



Lezione 14: i batteri fototrofi anossigenici

PROF. STEFANO DUMONTET – DOTT.SSA ROSA ANNA NASTRO



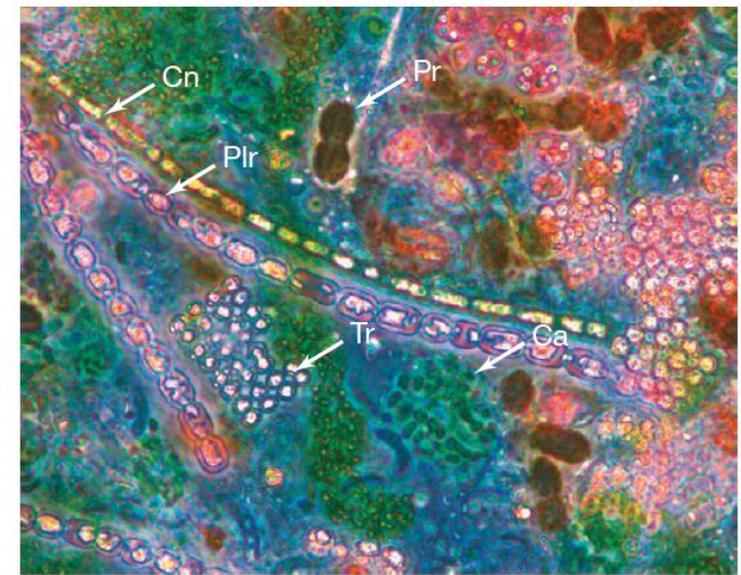
T.D. Brock

(a)



Jörg Overmann

(b)

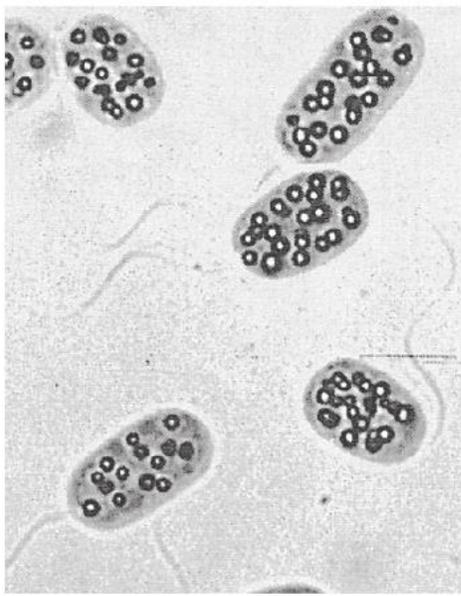


Jörg Overmann

(c)

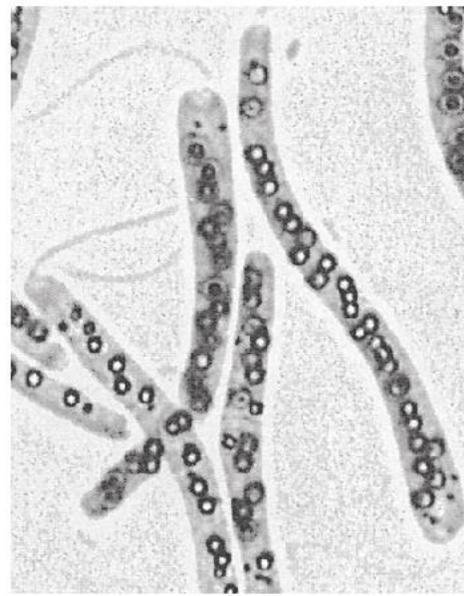
Figura 15.9 Fototrofi anossigenici caratteristici di ambienti acquatici. Le acque di falda che scorrono attraverso rocce sedimentarie possono apportare minerali contenenti zolfo nei laghi e negli stagni. (a) Sono qui rappresentati batteri rossi sulfurei, come *Lamprocystis roseopersicina*, in crescita sui sedimenti di una pozza di risorgiva e con la tendenza a galleggiare verso la superficie, grazie alle vescicole gassose presenti all'interno delle cellule, quando disturbati. Il colore porpora è dovuto ai fotopigmenti dei batteri rossi sulfurei, mentre il colore verde è dovuto alla presenza di cellule dell'alga *Spirogyra*. (b) Campione d'acqua prelevato a una profondità di 7 m nel Lago Mahoney (British Columbia). Il fototrofo prevalente in queste acque è il batterio rosso sulfureo *Amoebobacter purpureus*. Questi fototrofi crescono in forma di una densa nuvola color porpora a livello del chemocline (interfaccia tra strati lungo il gradiente verticale delle acque lacustri

caratterizzato da una significativa e rapida variazione delle proprietà chimiche), dove l'acqua del fondale ricca di solfuri riceve luce dalla superficie. (c) Microfotografia a contrasto di fase di un campione d'acqua proveniente dal chemocline del Lago Dagow (Germania), contenente una varietà di batteri rossi e verdi sulfurei. Abbreviazioni: Tr, *Thiopedia rosea* (appartenente ai batteri rossi sulfurei); Ca, cellule di batteri verdi sulfurei parzialmente disaggregate dal consorzio fototrofo "*Chlorochromatium aggregatum*" (si veda il Paragrafo 15.6); Cn, *Chloronema sp.* (appartenente ai batteri verdi non sulfurei, si veda il Paragrafo 15.7); Pr, "*Pelochromatium roseum*" (un consorzio fototrofo, ► Paragrafo 23.2); Plr, *Planktothrix rubescens* (cianobatteri, si veda il Paragrafo 15.3). La presenza di vescicole gassose (◀ Paragrafo 2.7) all'interno delle cellule di Tr, Cn e Plr che conferiscono a queste un aspetto rifrangente. Ciascuna cellula di Cn è lunga circa 5 µm.



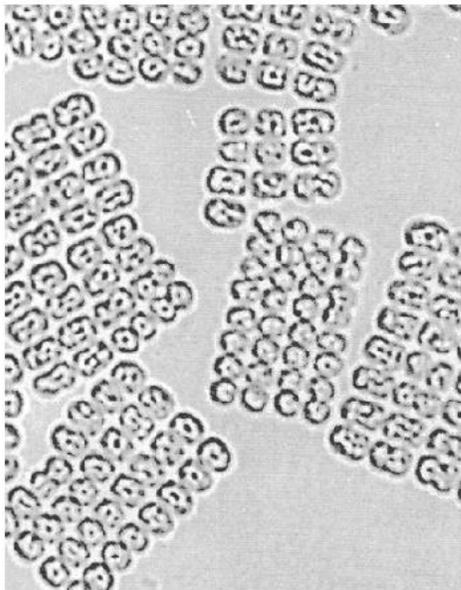
Norbert Pfennig

(a)



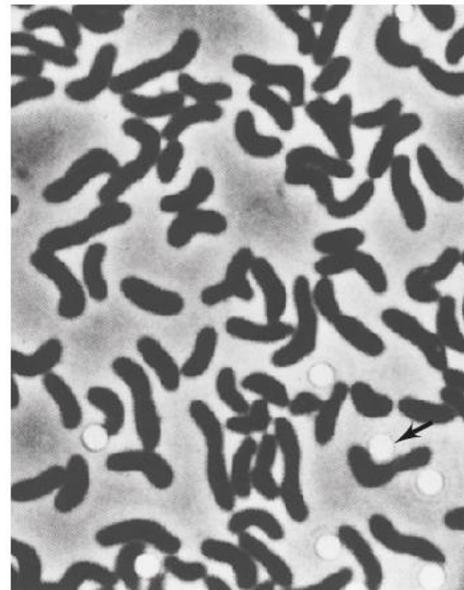
Norbert Pfennig

(b)



Norbert Pfennig

(c)



Johannes F. Imhoff

(d)

Figura 15.10 Microfotografie in campo chiaro e a contrasto di fase di batteri rossi sulfurei. (a) *Chromatium okenii*, le cui cellule sono larghe circa $5\ \mu\text{m}$. Si notino i granuli di zolfo elementale all'interno delle cellule. (b) *Thiospirillum jenense*, spirillo di dimensioni cospicue, dotato di un unico flagello polare e le cui cellule hanno una lunghezza di circa $30\ \mu\text{m}$. (c) *Thiopedia rosea*, le cui cellule sono larghe circa $1,5\ \mu\text{m}$. (d) Micrografia a contrasto di fase di cellule di *Ectothiorhodospira mobilis*. Le cellule di questo batterio sono larghe circa $0,8\ \mu\text{m}$. Si notino all'esterno delle cellule (indicati dalla freccia) granuli di zolfo elementale.



Norbert Pfennig

Figura 15.12 Fotografia di colture liquide di batteri rossi fototrofi le cui diverse colorazioni sono riferibili a specie contenenti differenti pigmenti carotenoidi. Tutte le specie contengono batterioclorofilla *a*. La coltura azzurra è quella corrispondente a un mutante privo di carotenoidi della specie *Rhodospirillum rubrum*, dalla quale appare evidente come la batterioclorofilla *a* sia in realtà di colore blu. La bottiglia all'estrema destra (contenente *Rhodobacter sphaeroides*, ceppo G), con cellule prive di uno dei carotenoidi tipico del ceppo selvatico, si mostra con toni meno tendenti al rosso e più orientati al verde.

