

# Acque a temperature estreme

# Acque a temperature estreme

**VERMI POGONOFORI.** Tentacoli primo sito per lo scambio di gas e soluti

- Hb molto concentrata (fino al 26% del peso fresco)
- I batteri fissano il  $\text{CO}_2$  coinvolgendo l'enzima 1,5-difosfato carbossilasi

# Acque a temperature estreme

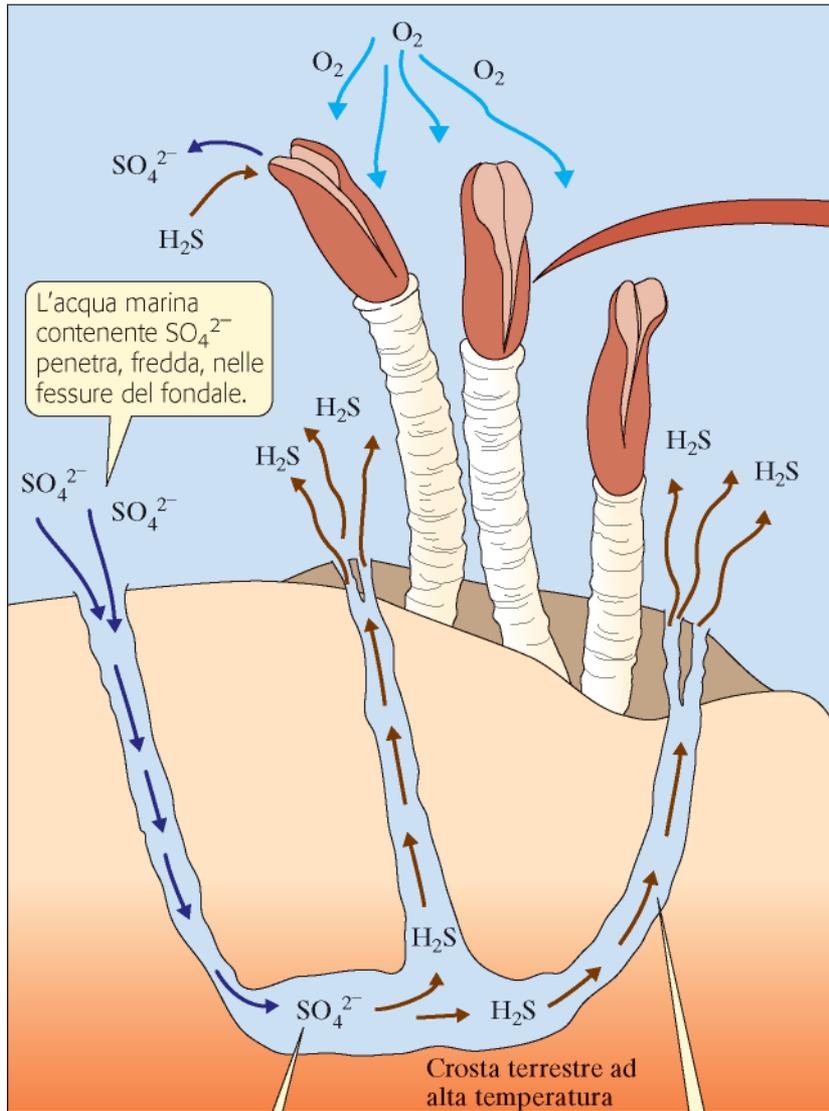
VERMI POGONOFORI. Parecchi adattamenti per proteggere gli animali dagli effetti tossici dei  $S^{2-}$ :

- Hanno una  $V_{max}$  per il  $S^{2-}$  almeno un ordine di grandezza superiore a quella dei solfobatteri che vivono liberamente
- Possono trasformare l'eccesso di  $S^{2-}$  in depositi di S non tossico e ossidati ulteriormente nel momento in cui i  $S^{2-}$  nel sangue diminuiscono
- Utilizzano soltanto i  $S^{2-}$  e non i tiosolfati

# Acque a temperature estreme

VERMI POGONOFORI. L'uso di Hb rende il pogonoforo capace di concentrare di almeno 2 ordini di grandezza i  $S^{2-}$  captati dal mezzo

- Hb affinità molto alta per l' $O_2$

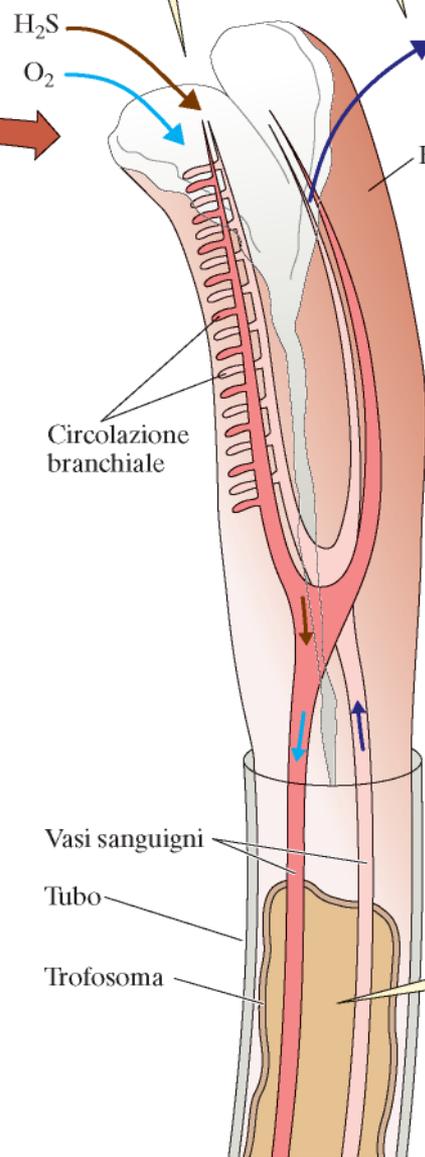


L'acqua marina contenente  $\text{SO}_4^{2-}$  penetra, fredda, nelle fessure del fondale.

$\text{SO}_4^{2-}$  si riduce a  $\text{S}^{2-}$  attraverso reazioni complesse ad alta temperatura e alta pressione.

L'acqua riscaldata risale, sprigionandosi in nuvole di vapore contenente  $\text{H}_2\text{S}$ .

