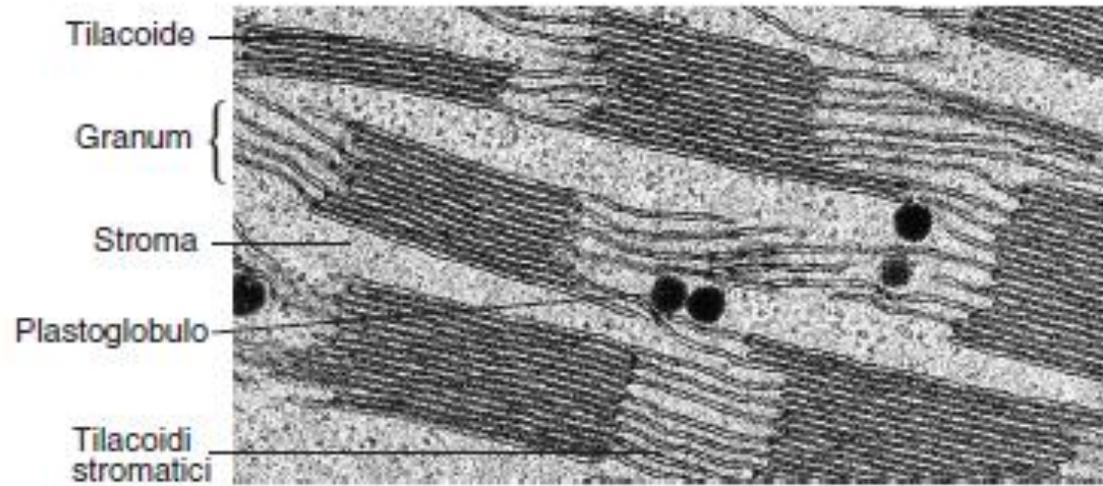


Figura 6.4
Ultrastruttura del cloroplasto: A) cloroplasto visto al microscopio elettronico (foto di W.P. Wergin, da E.H. Newcomb); B) sezione schematica di un cloroplasto (disegno di A. Valletta).

Sulle membrane dei tilacoidi granali e delle lamelle intergranali sono localizzati i pigmenti fotosintetici ed ha luogo la fase luminosa della fotosintesi; invece la fissazione e la riduzione della CO₂ a carboidrati (fase oscura) avviene grazie a degli enzimi localizzati nello stroma.



A

Plastoglobuli sono particolari goccioline lipidiche.

Una delle loro funzioni infatti è di mantenere la corretta conformazione dei tilacoidi.

Inoltre intervengono nella sintesi dei carotenoidi

LA FOTOSINTESI

I cloroplasti sono la sede del processo fotosintetico.

E' quel processo mediante il quale le cellule vegetali utilizzano l'energia luminosa per la sintesi dei carboidrati, con liberazione di ossigeno nell'atmosfera.

La prima tappa della conversione dell'energia luminosa in energia chimica consiste nell'assorbimento di luce grazie ai pigmenti.

Nelle piante superiori la fotosintesi è rappresentata dall'equazione:



La fotosintesi comporta la rottura dei legami H-O dell'acqua, la liberazione di ossigeno e la riduzione della CO₂ a carboidrati.

L'intero processo fotosintetico può essere diviso in due fasi.

La prima, detta fase luminosa, consiste nella captazione dell'energia luminosa da parte dei pigmenti fotosintetici e nella sua conversione nell'energia chimica dell'ATP e del NADPH₂. L'equazione generale della prima fase è:



MEMBRANE DEI TILACOIDI

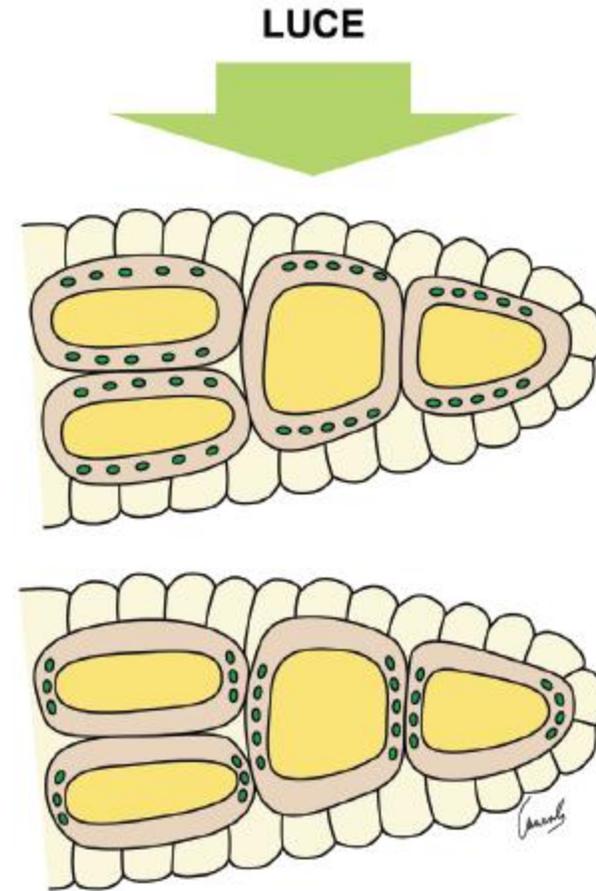
STROMA

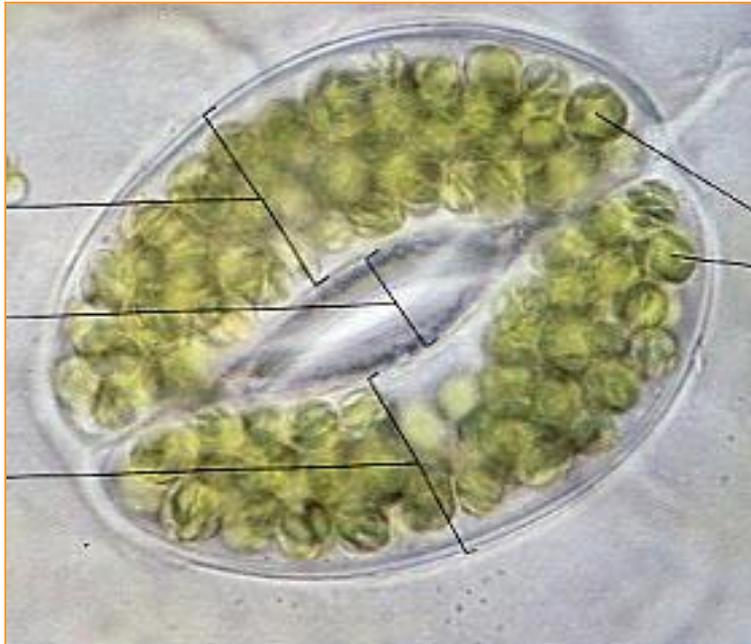
Nella seconda, detta fase non luminosa o fase buia (perchè non richiede la presenza della luce), i prodotti ricchi di energia della prima fase, NADPH₂ e ATP, vengono utilizzati come fonte di energia per la riduzione della CO₂ e la produzione di carboidrati. L'equazione della seconda fase è:



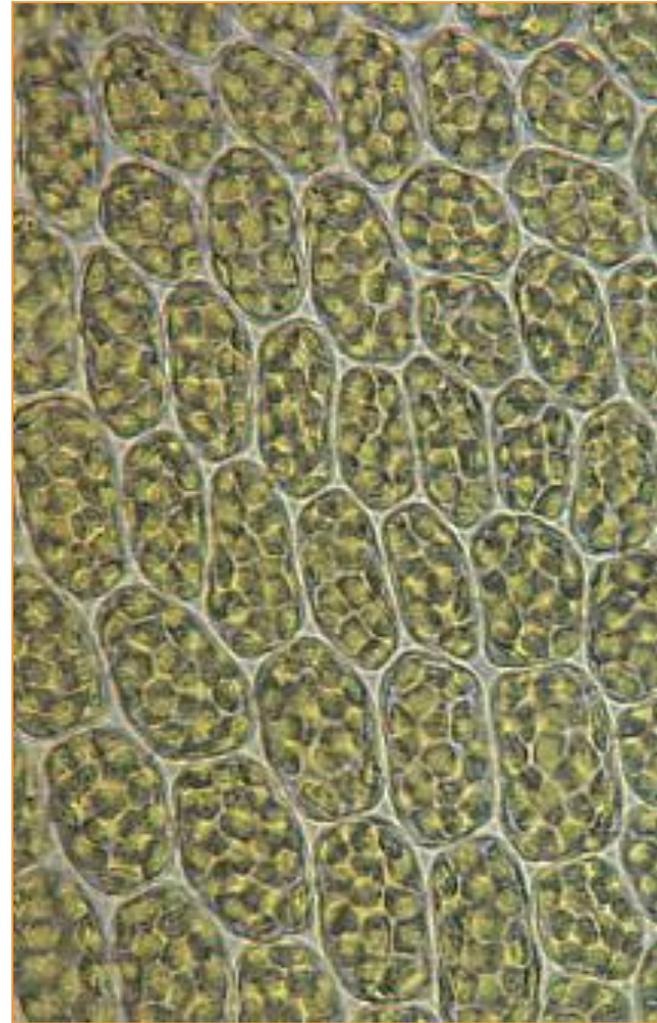
Figura 6.3

In molte piante i cloroplasti possono spostarsi indipendentemente gli uni dagli altri. Quando l'illuminazione è moderata, i cloroplasti si dispongono in modo che l'asse maggiore sia parallelo alle pareti direttamente colpite dalla luce (in alto); quando la luce è eccessiva si dispongono con asse maggiore parallelo ai raggi solari (in basso).





Cellule di guardia degli stomi, con numerosi cloroplasti.



Fogliolina di muschio con numerosi cloroplasti discoidali.

I LEUCOPLASTI

Sono privi di pigmenti e servono come depositi di sostanze di riserva come globuli lipidici (elaioplasti) e proteine (proteinoplasti). Dopo l'esposizione alla luce, possono però trasformarsi in cloroplasti.



foglia di *Zebrina*:
leucoplasti raggruppati
intorno al nucleo

GLI AMILOPLASTI

Alcuni annoverano gli amiloplasti tra i leucoplasti, perché privi anch'essi di pigmenti. Essi sono sito di accumulo di amido.

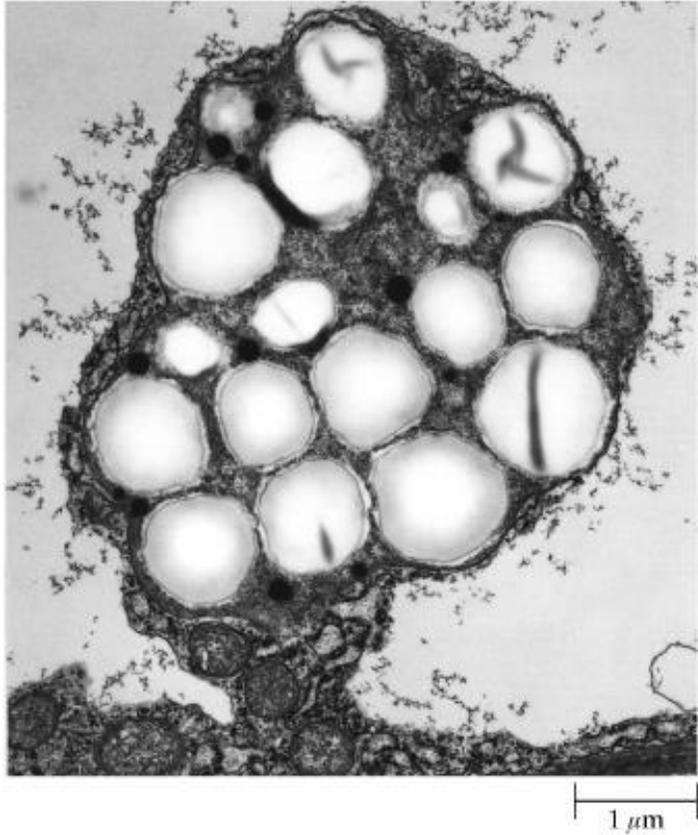
Gli zuccheri prodotti in eccesso durante il giorno vengono trasformati in amido primario, accumulato nello stroma del cloroplasto. Di notte esso viene idrolizzato in zuccheri solubili, in parte utilizzato per il fabbisogno metabolico delle cellule, in parte traslocato in siti di accumulo ed immagazzinato nello stroma come amido secondario negli amiloplasti.