I batteri fotosintetici anossigenici

Chloroflexaceae

Presenti solo
in acque calde
termali

- batteri verdi non sulfurei
- alcune specie sono anaerobie strette, altre sono aerobie facoltative
- fotosintetici facoltativi (MIXOTROFI)
- foto-ossidano H_2S (solo a basse concentrazioni) e foto-ossidano in anaerobiosi composti organici
- alcune specie possono ossidare al buio composti organici
- IMMOBILI

Chlorobiaceae

- batteri verdi sulfurei
- rigorosamente anaerobi
- foto-ossidano HS^- , S , SO_3^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$
- IMMOBILI

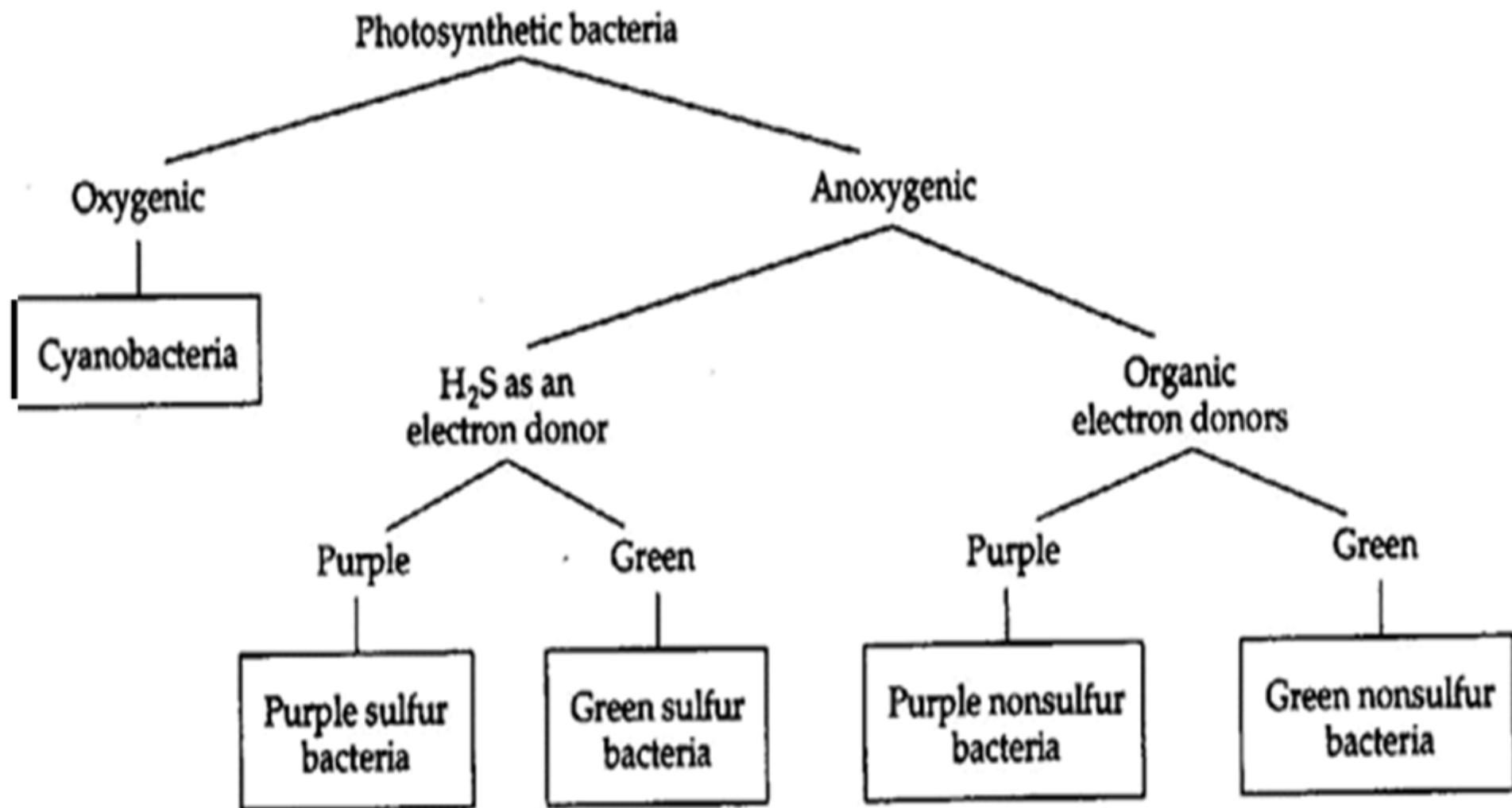
I batteri fotosintetici anossigenici

Chromatiaceae

- batteri rossi
- sulfurei rigorosamente anaerobi
- foto-ossidano HS^- , SO_3^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$
- MOBILI

Rhodospirillaceae

- batteri rossi non sulfurei
- fotosintetici facoltativi (MIXOTROFI)
- aerobi-anaerobi facoltativi
- foto-ossidano molti aminoacidi, acidi organici, alcoli, zuccheri
- MOBILI



Phototrophic Prokaryotes

Anoxic Photosynthesis

Oxygenic

Purple

Green

Blue-green

Non Sulfur

Sulfur

Non Sulfur

Sulfur

Cyanobacteria

Rhodospirillum
Rhodopseudomonas
Rhodobacter
Rhodocyclus
Rhodomicrobium
Heliobacterium

Thiospirillum
Chromatium
Thiocapsa
Amoebacter
Thiopedia
Ectothiorhodospira

Chloroflexus

Chlorobium
Prosthecochloris
Pelodictyon
"Chlorochromatium"
"Pelochromatium"

Anabaena
Oscillatoria
Spirulina

Le diverse famiglie dei batteri fotosintetici si distinguono anche per alcune caratteristiche di struttura e di composizione dei pigmenti fotosintetici.

Chloroflexaceae
Chlorobiaceae { batterioclorofilla c, d e piccole quantità di batterioclorofilla a
spettro di assorbimento :700-800nm

Chromatiaceae
Rhodospirillaceae { batterioclorofilla a o b e molti carotenoidi.
spettro di assorbimento 800 ÷ 900 nm

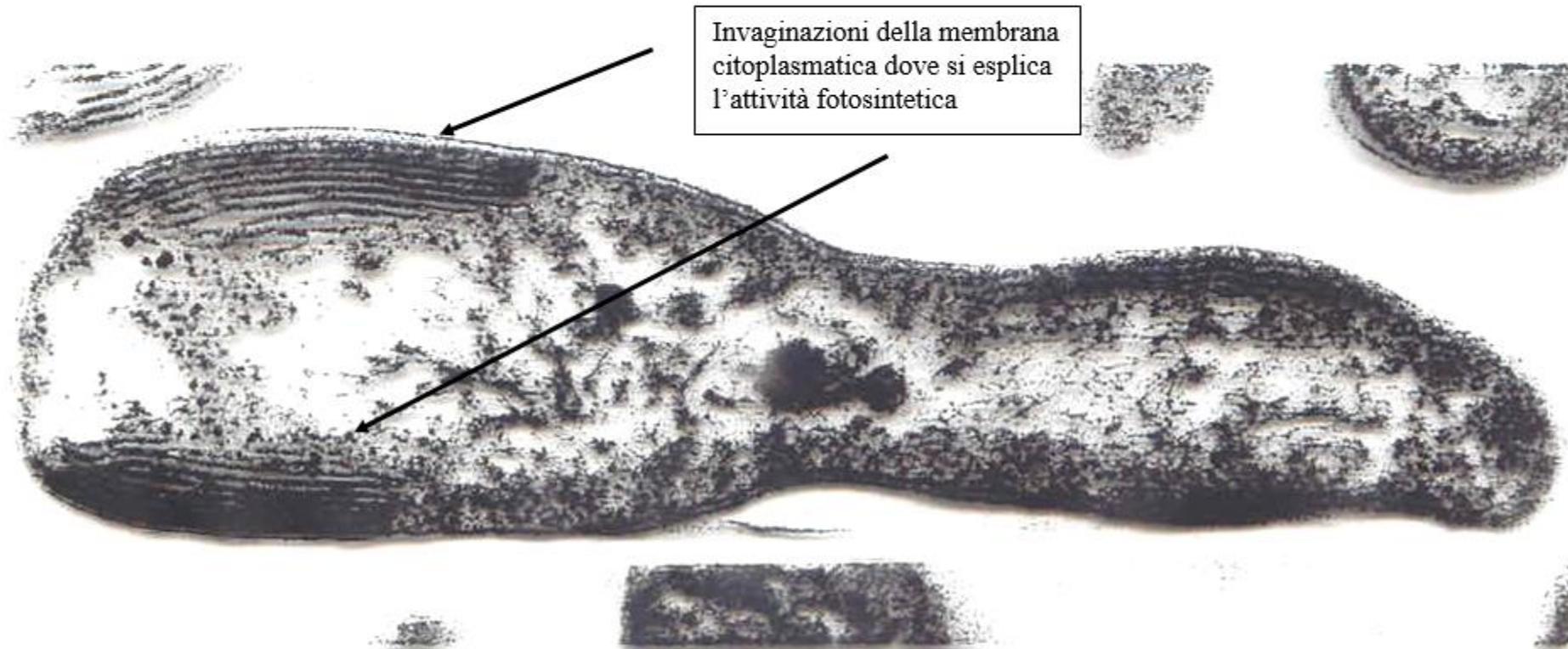
Globalmente i vari microrganismi fotosintetici acquatici formano un insieme che utilizza lo spettro di luce visibile e parte dell'infrarosso, un insieme in cui le differenti posizioni dello spettro sono utilizzate dai diversi gruppi in modo selettivo e non competitivo.

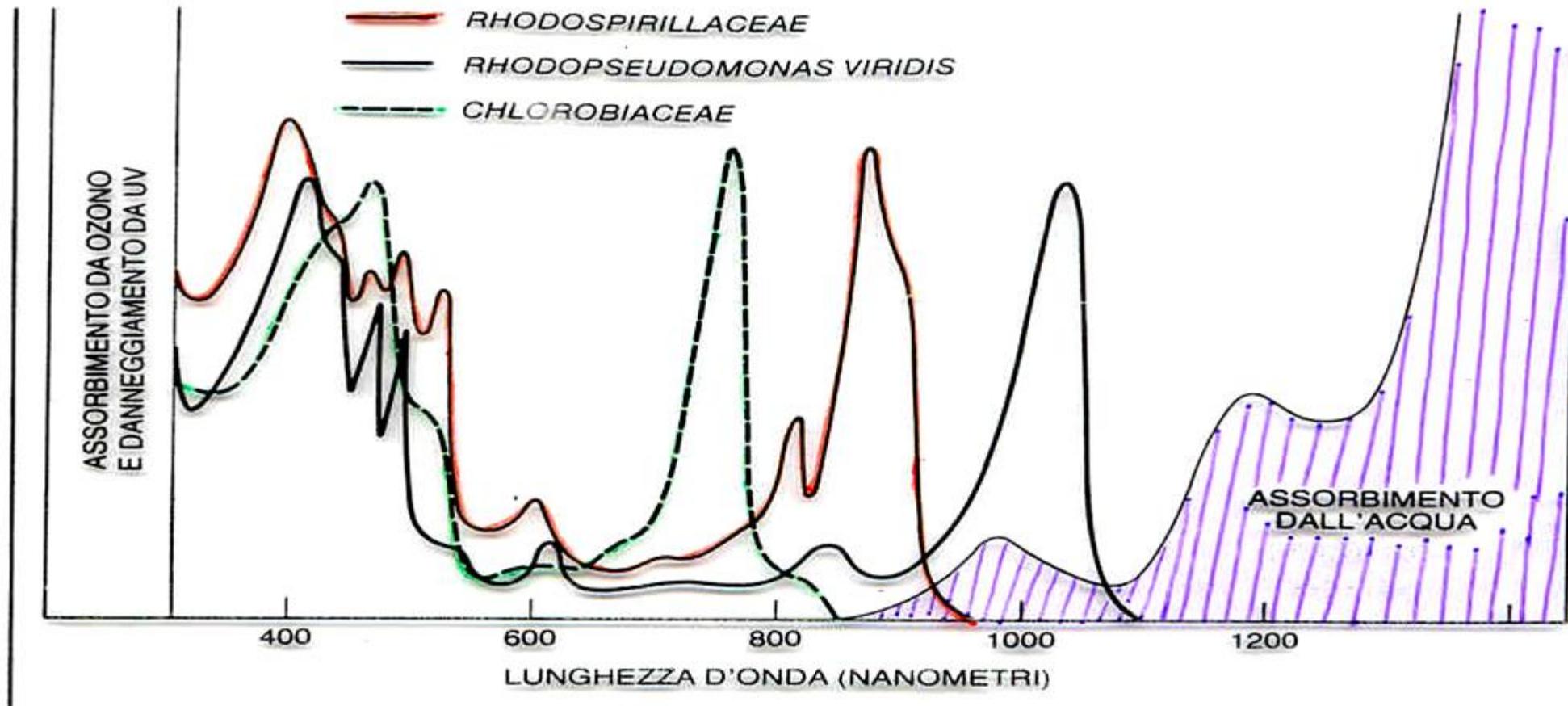
La struttura dell'apparato fotosintetico di questi batteri e' molto varia. Essa e' comunque sempre formata da membrane originate da invaginazioni della membrane esterna. Su queste membrane sono localizzati i pigmenti e gli enzimi della fotosintesi.