Il sangue circola tra le branchie e il trofosoma, portando  $\text{O}_2$  e  $\text{H}_2\text{S}$  dall'acqua marina ai batteri simbiotici, e viceversa prodotti solforosi ossidati (come  $\text{SO}_4^{2-}$ ) dai simbiotici alle branchie per essere dispersi nell'acqua.



I batteri del trofosoma ottengono energia per la sintesi di composti organici ossidando lo zolfo ridotto ad  $\text{H}_2\text{S}$  a composti come  $\text{SO}_4^{2-}$ . I composti organici prodotti dai batteri passano nelle cellule animali del verme.

# Acque a temperature estreme

GRANCHI. Nelle bocche idrotermali  
*Bythograea thermydron*, elevata  
tolleranza per H<sub>2</sub>S e alta T

- Ossida H<sub>2</sub>S a tiosolfato
- Reazione avviene nell'epatopancreas
- Il tiosolfato aumenta l'affinità per l'O<sub>2</sub> dell'emocianina

# Acque a temperature estreme

- Cd, Cu e Zn, immagazzinati come composti minerali o legati a molecole insolubili o solubili
- ***Problemi per la riproduzione e la dispersione***
- Bocche idrotermali distanti l'una dall'altra
- Vita breve
- Organismi rischio di estinzione
- Propaguli: larve o adulti mobili, trasportati dalle correnti marine con l'aiuto dell'attività natatoria
- Dispersione efficace e rapida: le nuove sorgenti vengono colonizzate entro 1 anno

# Acque a temperature estreme

- Come i colonizzatori localizzano le sorgenti?
- Forse i  $H_2S$  fungono da attrattante
- Gli ultimi stadi larvali dei gamberetti hanno particolari depositi lipidici nel torace e nell'addome (75÷82% esteri di cere), riserva di cibo per la vita batipelagica
- Bivalvi bocche idrotermali presentano gameti giganti e oociti, di > dimensioni, elevata quantità di tuorlo

# Acque a temperature estreme

- **Sorgenti calde e pozze termali**
- Originate dall'attività geotermica negli habitat terrestri dove è presente un'attività vulcanica
- Solo batteri vicino alle sorgenti geotermiche
- A valle alghe, protozoi specialisti (60 °C)

- Studio dei meccanismi molecolari alla base degli adattamenti.

- A  $-1,9^{\circ}\text{C}$  la sopravvivenza di pesci di acque temperate sarebbe impossibile. I pesci antartici sono adattati perfettamente, anzi un aumento di pochi  $^{\circ}\text{C}$  avrebbe effetti letali.

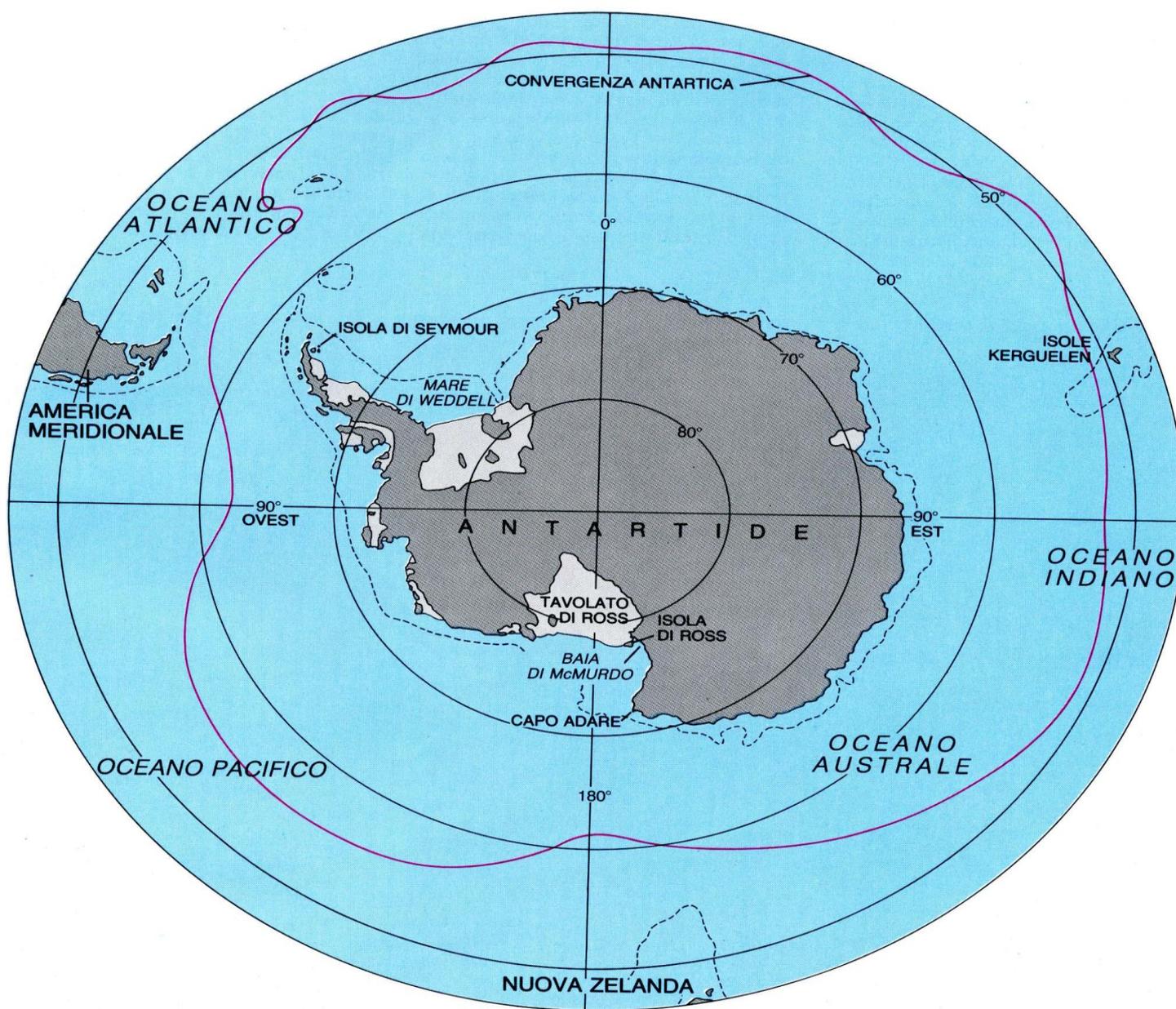
- In Antartide, l'ittiofauna è costituita per il 50-60 % da pesci di un unico sottordine, quello dei Nototenioidei, che comprende 8 famiglie

- Icefish*: ha sviluppato meccanismi di adattamento fisiologico e biochimico che la

rendono unica al mondo e che illustrano le strategie cui possono far ricorso gli organismi viventi in risposta ad una forte pressione ambientale.