Negli amiloplasti maturi l'amido si accumula progressivamente intorno ad un centro di accumulo, l'**ilo**, in strati concentrici.

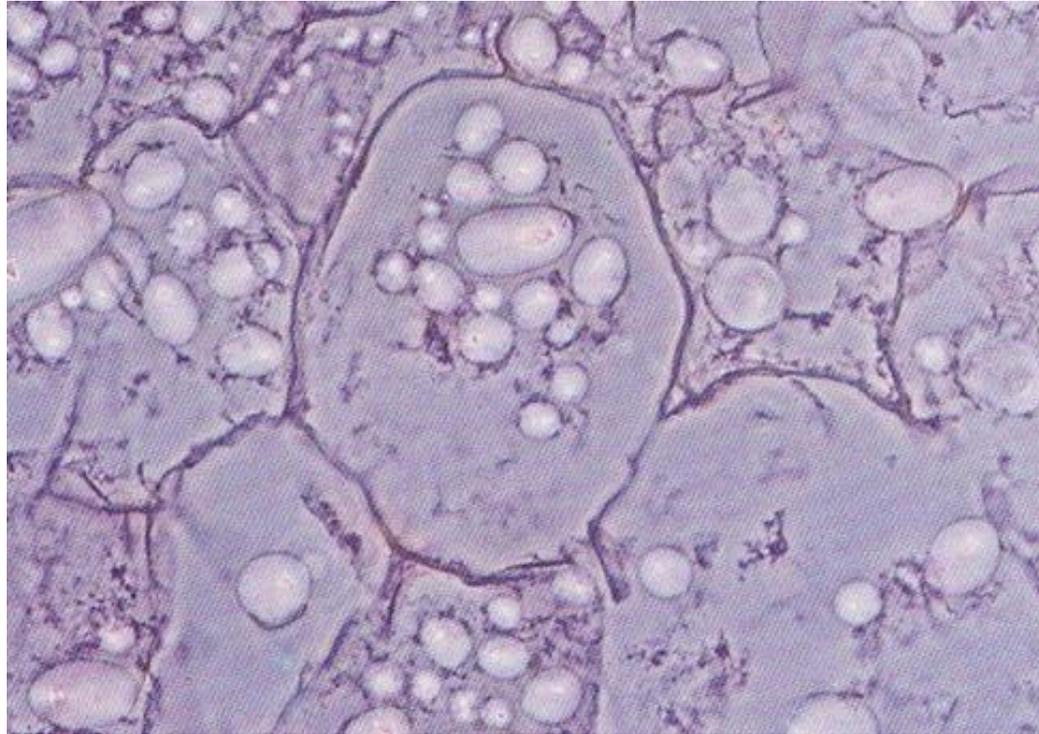
L'ilo può occupare una posizione centrale od essere eccentrico.