Vescicole di *Chlorobium* → clorosomi, monostrato lipidico addossato alla membrana esterna

Ficobilisomi → corpuscoli proteici contenenti ficobiline ed addossati alla membrana.

Micrografia elettronica a trasmissione (ingrandimento 65.000 x) di una cellula di *Rhodopseudomonas palustris* (una Rhodospirillacea).





Lo spettro di assorbimento dei pigmenti presenti nelle membrane dei tra diversi tipi di batteri fotosintetici mette in evidenza gli intervalli di lunghezza d'onda utilizzati per l'attività fotosintetica. Le bande di assorbimento fra i 400 e 500 nm ove assorbono le batterioclorofille ed i carotenoidi, non sono molto diversi tra loro, le bande nell'infrarosso differiscono notevolmente ed utilizzano zone dello spettro non assorbite dall'acqua né usate da altri organismi fotosintetici. *Rhodopseudomonas viridis*, una rodospirillacea che contiene batterioclorofilla *b*, utilizza lunghezze d'onda di circa 1050 nm, all'estremo limite dello spettro disponibile per gli organismi fotosintetici acquatici.

La fotoreduzione dell' NADP^+ da parte dell'acqua può essere considerata come l'inversione metabolica della respirazione.

Energia rilasciata dalla respirazione \rightarrow 1,14 mV pari a 50 kcal / mole NADPH ossidato

Il potenziale di ossidazione dei riducenti utilizzati dai batteri fotosintetici anossigenici è molto meno positivo della coppia $\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$ utilizzata nella fotosintesi ossigenica.

- **$\text{S} + 2\text{H}^+ / 2\text{H}_2\text{S} \rightarrow -250 \text{ mV}$**
- **malato/piruvato $\rightarrow -350 \text{ mV}$**
- **$2\text{H}^+ / \text{H}_2 \rightarrow -420 \text{ mV}$**

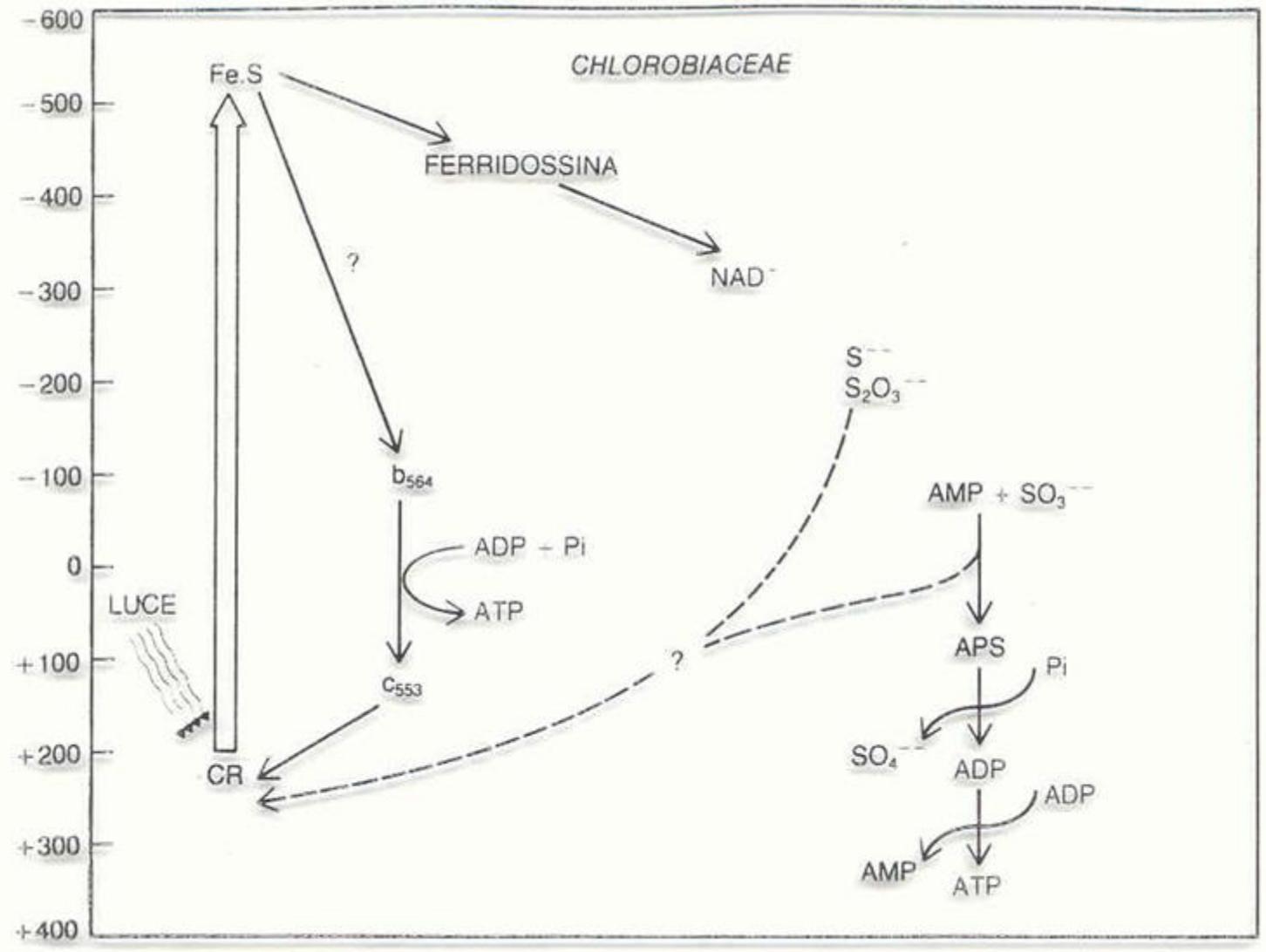
Gli elettroni estratti da questi substrati vengono convogliati enzimaticamente verso il centro di reazione fotosintetica. Il trasferimento è termodinamicamente favorito ed avviene spontaneamente e non è necessario un secondo fotosistema.

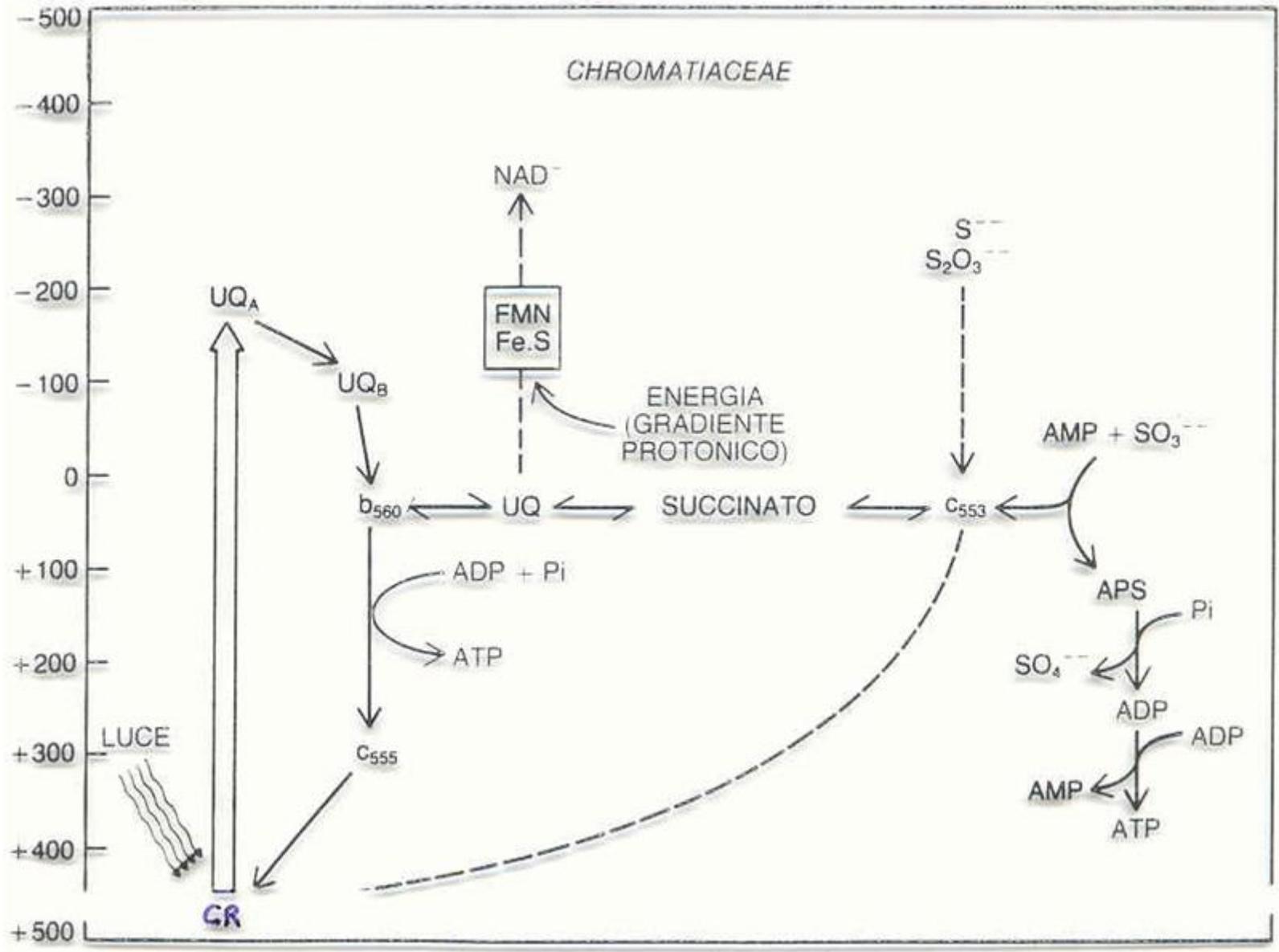
Opportuni sistemi enzimatici di ossido-riduzione sottraggono elettroni ai substrati ridotti e li trasportano al centro di reazione fotosintetico, che ha un potenziale variabile tra +250 e +500 mV.