- Lo scenario dei mari antartici, popolato da una fauna ittica tassonomicamente uniforme, è un'area di ricerca ideale, nella quale i pesci sono a loro volta un sistema di studio ideale a causa della loro specializzazione.





L'habitat +  
freddo del  
mondo è  
pullulante di  
pesci  
Sottordine  
nototenioidi  
osteitti affini  
ai perciformi,  
comprende  
90-100  
specie

Le caratteristiche oceanografiche che possono aver influenzato l'evoluzione dei nototenioidi sono una piattaforma continentale stretta e profonda e la convergenza antartica, una zona di repentina variazione termica (*linea in rosso*). L'oceano vicino al margine dell'Antartide raggiunge una profondità di 1000 metri (*linea tratteggiata*), formando un habitat poco adatto per molti pesci di acque poco profonde, che potrebbero altrimenti competere con i nototenioidi. La convergenza antarti-

ca, che costituisce il confine settentrionale dell'«oceano australe» (dove gli oceani Atlantico, Pacifico e Indiano si uniscono), impedisce alle acque superficiali tiepide di fluire verso sud nella regione antartica. L'attuazione di questa convergenza può aver contribuito al raffreddamento dell'oceano australe e perciò all'evoluzione dei nototenioidi sotto l'influenza del freddo crescente. Oggi la temperatura dell'oceano australe supera ben di rado i due gradi Celsius durante tutto l'anno.



Un nototeniideo tipico, *Trematomus nicolai*, vive, si nutre e si riproduce presso il fondale marino. Il sottordine nototenioidi, gruppo di

pesci ossei simile ai perciformi, è dominante in Antartide e costituisce circa il 90 per cento della fauna ittica che vive in quest'area.

T annuale media della baia McMurdo –  $1,87^{\circ}\text{C}$ , escursione termica tra  $-1,4$  e  $-2,15^{\circ}\text{C}$ . Nell'estate australe (dicembre-febbraio) da  $-1,9$  a  $-1,8^{\circ}\text{C}$ . In estate l' $\text{H}_2\text{O}$  sotto il ghiaccio riceve – dell'1% della luce solare che giunge in superficie; 4 mesi all'anno oscurità totale. > pericolo: esistenza strati multipli di ghiaccio.

# Stile di vita e adattamenti biochimici nei pesci Antartici

- I perciformi sottordine Nototenoidei, principalmente confinati nelle acque Antartiche e sub-Antartiche, sono la componente dominante della fauna dell'Oceano del Sud
  - Comprendono:
    - 95 delle 174 specie bentiche della piattaforma e scarpata superiore continentali
    - 120 (includono nototenoidei non-Antartici) delle 274 specie dell'Oceano Sud

# Le famiglie del sottordine Nototenoidei

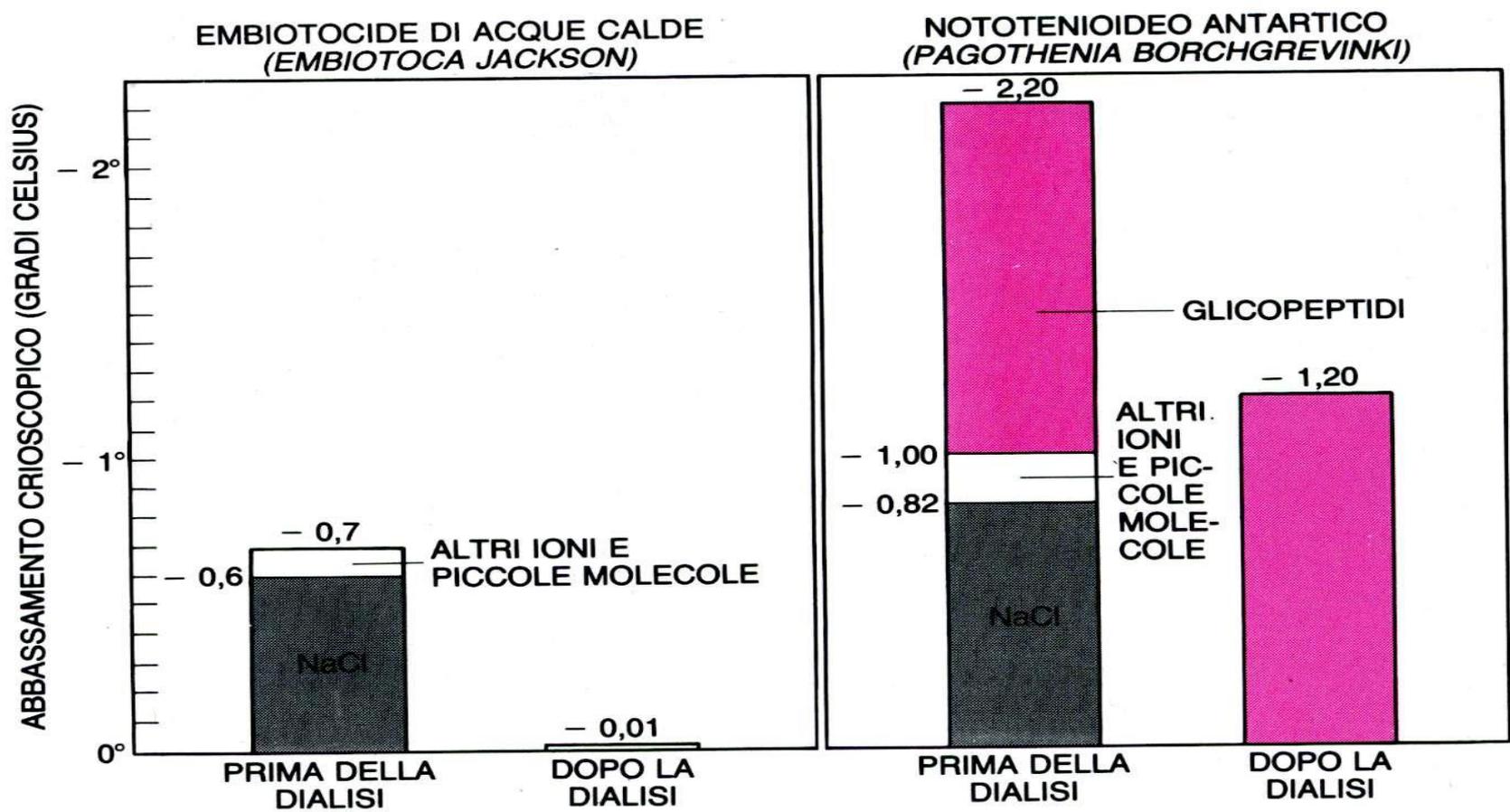
<b>Famiglia</b>	<b>Specie Antartiche</b>	<b>Specie non- Antartiche</b>	<b>Totale</b>
Bovichtidae	1	9	10
Pseudaphritidae	0	1	1
Eleginopidae	0	1	1
Nototheniidae	34	14	48
Harpagiferidae	6	0	6
Artedidraconidae	24	0	24
Barthydraconidae	15	0	15
Channichthyidae	15	0	15
	95	25	120