Amiloplasti in foglie di soia: granuli di amido (i corpi chiari) e gocce lipidiche (i punti piccoli e scuri)



Dopo esposizione alla luce, gli amiloplasti possono trasformarsi in cloroplasti.



Sezione di tubero di patata.
Amiloplasti con granuli di amido secondario.

Nella cuffia radicale gli amiloplasti funzionano come **statoliti**, sono cioè coinvolti nella percezione della gravità.

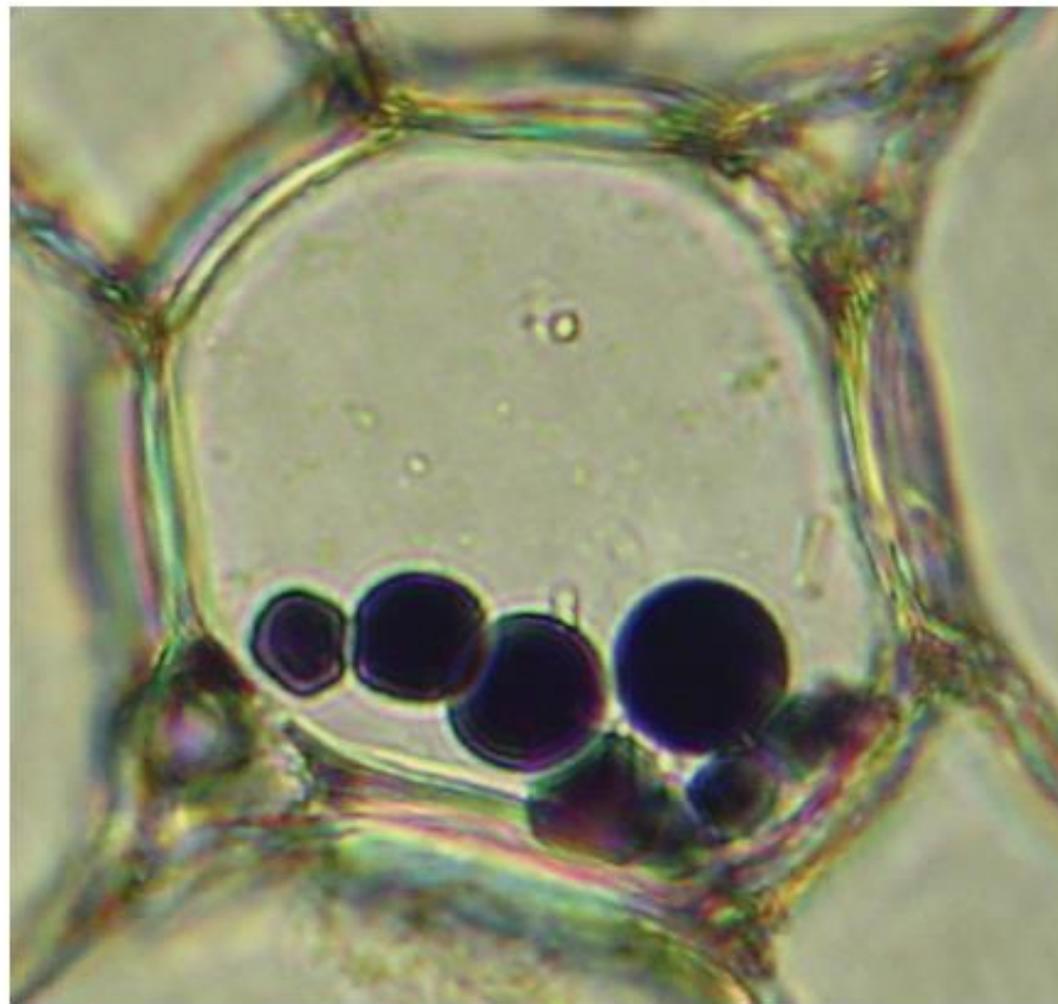


Figura 6.9

Cellula del parenchima midollare del fusto di ricino (*Ricinus communis*) in cui sono evidenti degli amiloplasti, colorati in azzurro-viola con iodo-ioduro (osservazione di A. Valletta e G. Pasqua).