A questo punto interviene una reazione fotocatalitica che trasferisce questi elettroni all'accettore primario del centro di reazione, caratterizzato da un potenziale considerevolmente più elettronegativo.(da -40 a -400 mV).

Chlorobiaceae { il potenziale dell'accettore primario del centri di reazione ha un potenziale $< -400\text{mV}$. E' possibile la riduzione di NAD^+ senza ulteriore somministrazione di energia.

Rhodospirillaceae { il potenziale dell'accettore primario del centro di reazione ha un potenziale di $\sim -200\text{mV}$. Non e' possibile la riduzione di NAD^+ senza ulteriore somministrazione di energia.
Chromatiaceae





Nelle due figure precedenti è riportato lo schema del meccanismo della fotosintesi dei batteri sulfurei. Gli enzimi di ossidoriduzione noti sono indicati in corrispondenza del loro potenziale di ossido-riduzione. Nella *Chromatiaceae* l'accettore primario di elettroni è un ubichinone e pertanto la riduzione del NAD^+ avviene mediante l'inversione della NADH deidrogenasi a spese del gradiente di protoni. Nelle *Chlorobiaceae* la riduzione del NAD^+ è diretta e mediata dalla ferredossina. Il flusso ciclico di elettroni, molto più noto per le *Chromatiaceae* che per le *Chlorobiaceae*, è accoppiato alla sintesi di ATP.

L'ossidazione del solfito, catalizzata dalla adenilfosfosolfato (APS) riduttasi, porta alla sintesi di una seconda molecola di ATP (1/2 ATP per SO_3^{2-} ossidato) in seguito allo spostamento del solfato da parte del fosfato ed alla successiva transfosforilazione tra due ATP.

UTILIZZAZIONE PRODOTTI PRIMARI DELLA FOTOSINTESI

NADH e ATP sono i 2 principali prodotti della fotosintesi.

Principale compito della fotosintesi e' la riduzione della CO₂ (organicazione della CO₂) che viene realizzata grazie al ciclo di Calvin od al ciclo degli acidi tricarbossilici

Chromatiaceae }
Rhodospirillaceae } Ciclo di Calvin

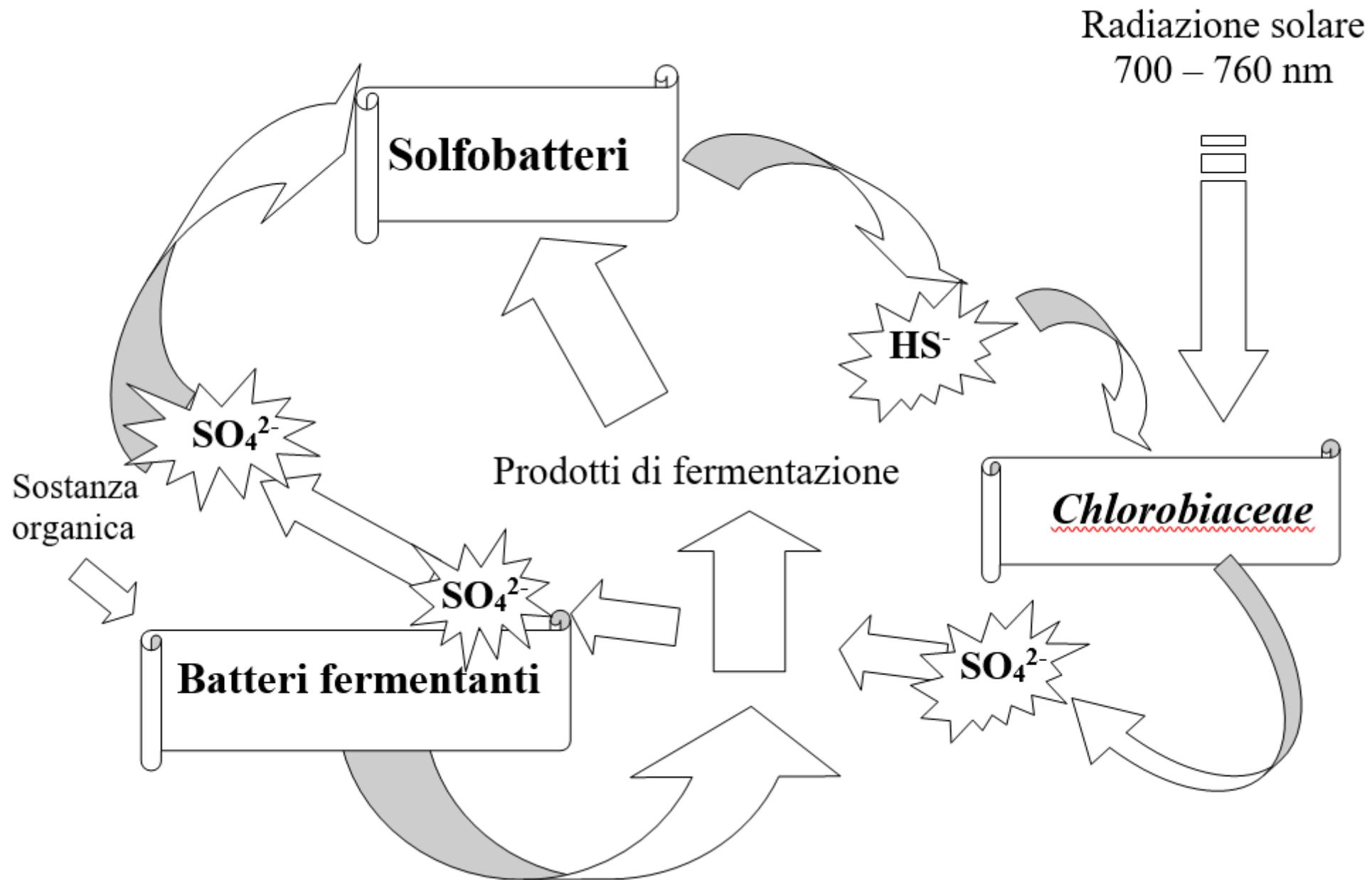
Chlorobiaceae → Ciclo riduttivo degli acidi tricarbossilici

Le Chlorobiaceae mancano di alcuni enzimi chiave del ciclo di Calvin .

Oltre alla riduzione della CO₂ la fotosintesi batterica è utilizzata per:

- Riduzione NO₃⁻ ; SO₄²⁻ ; N₂

- Rhodospirillaceae e Chromatiaceae sono, infatti, in grado di fissare l'azoto atmosferico. Insieme ai cianobatteri sono gli unici procarioti capaci di crescere autotroficamente in assenza di fonti di azoto e **rappresentano un componente essenziale del ciclo dell'N nella biosfera.**



Chromatiaceae (batteri rossi sulfurei)

Organismi mobili, fotosintetici, utilizzatori di HS^- ; SO_3^{2-} ; $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, assorbono 800 ÷ 900 nm.

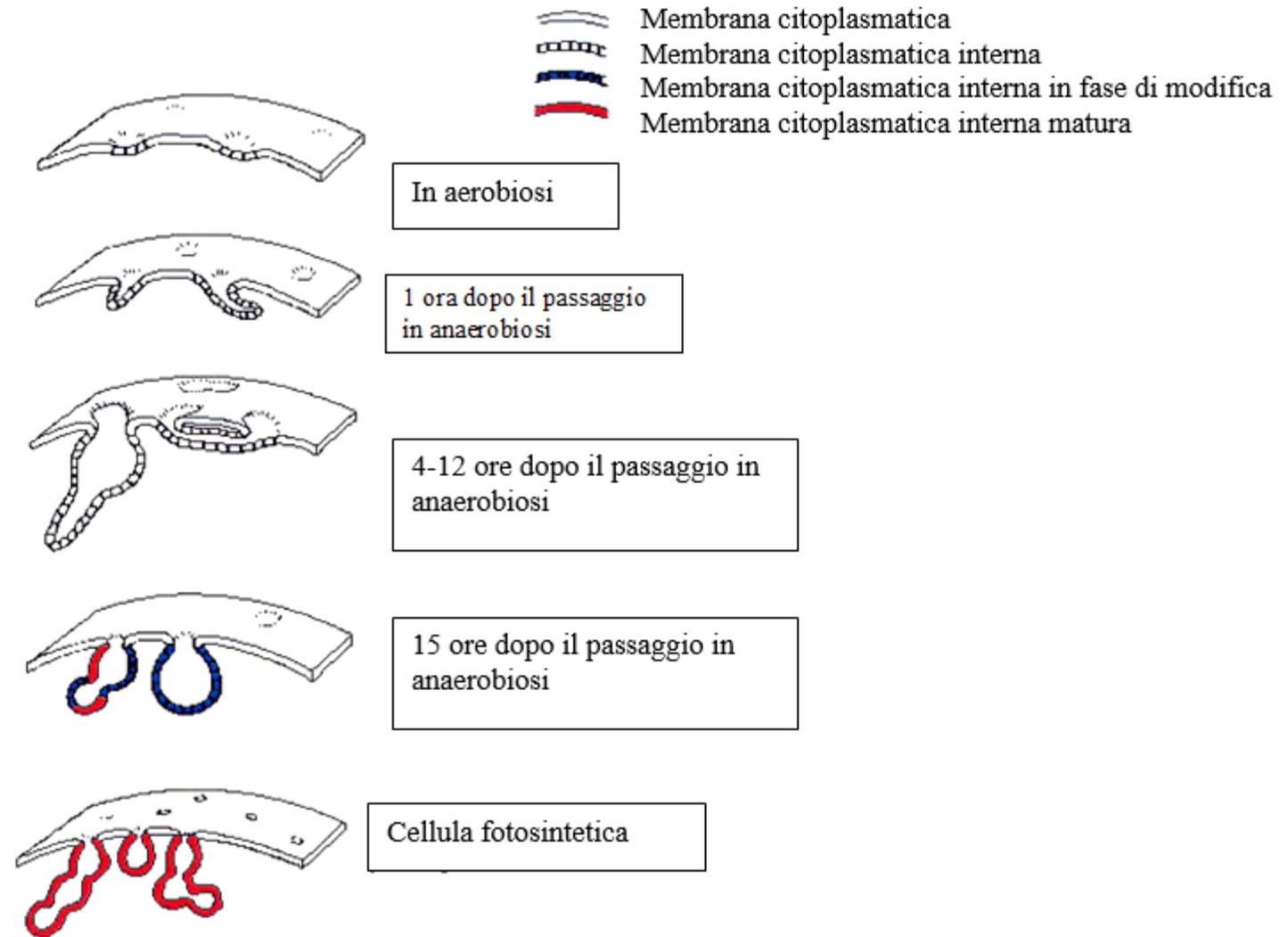
Migrano nelle acque stagnanti nell'arco delle 24 ore in risposta al gradiente di energia luminosa proveniente dall'alto e dalla concentrazione di H_2S che viene dal basso.