# Stile di vita e adattamenti biochimici nei pesci Antartici

- I Nototenoidei sono con gli eritrociti eccetto i Cannictidi, i soli vertebrati adulti conosciuti il cui sangue è privo di Hb
- L'Antartide, + di ogni altro habitat sulla terra, è uno straordinario laboratorio naturale per lo studio degli adattamenti termici
- I trasportatori dell'O<sub>2</sub> sono uno dei sistemi + interessanti per studiare le interrelazioni tra condizioni ambientali ed evoluzione molecolare.

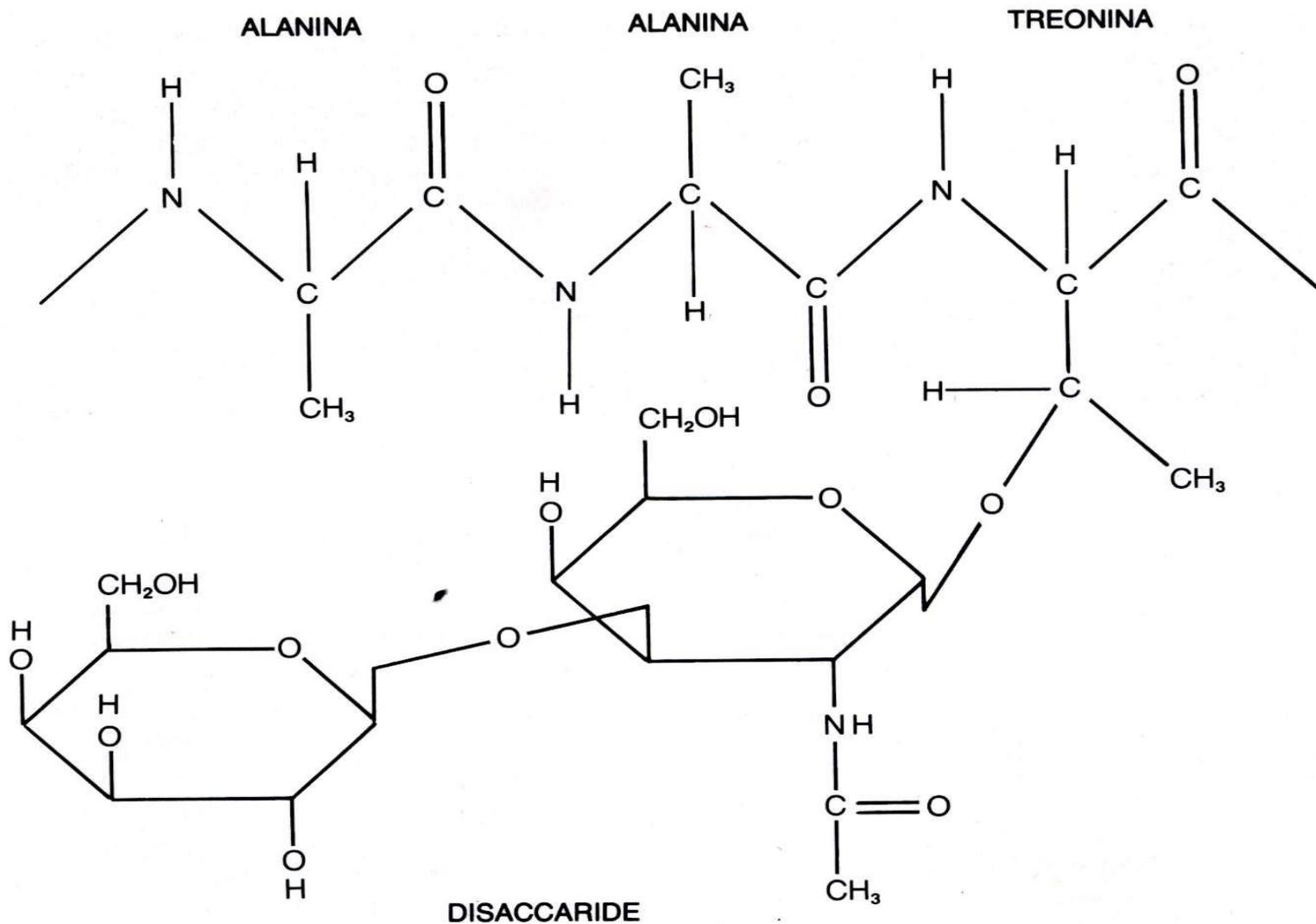
- Primo adattamento: capacità produrre sostanze dotate di potenti proprietà anticongelanti: composti che abbassano il punto di congelamento dei liquidi interni
- Secondo adattamento: sviluppo capacità galleggiamento passivo = “assenza di peso” in H<sub>2</sub>O

- Pesci, eterotermi, sopportano “sottoraffreddamento”
- I nototenioidi della Baia di McMurdo congelano solo quando la loro T scende fino a  $\sim -2,2^{\circ}\text{C}$
- Per la > parte dei pesci marini, i sali (NaCl) sono responsabili per l'85% dell'abbassamento crioscopico al di sotto dello 0, che è il punto di congelamento dell'H<sub>2</sub>O pura in condizioni normali
- Il 15% può essere attribuito a piccoli quantitativi di K, Ca, urea, glu, e a.a.