CROMOPLASTI

I cromoplasti sono privi di clorofilla ma sintetizzano ed accumulano pigmenti carotenoidi che sono i responsabili del colore rosso, arancione, giallo di molti fiori, foglie senescenti e di alcuni frutti e radici.

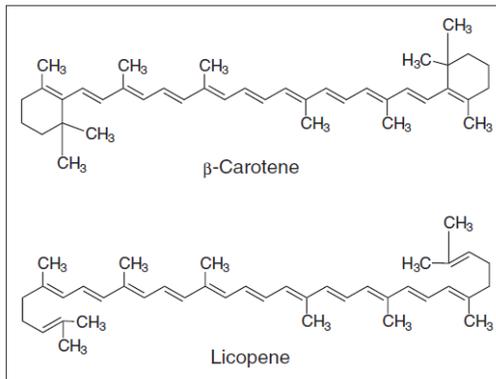


Figura 6.14
Struttura del β -carotene e del licopene (caroteni).

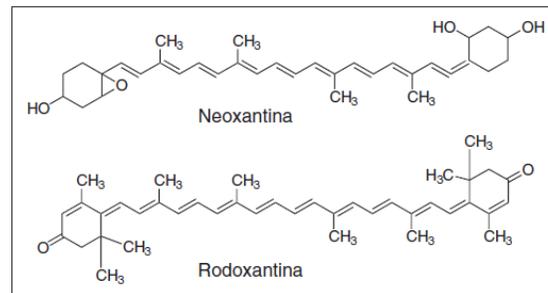


Figura 6.15
Struttura della neoxantina e della rodoxantina (xantofille).



Talvolta i cromoplasti possono presentare delle membrane interne, ma mancano di un sistema tilacoidale vero e proprio.

Possono derivare da cloroplasti, per degradazione della clorofilla e comparsa di carotenoidi, come nel caso del peperone; ma possono anche derivare da protoplastidi e leucoplastidi.