Rhodospirillaceae (batteri rossi non sulfurei)

Organismi mobili, fotosintetici, aerobi-anaerobi facoltativi, utilizzatori di acidi organici, zuccheri, aminoacidi, alcoli e solo eccezionalmente di composti solforati. Assorbono a 800 ÷ 900 nm.

Sono capaci di crescere al buio ossidando aerobicamente composti ridotti del carbonio.

Abitano la fascia di transizione fra le acque ossigenate ed anaerobiche e sono sempre in associazione con batteri aerobi decompositori che li approvvigionano di molecole organiche semplici.



Modificazioni morfologiche della membrana interna di *Rhodospirillum rubrum* (Rhodospirillaceae) dopo il passaggio in anaerobiosi. *R. rubrum* ossida substrati organici in aerobiosi, ma sviluppa un apparato fotosintetico quando vive in anaerobiosi.

NICCHIA ECOLOGICA OCCUPATA DAI BATTERI FOTOSINTETICI

I batteri fotosintetici utilizzano i prodotti finali del metabolismo anaerobico dei fondali ed i prodotti delle fermentazioni anaerobiche e delle ossidazioni parziali che avvengono negli strati intermedi delle acque stagnanti.

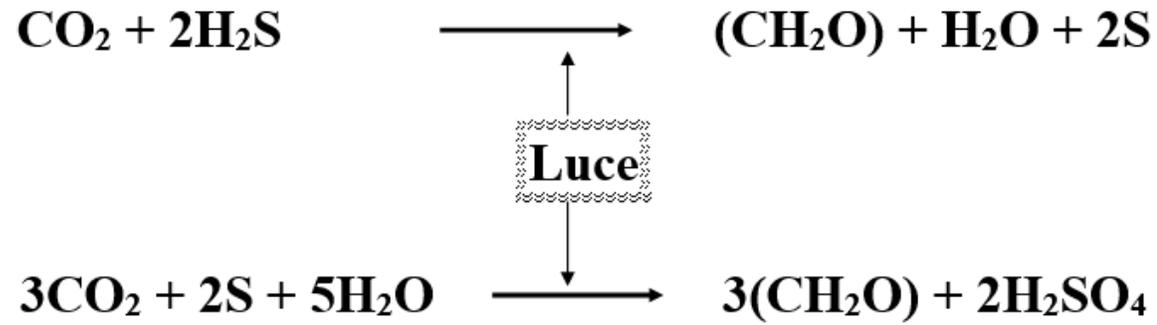
La possibilità di utilizzare la luce diventa un fattore decisivo per una loro maggiore efficienza rispetto ai batteri che riducono i solfati ed i nitrati.

In ecosistemi riducenti la disponibilità di accettori di elettroni diviene un fattore limitante per i microrganismi chemiorganotrofi.

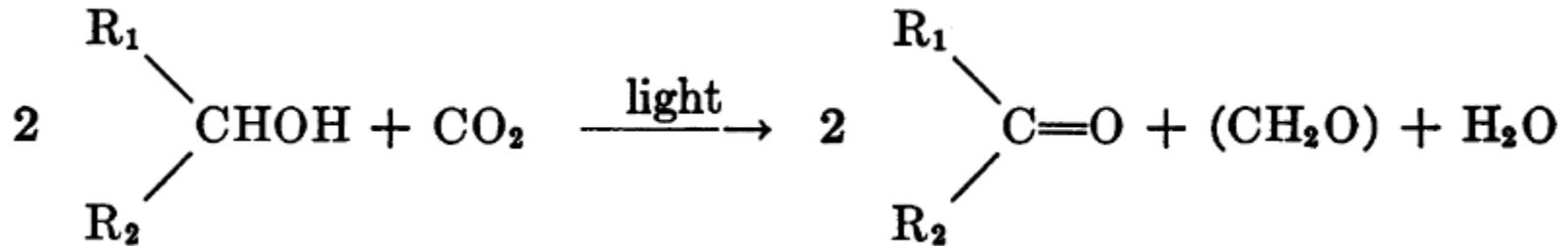
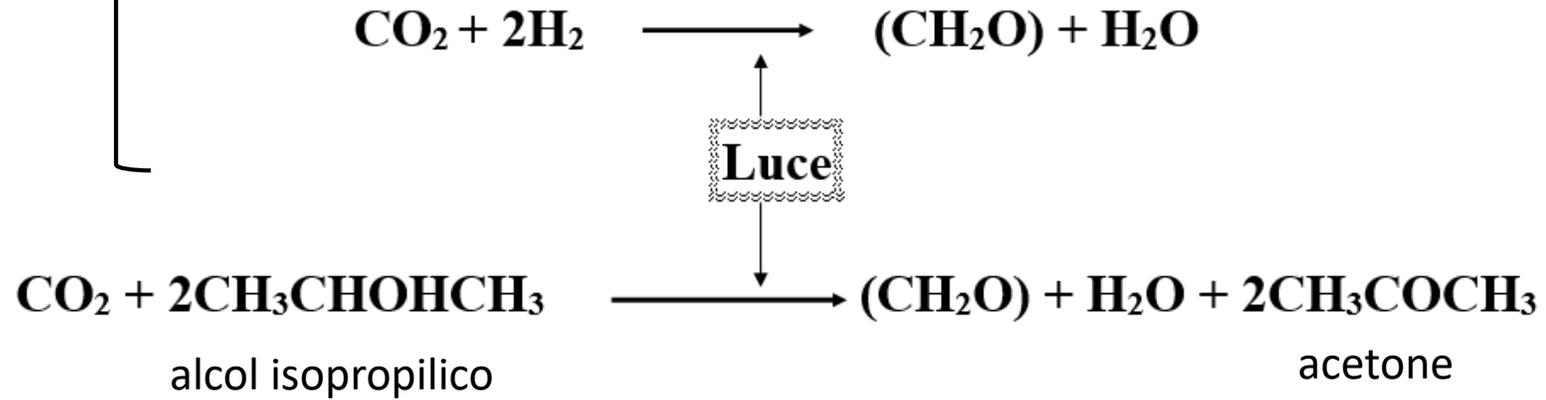
La produttività primaria di alcuni laghi e lagune dotati intrinsecamente di scarsa agitazione può essere dovuta al 60 ÷ 80 % a batteri fotosintetici .

Il maggior contributo ecologico della fotosintesi batterica è la fotossidazione dei composti ridotti dello zolfo. I batteri fotosintetici anossigenici forniscono accettori di elettroni ai solfobatteri chemiorganotrofi.