Confronti effettuati tra plasma sanguigno di un embiotocide del Pacifico (*Embiotoca jacksoni*), un perciforme d'acque calde, e plasma sanguigno di un nototeniideo dell'Antartide (*Pagothenia borchgrevinki*) mettono in evidenza le differenze nel punto di congelamento e nella composizione. Sono stati confrontati i punti di congelamento del plasma prima e dopo averlo dializzato e filtrato per eliminare le sostanze disciolte con peso molecolare inferiore ai 1000 dalton. Prima della dialisi il punto di congelamento del plasma di embiotocide era di  $-0,7$  gradi Celsius; dopo la dialisi, esso si è elevato a  $-0,01$  gradi, in pratica alla temperatura di congelamento dell'acqua pura (0 gradi). Questa variazione dimostra che il cloruro di sodio e altre molecole di soluto di basso peso molecolare sono le sostanze responsabili del piccolo abbassamento crioscopico del plasma. Il punto di congelamento del plasma del nototeniideo prima della dialisi era di  $-2,20$  gradi Celsius, dopo la dialisi esso si è elevato a  $-1,20$  gradi. Il fatto che l'abbassamento crioscopico permanga dopo la dialisi dimostra che le molecole dei glicopeptidi sono responsabili di una parte significativa dell'abbassamento crioscopico del plasma. I glicopeptidi hanno un peso molecolare superiore a 1000 dalton e incidono all'incirca sulla metà dell'abbassamento riscontrato.

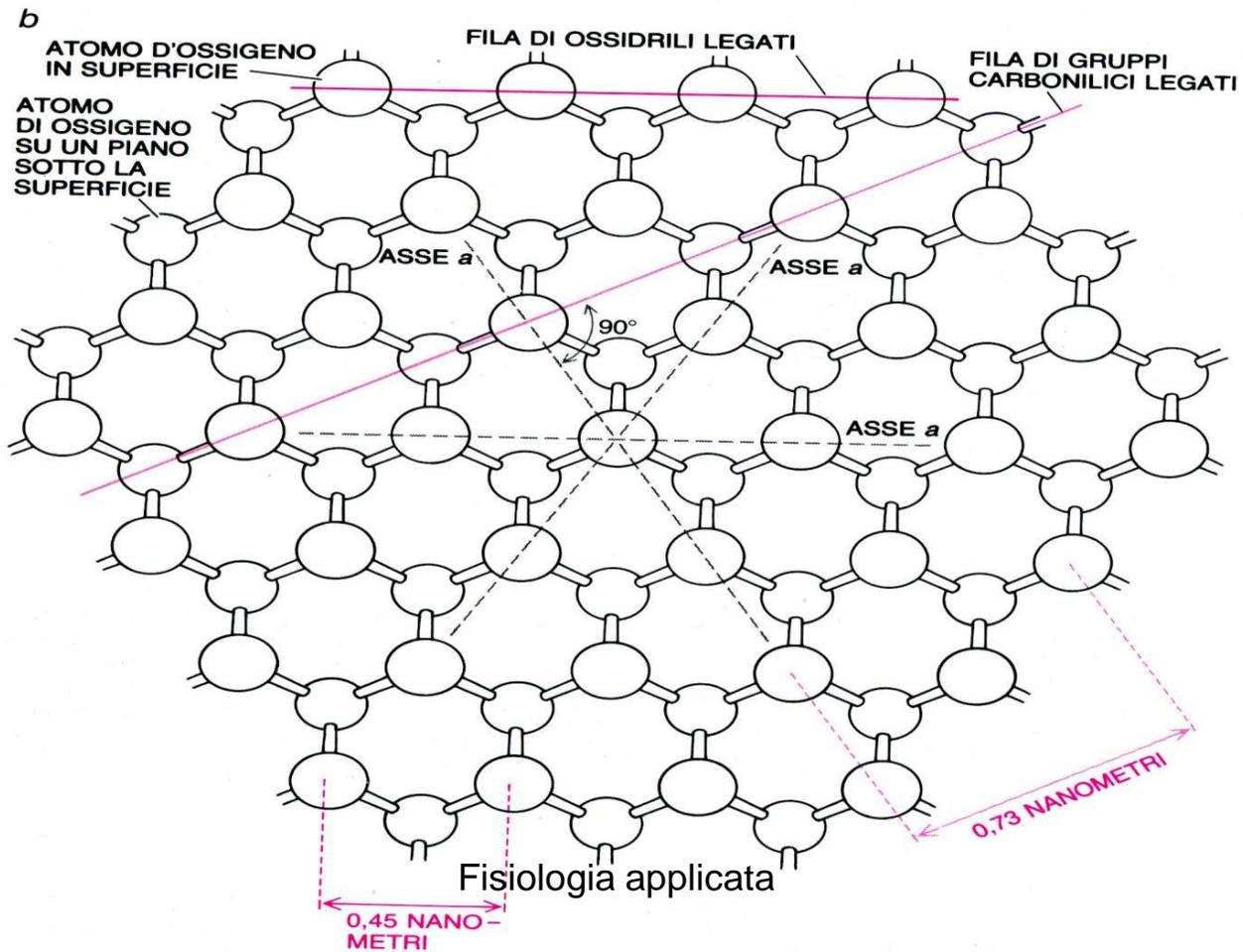
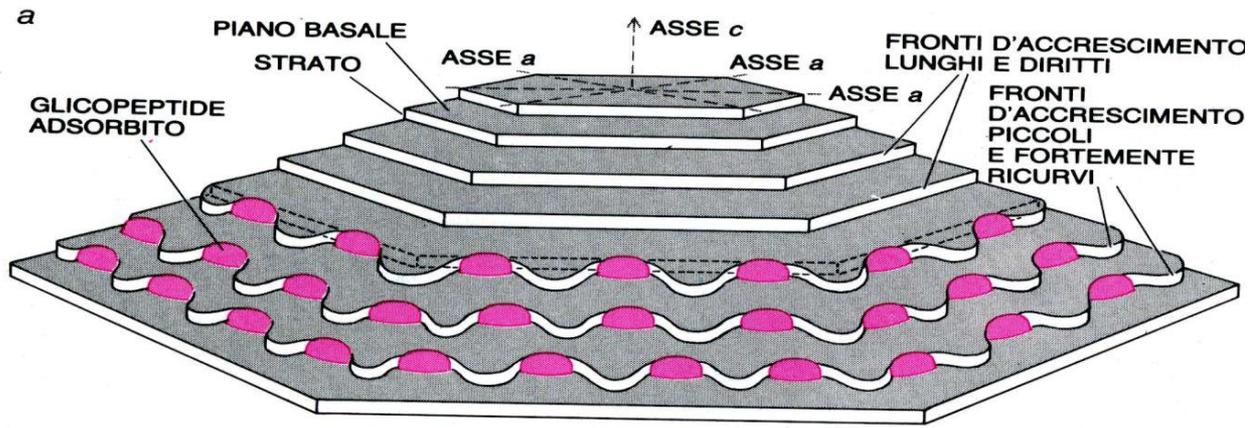
- Nei pesci della Baia di McMurdo NaCl e altre molecole di piccole dimensioni e ioni sono responsabili solo del 40-50% dell'abbassamento crioscopico
- 8 diverse molecole anticongelanti, caratteristiche della > parte dei liquidi interni, salvo urina e umor acqueo, e della massa del citoplasma = 3,5% del peso di tutti i liquidi
- Sono glicopeptidi
- Ciascuna di esse è costituita da unità di ripetizione, composte da 1 molecola di disaccaride unita mediante legame covalente al 3° aa di una catena peptidica di soli 3 aa