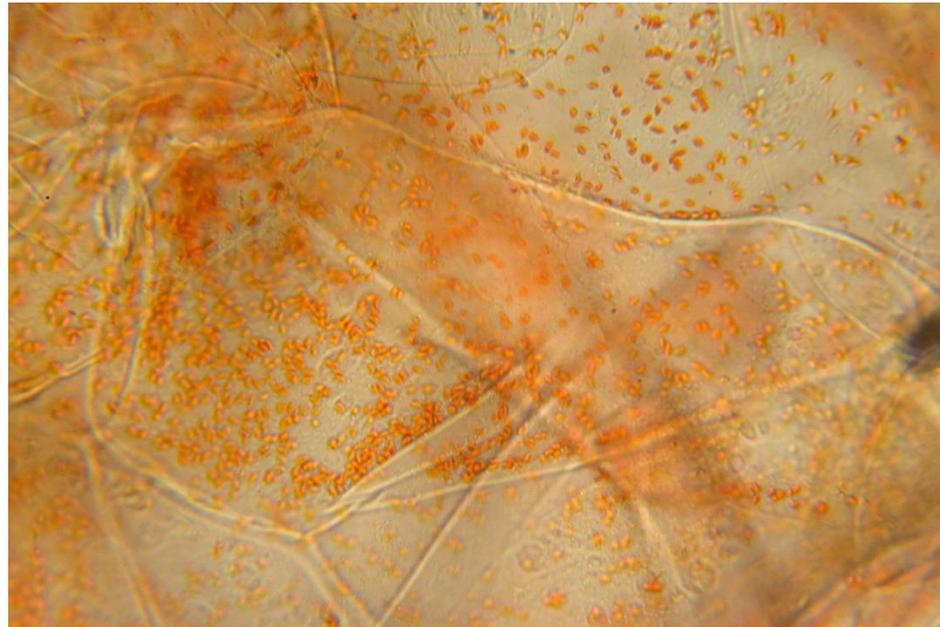


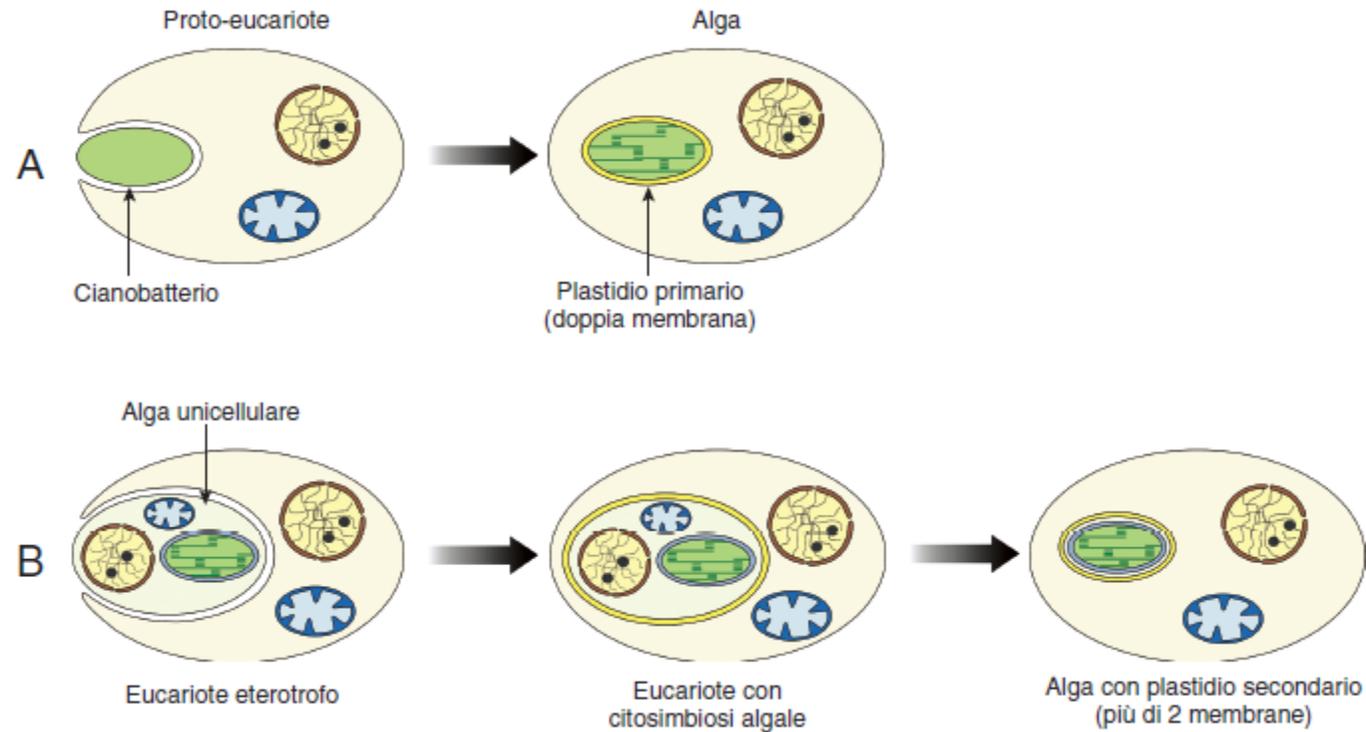


Figura 6.8

La maturazione del peperone (*Capsicum annuum*) (A) si accompagna alla conversione dei cloroplasti (B) in cromoplasti (C) (osservazione di A. Valletta e G. Pasqua).