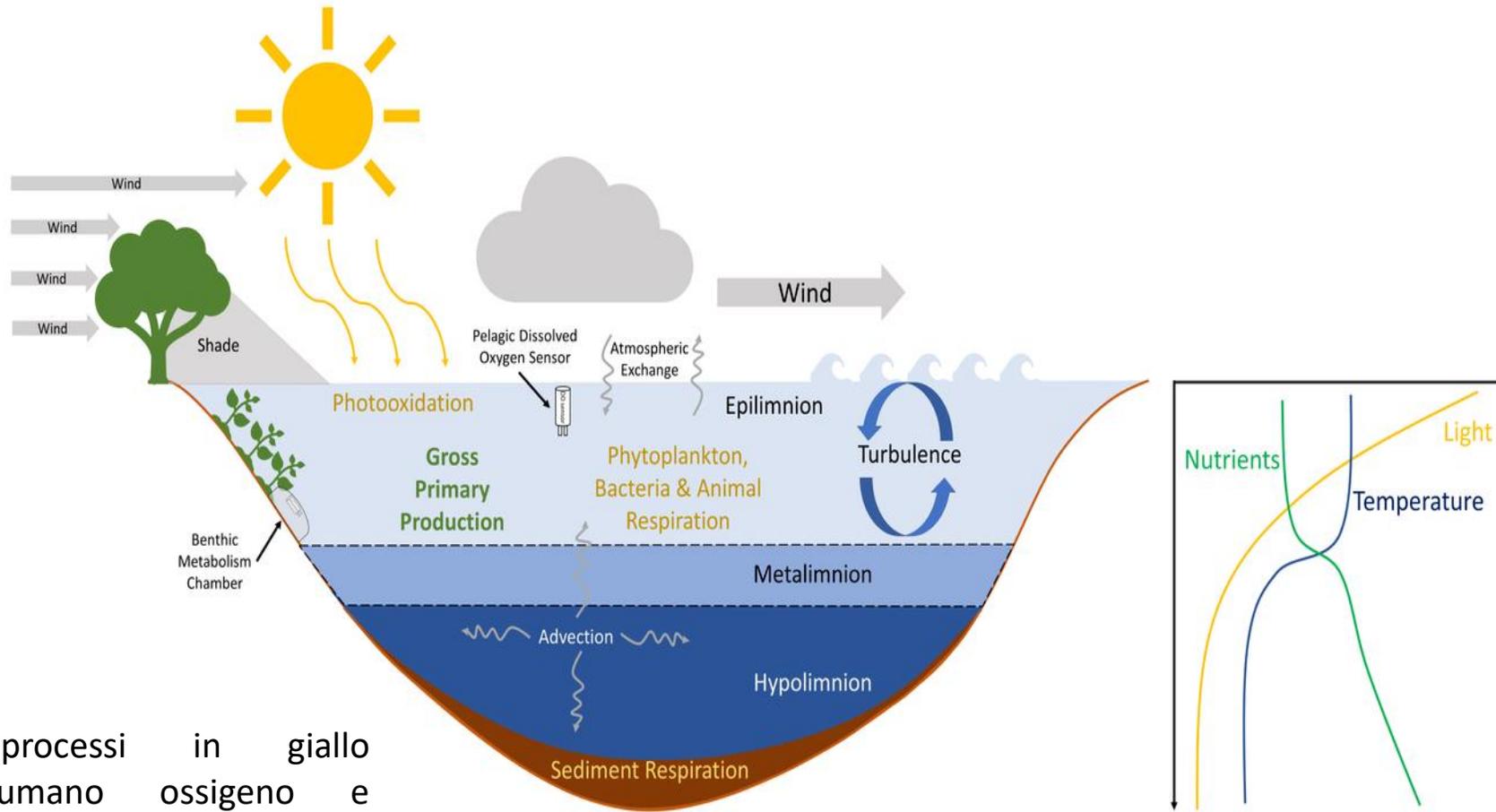
fotolitotrofi



fotorganotrofi



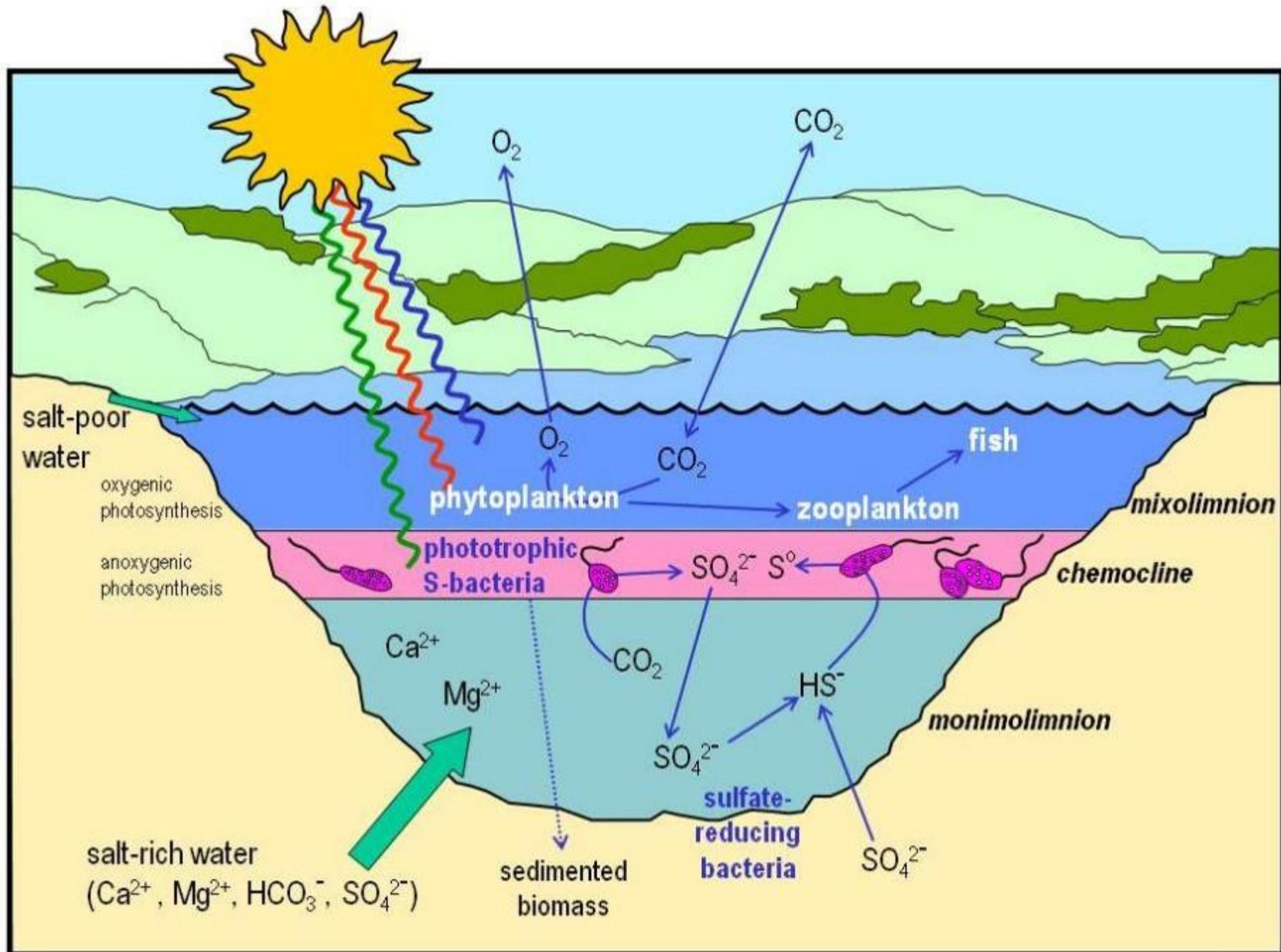
Sezione trasversale di un lago con indicazione dei fattori che ne influenzano i tassi metabolici e la concentrazione dei gas disciolti.

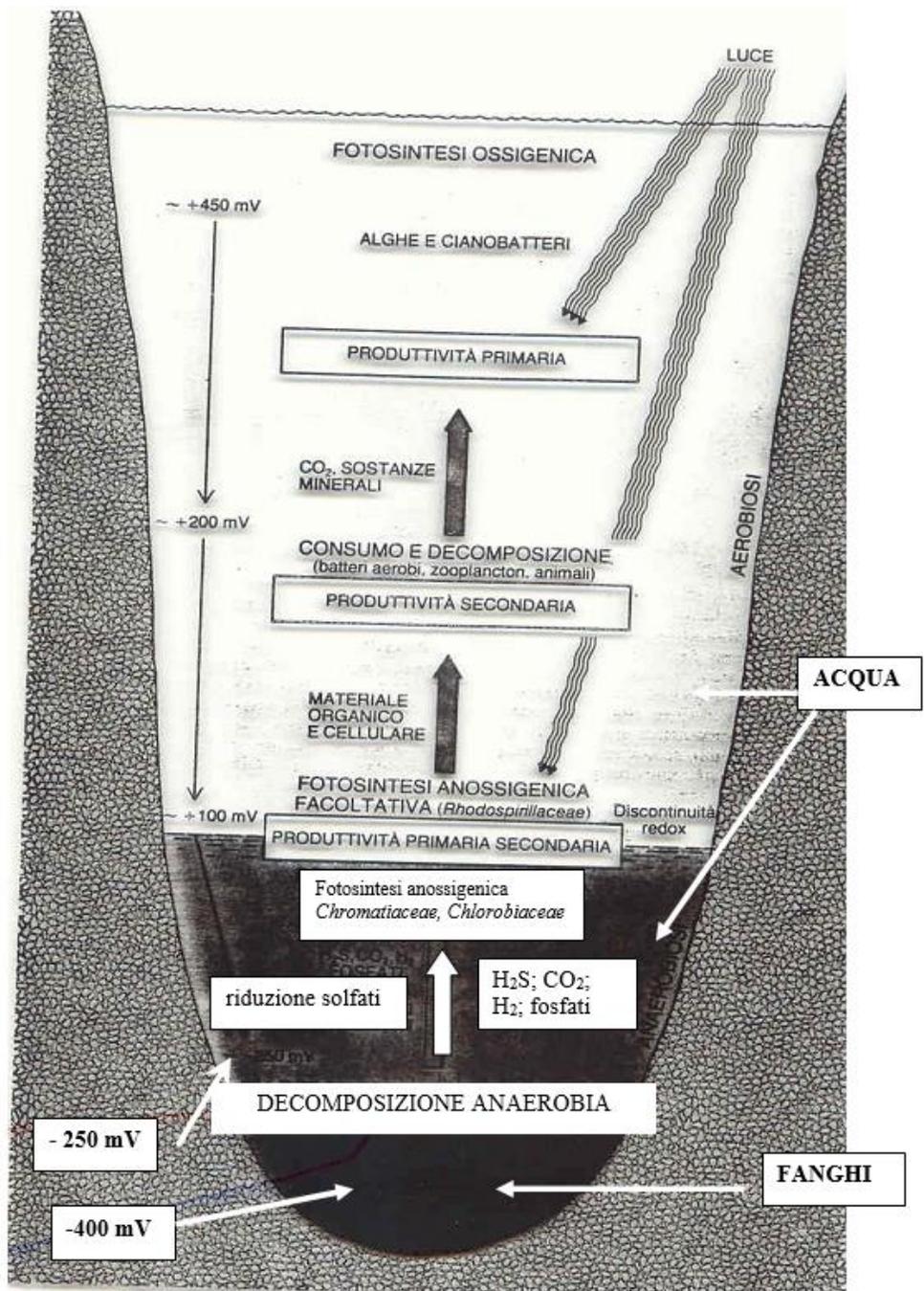


I processi fisici possono aumentare o diminuire la concentrazione di ossigeno disciolto

Il pannello a destra mostra come luce, temperatura e sostanze nutritive tendono a cambiare con la profondità per un lago stratificato, il che, a sua volta, si traduce in una variazione dei tassi metabolici verticalmente all'interno di un lago.

I processi in giallo consumano ossigeno e producono anidride carbonica mentre i processi in verde producono ossigeno e consumano anidride carbonica





Nello strato superficiale, con alta concentrazione di ossigeno ed illuminato, prevalgono le alghe ed i cianobatteri che fissano la CO_2 proveniente dagli strati più bassi mediante fotosintesi ossigenica. In uno strato immediatamente inferiore, caratterizzato da alte concentrazioni di ossigeno e di sostanza organica, prevalgono i batteri eterotrofi aerobi. Sono inoltre presenti lo zooplancton e gli animali più grossi.

Man mano che si procede in profondità la concentrazione di ossigeno diminuisce. In vicinanza dello strato d'acqua in cui il potenziale redox subisce una brusca diminuzione, i batteri fotosintetici facoltativi (mixotrofi) trovano la loro nicchia ecologica. Immediatamente sotto lo strato di discontinuità redox prevalgono i batteri fotosintetici obbligati mobili (*Chromatiaceae* e *Chlorobiaceae* forniti di vacuoli gassosi) che utilizzano H_2S ed altri composti ridotti dello zolfo provenienti dalle decomposizioni anaerobiche del fondo.

Negli strati inferiori prevalgono, invece, i batteri sulfurei verdi o rossi non mobili che spesso si trovano a convivere con batteri anaerobi non fotosintetici che riducono SO_4^{2-} ad HS^- , la CO_2 a CH_4 o che svolgono H_2 .

Per questi microrganismi, che non richiedono luce, i fanghi di fondo, anaerobici e con un potenziale redox molto negativo (da -250 a -400 mV), rappresentano l'habitat più adatto.