La subunità strutturale fondamentale dei composti anticongelanti dei nototenioidi consiste di una molecola di disaccaride, legata al terzo amminoacido di una catena tripeptidica (costituita da tre residui di amminoacidi). Le molecole anticongelanti, note come glicopeptidi e costituite da subunità di ripetizione, vengono identificate da un numero in base al peso molecolare. (Il numero uno è la molecola più pesante, con peso molecolare 33 700 dalton, il numero otto è la molecola più leggera, con peso molecolare 2600 dalton.) Nei glicopeptidi da uno a cinque la catena peptidica è costituita da alanina-alanina-treonina, come si vede nell'illustrazione, mentre nei glicopeptidi da sei a otto parte dei residui di alanina è sostituita da residui di prolina.

- Le varie molecole differiscono nelle dimensioni da 33.700 Da a 2.600 Da
- L'attività anticongelante  $\uparrow$  con l' $\uparrow$  del PM e sembra che tutte le molecole funzionino in modo analogo
- Il punto di congelamento della  $>$  parte delle soluzioni dipende dalle loro proprietà "colligative", cioè dal n° di particelle di soluto presenti + che dalla natura delle particelle stesse
- NaCl abbassa il punto di congelamento dell'H<sub>2</sub>O di un valore pari a ~ 2 volte quello del glu

- I glicopeptidi anticongelanti agiscono in modo non colligativo cioè abbassano il punto di congelamento dei liquidi interni 200-300 volte di + rispetto all'abbassamento crioscopico calcolato sulla base del n° di particelle
- Gli anticongelanti proteggono aderendo per adsorbimento ai minuscoli cristalli di ghiaccio e impedendone in questo modo la crescita
- Fronti di avanzamento ricurvi e pertanto presentano una grande superficie in rapporto al loro V
- Cedono molecole di H<sub>2</sub>O al liquido circostante