Origine dei plastidi

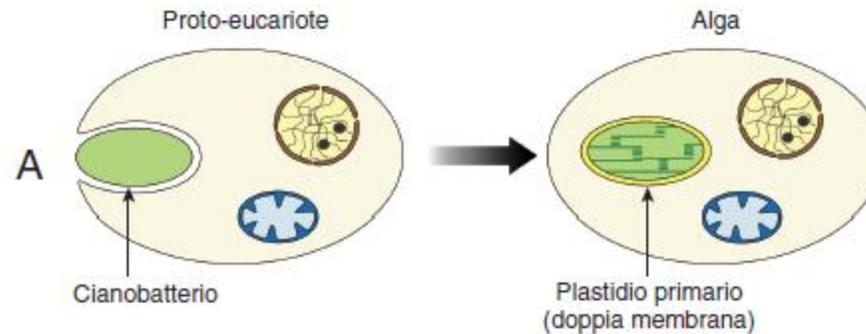
Secondo la teoria endosimbiotica, la più accreditata, il cloroplasto si sarebbe originato da un processo di fagocitosi di una cellula autotrofa da parte di un organismo eterotrofo ameboide. Tale ipotesi è supportata dalla presenza nei cloroplasti di un genoma autonomo, di ribosomi di tipo procariotico e da una loro riproduzione per scissione binaria e dalla presenza di una doppia membrana.



ORIGINE DEI PLASTIDI

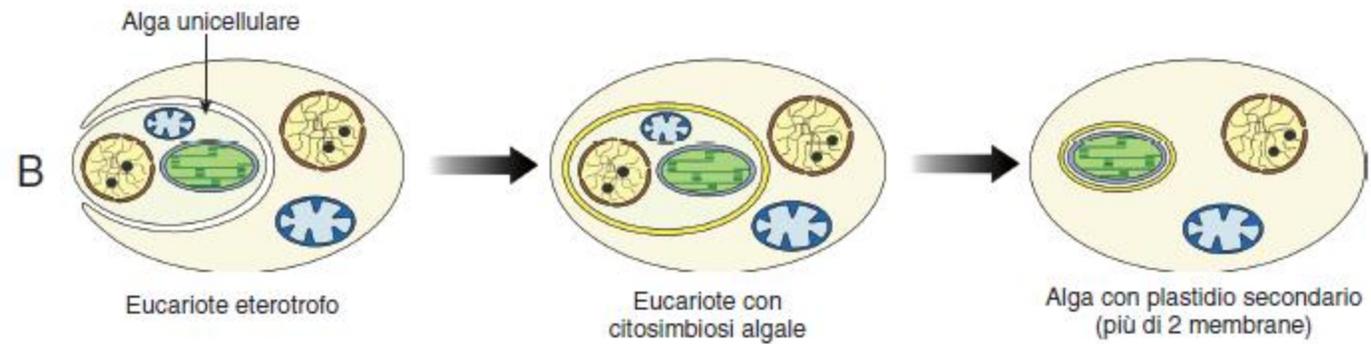
Due sono attualmente le ipotesi dell'origine dei cloroplasti delle piante al vaglio degli scienziati.

Ipotesi A) una primitiva cellula eucariotica (proto-eucariote) fagocita un cianobatterio; il cianobatterio si evolverà in un cloroplasto delimitato da una doppia membrana ed il proto-eucariote in un'alga (endosimbiosi primaria);



ORIGINE DEI PLASTIDI

Ipotesi B) Una cellula eucariotica fagocita non più un semplice cianobatterio, ma direttamente un'alga unicellulare. Gli organuli dell'alga degenerano e del simbionte fagocitato rimarrà un solo cloroplasto, delimitato da una membrana pluristratificata (endosimbiosi secondaria)



Questa seconda ipotesi sembra essere quella più accreditata dalle più recenti indagini ultrastrutturali e genetiche.