Riassumendo

Chlorobiaceae

La famiglia delle *Chlorobiaceae* è caratterizzata da organismi non mobili (mobili solo per vacuoli gassosi), fotosintetici e anaerobi obbligati, utilizzatori di H₂S. La lunghezza della luce da questi utilizzata è tra i 700 e i 760 nm, una parte dello spettro non assorbito dai cianobatteri, che assorbono sotto i 690 nm, né dai batteri porpora, che assorbono sopra gli 800 nm. **Questi organismi si trovano esclusivamente sui fondali e nei fanghi non ossigenati.** In queste zone è costante la produzione di H₂S da parte di altri batteri anaerobi non fotosintetici, i solfobatteri, che ossidano substrati organici riducendo il solfato. Quest'ultimo tipo di batteri vive in associazione con le *Chlorobiaceae* in quanto producono i donatori di elettroni per la fotosintesi anossigenica dei batteri verdi che, a loro volta riossidano l'H₂S a SO₄²⁻ immettendo nell'ambiente grandi quantità di composti del carbonio, come l'acetato, che rappresentano substrati per il metabolismo dei solfobatteri. Si forma in tal modo un piccolo ciclo di massa alimentato dall'energia luminosa che non si esaurisce finché sono disponibili luce, CO₂ e i nutrienti minerali indispensabili. Quest'associazione avviene a potenziali redox molto bassi (da +100 a - 250 mV) e in assenza di ossigeno.

Riassumendo

Chromatiaceae

Le *Chromatiaceae* appaiono metabolicamente molto simili alle *Chlorobiaceae*. Un'importante differenza è la presenza della batterioclorofilla *a* che assorbe sopra gli 800 nm e la loro capacità di muoversi nell'ambiente. A causa della sensibilità all'ossigeno e della costante ricerca di radiazione luminosa utile, le *Chromatiaceae* non occupano una posizione fissa nelle acque stagnanti, ma migrano nell'arco delle 24 ore in risposta al gradiente luminoso che viene dall'alto e dal gradiente di H₂S che viene dal basso.

Di giorno, quando le acque sono ricche di H₂S prodotto nelle ore notturne, le *Chromatiaceae* nuotano verso l'alto in cerca di luce a una più favorevole lunghezza d'onda. Nel corso della giornata, man mano che la concentrazione di H₂S diminuisce, affondano sempre di più alla ricerca di riducenti. Queste migrazioni possono essere anche molto ampie (circa 2 metri, una distanza enorme per un batterio). La mobilità delle *Chromatiaceae* è nulla in acque con tassi permanenti di H₂S. In questo caso la sintesi dei flagelli viene inibita, le cellule si trasformano da mobili ad immobili e l'habitat delle *Chlorobiaceae* e delle *Chromatiaceae* coincide

Riassumendo

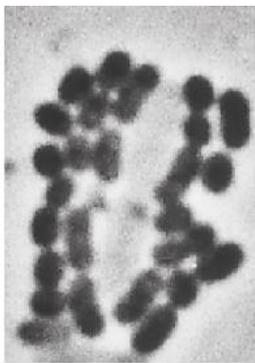
Rhodospirillaceae

La distribuzione delle *Rhodospirillaceae* è alquanto diversa. Questi organismi sono anaerobi facoltativi, tollerano bene l'ossigeno e solo raramente utilizzano composti ridotti dello zolfo. Sono tutti capaci di crescere al buio ossidando composti organici con ossigeno. Questi organismi vivono in strati più superficiali, caratterizzati da concentrazioni di ossigeno basse, ma non nulle. Sono in genere cellule mobili e in grado di seguire le concentrazioni ottimali di luce, CO₂, di O₂ e di composti organici. Questa loro flessibilità metabolica fa sì che questi organismi siano i più diffusi nelle acque. Abitano la fascia di transizione fra le acque ossigenate e quelle anaerobiche e sono sempre in associazione con batteri aerobi chemiorganotrofi aerobi, visto che non sono in grado di idrolizzare i polimeri organici e dipendono da batteri con forte attività idrolitica per l'approvvigionamento di molecole organiche semplici e solubili.

Riassumendo

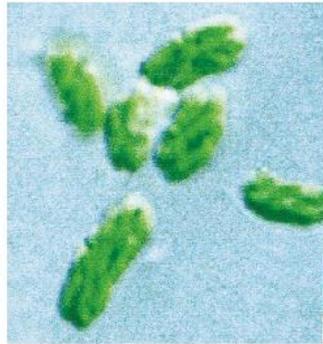
In definitiva, i batteri fotosintetici prevalgono, e trovano la loro nicchia ecologica, lì dove possono utilizzare i prodotti delle fermentazioni e delle parziali ossidazioni della sostanza organica, che avvengono negli strati intermedi delle acque stagnanti. In queste condizioni, la loro possibilità di utilizzare la radiazione luminosa diventa un fattore decisivo per una maggiore efficienza metabolica. Contribuiscono in maniera decisiva alla produttività primaria delle acque poco ossigenate come quelle dei laghi o delle lagune dotati intrinsecamente di scarsa agitazione. In alcuni casi, la produttività generale primaria di alcuni laghi può essere dal 60 all'80% a carico dei batteri fotosintetici, che aumentano la loro biomassa e divengono alimento per lo zooplancton, che a sua volta è predato dai pesci.

Il maggior contributo ecologico della fotosintesi batterica è la fotossidazione dei composti ridotti dello zolfo prodotti dall'ossidazione di piccole molecole organiche con l' SO_4^{--} . In un piccolo lago di soli 0,25 km² di superficie, i batteri fotosintetici possono ossidare 84 tonnellate all'anno di composti solforati, dando in tal modo un contributo fondamentale all'eliminazione di questi composti tossici formando accettori finali di elettroni utili nei metabolismi chemiorganotrofi anaerobi.



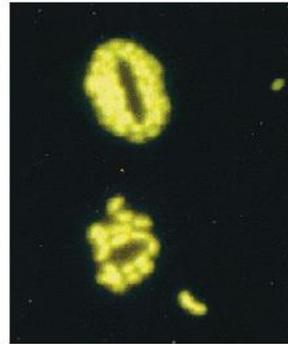
Douglas Caldwell

(a)



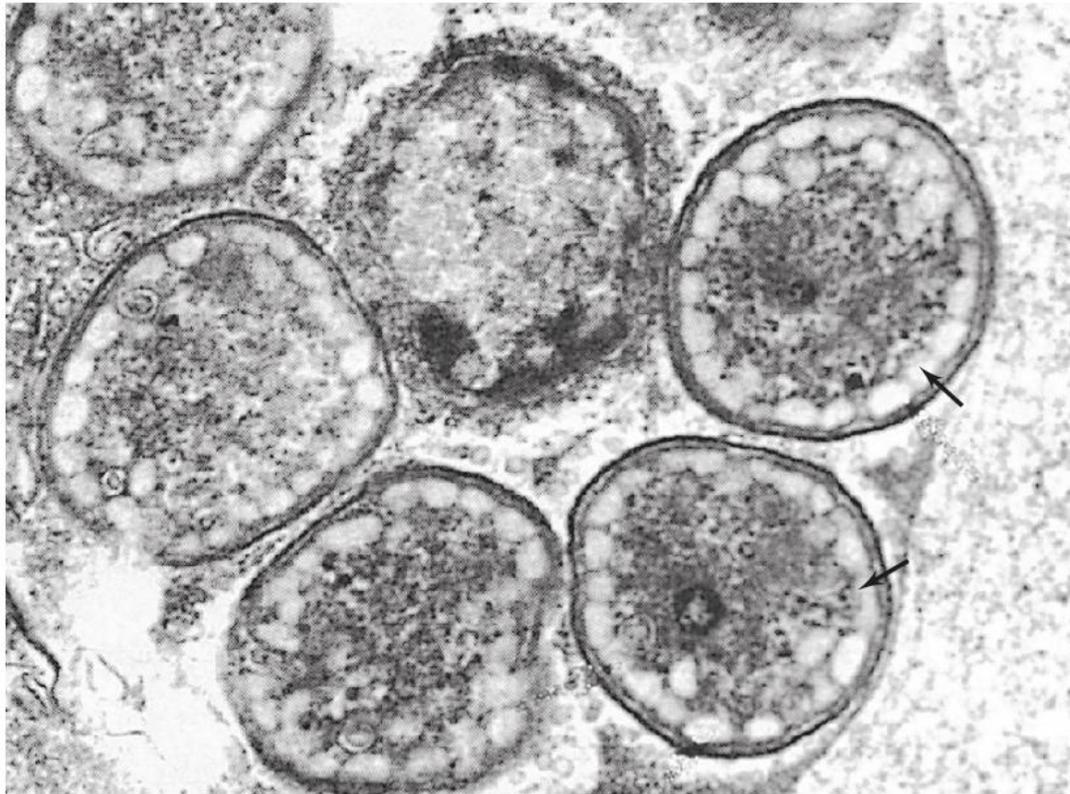
Jörg Overmann

(b)



Jörg Overmann

(c)