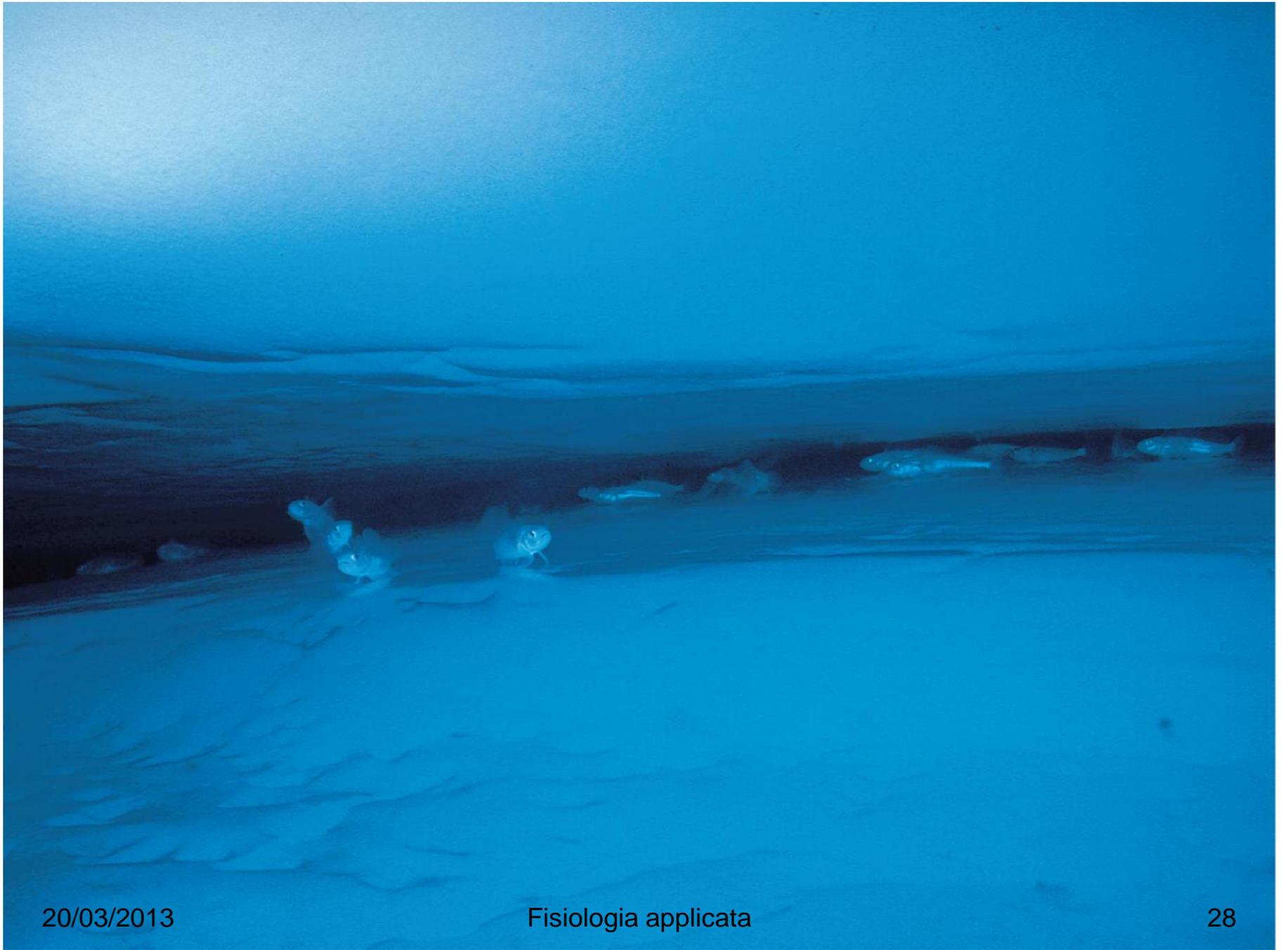


- Le molecole d'H<sub>2</sub>O nei cristalli di ghiaccio sono disposte in anelli +/- esagonali, ciascuno dei quali ha un atomo di O a ogni angolo
- Funzione principale dei glicopeptidi: impedire al ghiaccio di propagarsi attraverso la cute
- I gruppi polari del glicopeptide dovrebbero essere separati da distanze che corrispondono alle distanze tra gli atomi d'O su un fronte d'accrescimento del reticolo cristallino di ghiaccio
- Oppure gli anticongelanti potrebbero legarsi al ghiaccio attraverso i gruppi carbonilici (-CO-) presenti nella catena degli a.a.

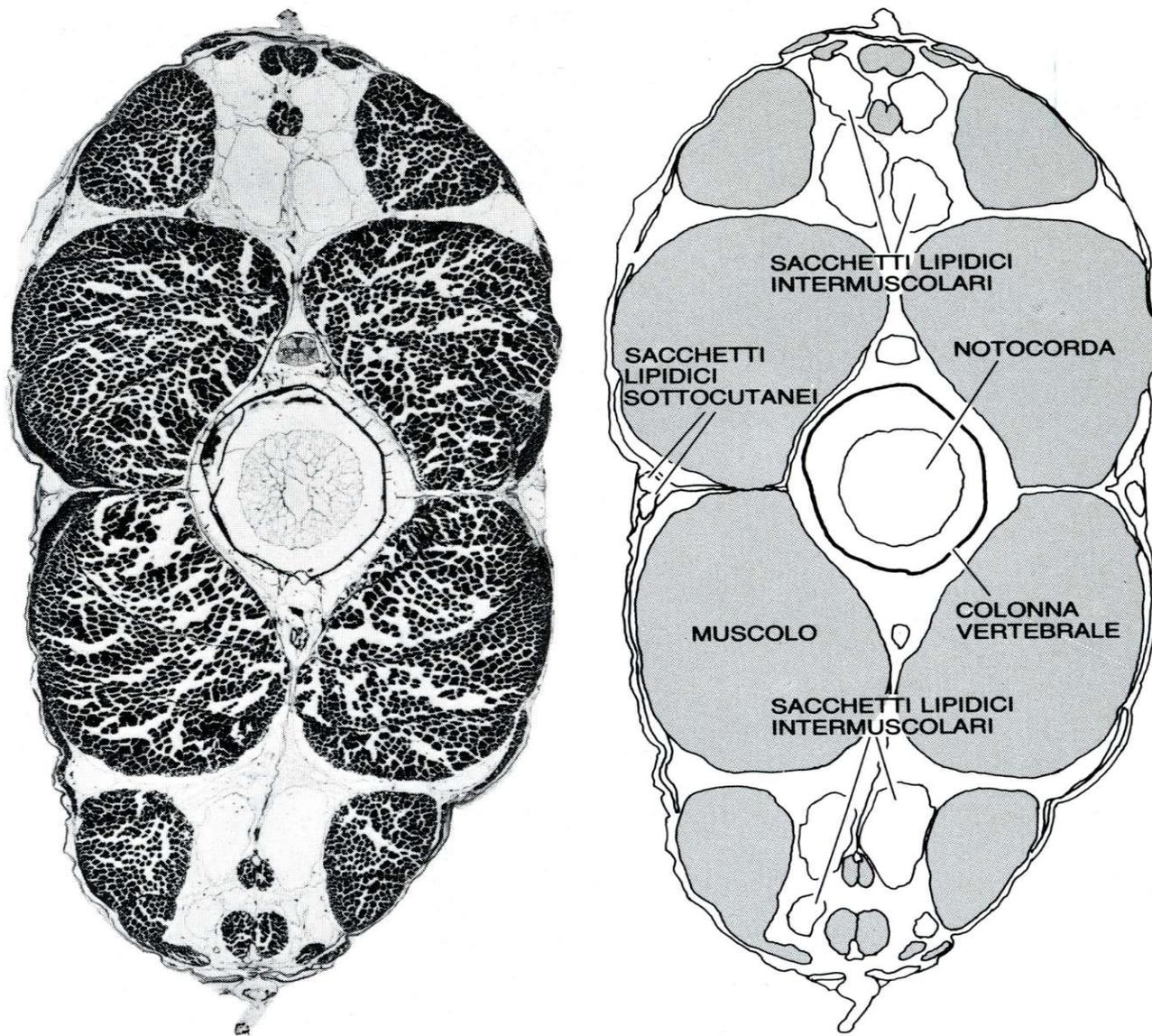
- Le catene laterali glicidiche dei glicopeptidi mantengono la catena polipeptidica della molecola in una conformazione distesa
- Ogni gruppo carbonilico su 2 sporge dallo stesso lato del polipeptide e rimane separato dal successivo da una distanza di  $\sim 0,73$  nm, distanza analoga che separa certi atomi di O presenti nel reticolo di ghiaccio
- I pesci antartici hanno riserve d'energia limitate e devono perciò risparmiarle

- I nototenioidi non hanno molecole anticongelanti nell'urina
- Sono molecole relativamente piccole
- La pressione all'interno dei glomeruli costringe di solito le molecole aventi peso < a 40.000 Da a passare dal sangue al sistema dei tubuli collettori dell'urina
- Il costo del processo del riassorbimento e risintesi sarebbe elevato: 2 unità di energia per ciascuna legame che si forma tra 2 a.a.
- Non possiedono glomeruli

- I pesci privi di glomeruli producono urina per secrezione
- Le cellule che tappezzano le pareti dei tubuli estraggono dal sangue solamente sostanze di rifiuto selezionate
- *Bovichthys variegatus* della Nuova Zelanda, uno dei nototenioidi che vivono in acque temperate, possiede molti glomeruli
- È tra i – specializzati
- Galleggiamento passivo, valore relativo = peso esemplare nell'H<sub>2</sub>O/peso fuori dall'H<sub>2</sub>O x 100
- Tanto + è vicino allo 0, tanto + è in grado di galleggiare passivamente