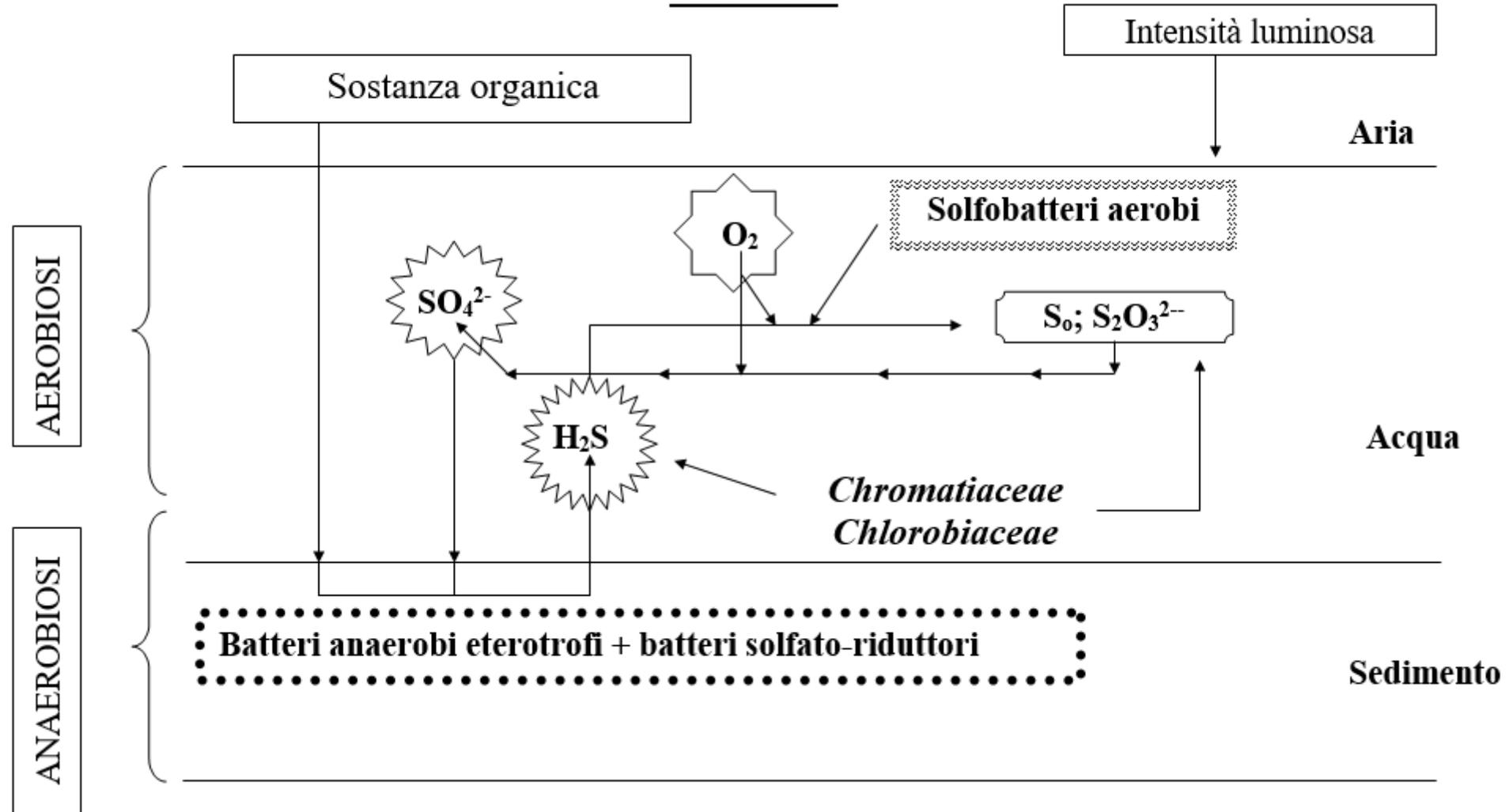
Douglas Caldwell

(d)

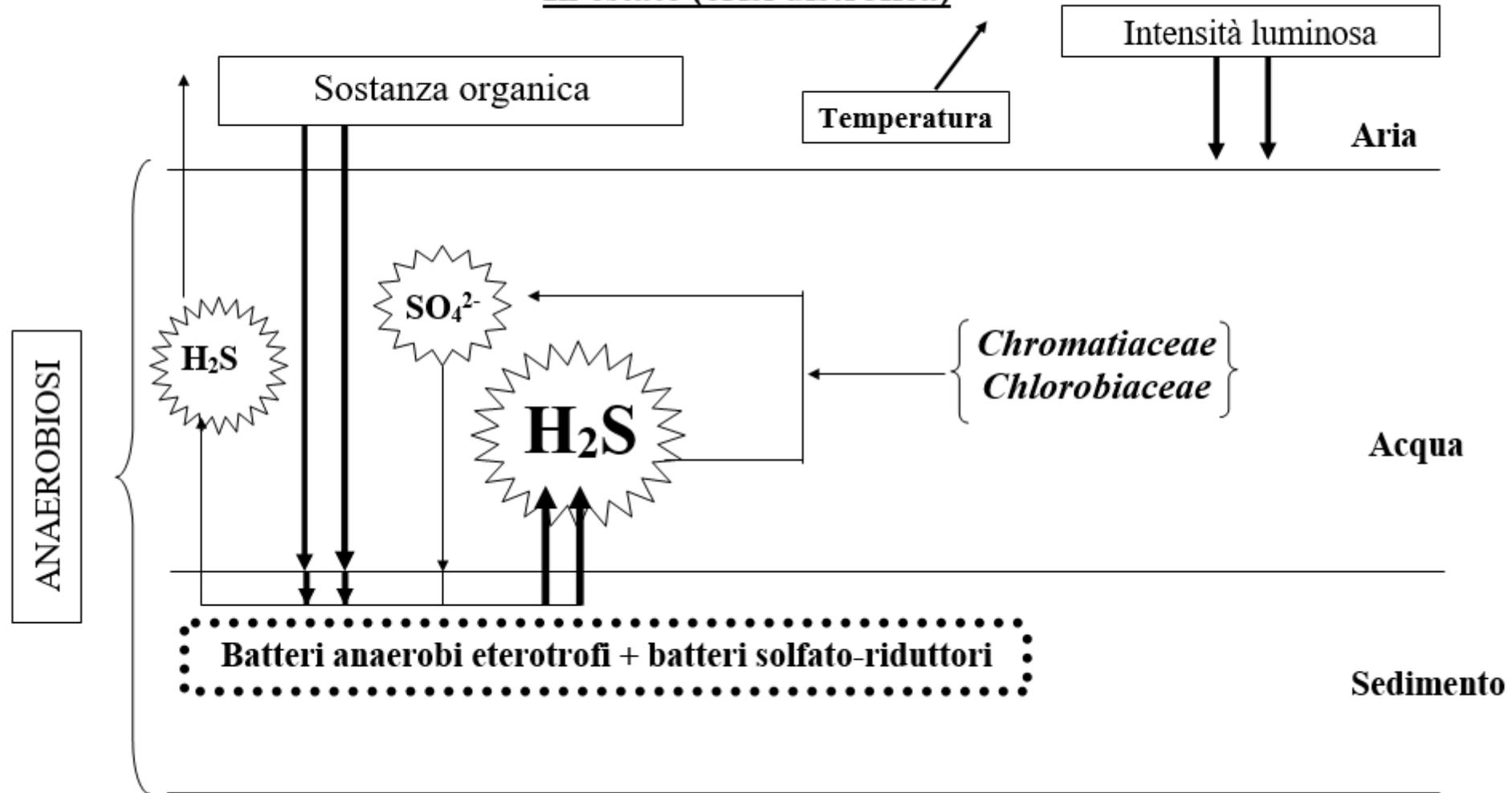
Figura 15.17 Il consorzio fototrofo "*Chlorochromatium aggregatum*". Consorzi costituiti da batteri verdi sulfurei e da un chemiorganotrofo (vedi anche Figura 15.9 e ► Paragrafo 23.2). (a) In questa micrografia a contrasto di fase, l'organismo non-fototrofo al centro dell'aggregato si mostra di tonalità più chiara rispetto ai batteri fototrofi pigmentati. (b) In questa micrografia a contrasto interferenziale, i carotenoidi di colore verde conferiscono ai batteri fototrofi la tipica colorazione analoga. (c) In questa micrografia a fluorescenza, sono evidenziate le cellule marcate con una sonda fluorescente specifica per i batteri verdi sulfurei. (d) Micrografia elettronica a trasmissione di una sezione trasversale relativa a un singolo aggregato consorziale: si notino i clorosomi (indicati dalle frecce) all'interno dei batteri epibionti. L'intero consorzio ha un diametro di circa 3 μm .

Ruolo dei batteri del ciclo dello zolfo in una laguna costiera nella regione mediterranea

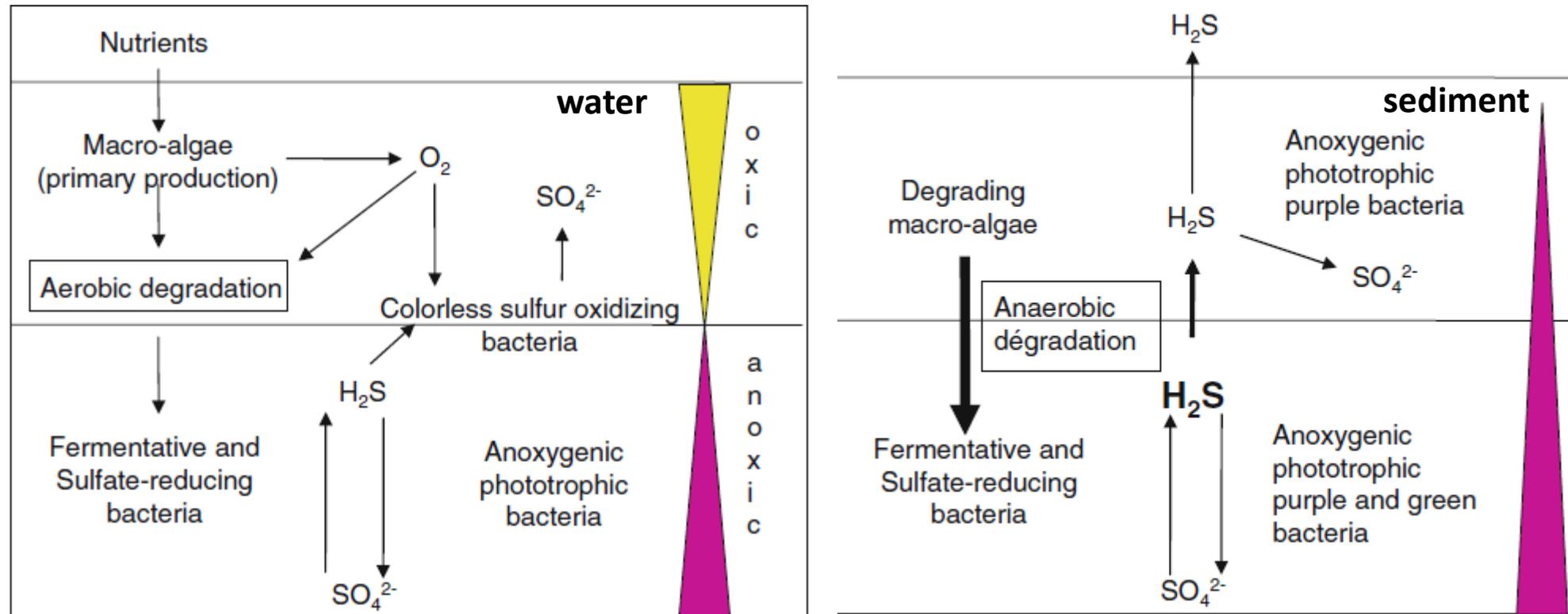
In inverno



Ruolo dei batteri del ciclo dello zolfo in una laguna costiera nella regione mediterranea
In estate (crisi distrofica)



Sviluppo di una crisi distrofica estiva in una laguna costiera poco profonda



Sviluppo massiccio di macroalghe nella laguna eutrofica; rapida diminuzione di O_2 dovuto a intensi fenomeni di ossidazione della sostanza organica; impatto del solfuro tossico rilasciato dalla riduzione anaerobica dei solfati; sviluppo di batteri fototrofici anossigenici (batteri sulfurei porpora) che colorano le acque in rosso