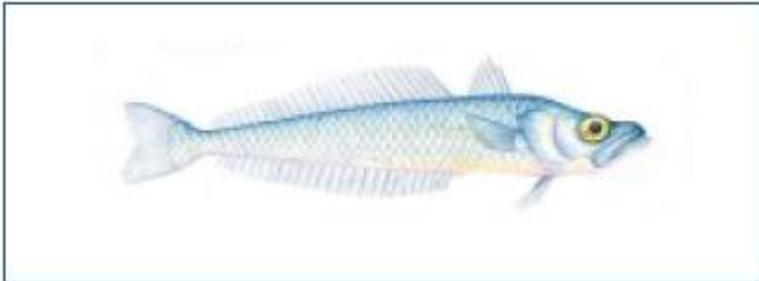


- Non possiedono vescica natatoria
- Riduzione del materiale osseo dello scheletro, cartilagine
- Vertebre cave
- Abbondanza trigliceridi
- *Pleuragramma* metodo ritenzione lipidi unico per un vertebrato: accumula il grasso in sacchetti anziché in cellule
- Abbondanti sotto la pelle nella regione pettorale, presso il centro di gravità
- Vantaggi?
- Krill scarso



Nella sezione trasversale di *Pleuragramma* si scorgono caratteristiche che contribuiscono al galleggiamento passivo, o assenza di peso, in acqua. Grazie a queste proprietà, *Pleuragramma* può vivere in acque di media profondità senza dover sprecare energia per galleggiare. È notevole la presenza di sacchetti lipidici. I lipidi, o grassi, hanno un peso specifico inferiore a quello dell'acqua di mare. Anche la notocorda, all'interno della colonna vertebrale, contribuisce al galleggiamento passivo, poiché ha un basso peso specifico. Nella maggior parte degli osteitti, invece, le vertebre sono di tessuto osseo compatto e molto pesante. (La fissazione usata per questo preparato microscopico ha fatto staccare dall'osso e restringere notevolmente la notocorda.)

# *Pleuragramma antarcticum*

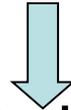


*Pleuragramma antarcticum* è  
un pesce pelagico che  
forma enormi banchi.

- Abbondante e unica specie completamente pelagica e migratoria del sistema Antartico.
- Regolazione del legame con  $O_2$  3 Hb sono molto simili.
- Il sistema di Hb risponde ai bisogni di ottimizzare l'assunzione o meno di  $O_2$  durante le migrazioni stagionali.

Riduzione adattativa del contenuto/molteplicità in Hb  
e del numero di eritrociti nel sangue del Pesci

Antartici

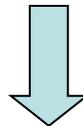


controbilancia

l'incremento di viscosità del sangue causato dalla  
temperatura sottozero dell'acqua di mare.

Contemporaneamente la bassa temperatura riduce  
la richiesta generale del metabolismo per  
l'ossigeno.

L'ossigeno, a sua volta, aumenta la sua solubilità  
all'interno del plasma



una maggiore quantità di O<sub>2</sub> può essere trasportata  
nella soluzione fisiologica e una minore quantità si  
lega all'Hb.

# Certi pesci polari vivono senza emoglobina

- I pesci della famiglia dei Channichthyidae (*Chionodraco hamatus*), teleostei unici tra i vertebrati perché del tutto privi di eritrociti ed emoglobina
- Biancastri e traslucidi *pesci a sangue bianco*, pesci del ghiaccio
- Non hanno alcun gene funzionale per sintetizzare la globina  $\beta$ , mentre il gene per l' $\alpha$ -globina è presente, ma mutato in forma inattiva per la trascrizione
- Delezione del locus della  $\beta$ -globina in un ancestrale cannictide; i geni della  $\alpha$ -globina avrebbero accumulato mutazioni che hanno causato la mancanza di espressione genica

# Certi pesci polari vivono senza emoglobina

- La bassa T deprime il tasso metabolico e il fabbisogno di  $O_2$ , e sono molto poco attivi
- Il cuore pompa almeno da 2 a 10 volte più sangue a ogni pulsazione: gettata cardiaca elevata, ottenuto da un incremento della gettata sistolica + che della frequenza cardiaca, che è bassa (14 battit/min)
- Pressione arteriosa sviluppata molto bassa

# Struttura e prestazioni del cuore dei pesci

- Il ventricolo può essere di tipo *spugnoso* o *misto*
- Il primo è differenziato in un sottile strato compatto esterno e da uno strato spugnoso interno formato da spazi radialmente delimitati e separati da trabecole. È adatto per funzionare come una pompa di volume
- Il secondo presenta una spessa parete esterna costituita da diversi strati di tessuto compatto e da uno strato spugnoso interno. È adatto per funzionare come una pompa di lavoro

# Struttura e prestazioni del cuore dei pesci

- *Chionodraco hamatus* ventricolo di tipo spugnoso
- Fibrocellule molto ricche di mitocondri e – ricche di miofilamenti
- > numero di cardiomiociti nell’“icefish” spesso disposti in “clusters”, importanti nel mantenere i flussi di O<sub>2</sub> nelle specie senza Hb

# Vivere al freddo: l'icefish privo di emoglobina

- Di dimensioni grandi: può pesare + di 2 kg e raggiungere la lunghezza di 0,6m
- Pecilotermo ectotermico
- Adattamento ad una condizione ambientale costante (-1,6 -2,4 °C) con contenuto di O<sub>2</sub> elevato
- Viscosità sangue + elevata
- $P_{O_2}$  arteriosa alta, 110 mmHg
- Piccola differenza di  $P_{O_2}$  tra sangue arterioso e venoso
- Volumi relativi di cuore e sangue + grandi (2-4 volte >)

# Vivere al freddo: l'icefish privo di emoglobina

- Vasi sanguigni di grosso calibro
- Resistenza periferica al flusso è ridotta in modo da minimizzare il lavoro compiuto dal cuore
- Gettata sistolica regolata dal riempimento diastolico secondo la legge di Starling
- Basse resistenze sia a livello branchiale che periferico
- Area delle branchie piccola e le lamelle secondarie sono spesse
- Scambio dei gas attraverso le branchie, anche se fino al 40% del fabbisogno di  $O_2$  viene assorbito attraverso la pelle
- Elevata densità di capillari cutanei