

N. Rascio



# Elementi di Fisiologia Vegetale

**II edizione**

S. Carfagna  
S. Esposito  
N. La Rocca  
M. A. Lo Gullo  
P. Trost  
V. Vona





# Elementi di Fisiologia Vegetale

N. Rascio - S. Carfagna - S. Esposito - N. La Rocca -  
M. A. Lo Gullo - P. Trost - V. Vona

11<sup>a</sup> edizione



Elementi di FISIOLOGIA VEGETALE - II Edizione  
N. Rascio - S. Carfagna - S. Esposito - N. La Rocca  
M.A. Lo Gullo - P. Trost - V. Vona  
Copyright © 2017, EdiSES s.r.l. – Napoli

9 8 7 6 5 4 3 2 1 0  
2021 2020 2019 2018 2017

*Le cifre sulla destra indicano il numero e l'anno dell'ultima ristampa effettuata*

*A norma di legge è vietata la riproduzione, anche parziale, del presente volume o di parte di esso con qualsiasi mezzo.*

L'Editore

*L'Editore ha effettuato quanto in suo potere per richiedere il permesso di riproduzione del materiale di cui non è titolare del copyright e resta comunque a disposizione di tutti gli eventuali aventi diritto.*

*Fotocomposizione:*

doma book di Di Grazia Massimo – Napoli

*Fotoincisione e stampa:*

Petruzzi S.r.l. – Via Venturelli, 7/B – 06012 Città di Castello (PG)

*per conto della*

EdiSES s.r.l. – Piazza Dante, 89 – Napoli

Tel. 0817441706/07 Fax 0817441705

**www.edises.it    info@edises.it**

ISBN 978 88 7959 9207



# AUTORI

## **NICOLETTA RASCIO**

Professore ordinario, Università di Padova

## **SIMONA CARFAGNA**

Ricercatore universitario, Università Federico II di Napoli

## **SERGIO ESPOSITO**

Professore associato, Università Federico II di Napoli

## **NICOLETTA LA ROCCA**

Ricercatore universitario, Università di Padova

## **MARIA ASSUNTA LO GULLO**

Professore ordinario, Università di Messina

## **PAOLO TROST**

Professore associato, Università di Bologna

## **VINCENZA VONA**

Professore ordinario, Università Federico II di Napoli

## **Un particolare ringraziamento a**

Dott. ANDREA NARDINI

Ricercatore universitario, Università di Trieste (autore delle Schede 2.2 e 2.4)

Dott. FABIO RAIMONDI

Ricercatore universitario, Università di Messina (autore della Scheda 2.1)

Dott.ssa PATRIZIA TRIFILÒ

Ricercatore universitario, Università di Messina (autrice delle Schede 2.3 e 2.5)



# Prefazione

## della seconda edizione

Generalmente, i testi di Fisiologia Vegetale a disposizione dei nostri studenti universitari sono traduzioni italiane di trattati, piuttosto ponderosi, in lingua inglese. Ciò crea, tra la stesura originale e la disponibilità sul mercato, un *lag time* piuttosto lungo che può giocare negativamente sull'attualità dell'informazione in una disciplina sostenuta da attività di ricerca che forniscono sempre nuove informazioni sui meccanismi molecolari, biochimici, cellulari ed organismici alla base della funzionalità delle piante.

Da questa considerazione è derivata l'iniziativa, qualche anno fa, di fornire agli studenti un testo nuovo e più immediato, agile e di dimensioni adeguate all'ampiezza dei corsi di Fisiologia Vegetale dei nostri Atenei, scritto in lingua italiana da autori italiani.

L'idea ci è parsa particolarmente stimolante, per cui abbiamo aderito al progetto, mettendo a disposizione le nostre competenze scientifiche e le esperienze didattiche maturate nel campo della Fisiologia Vegetale nelle diverse Sedi di appartenenza.

Il nostro lavoro si è concretizzato nel testo di "Elementi di Fisiologia Vegetale" pubblicato nel 2012.

Le ricerche condotte in questi ultimi anni hanno fornito nuove importanti informazioni, ampliando, anche di molto, le conoscenze in diversi campi della Fisiologia Vegetale. Abbiamo quindi ritenuto che fosse necessario lavorare ad una nuova edizione del testo, aggiornandolo alla luce delle attuali conoscenze.

Come per la prima, anche per questa seconda edizione del libro, ci siamo prefissi di fornire un'informazione il più possibile completa ed aggiornata degli argomenti trattati e di svilupparli, anche quando particolarmente complessi, attraverso un linguaggio semplice, chiaro e didatticamente efficace, arricchito anche da numerose figure esplicative. In diversi capitoli, inoltre, sono state aggiunte ulteriori schede di approfondimento riguardanti particolari aspetti delle tematiche affrontate che, se inseriti nel testo, avrebbero reso meno fluida e continua la trattazione.

Nella nuova edizione del libro è stata mantenuta la considerazione degli argomenti principali della Fisiologia Vegetale: la germinazione dei semi, il bilancio idrico della pianta, la nutrizione minerale, il metabolismo energetico fotosintetico e respiratorio, l'assimilazione del carbonio, dell'azoto e dello zolfo, le risposte di crescita e sviluppo delle piante ai segnali endogeni (fitoormoni) ed a quelli esogeni (luce), i movimenti delle piante e l'orientamento nello spazio.

## VI Prefazione

È stato invece tralasciato il campo, estremamente ampio, del metabolismo secondario, per il quale si rimanda a testi più specifici di Biochimica Vegetale ed Ecofisiologia Vegetale, e sono stati affrontati solo marginalmente i complessi eventi genetici e molecolari della Biologia dello Sviluppo, che sono argomento di uno specifico volume di questa stessa Casa Editrice.

La nostra intenzione è stata quella di realizzare un testo nuovo, arricchito ed attuale, rivolto a studenti che abbiano già acquisito conoscenze di Botanica e di Biologia Cellulare delle piante. Il libro, quindi, è indicato per insegnamenti di Fisiologia Vegetale collocati nel secondo-terzo anno, o negli anni successivi, di Corsi di Laurea in Biologia, ma anche di tutti gli altri Corsi di Laurea che prevedano percorsi di tipo biologico, come Biologia Molecolare, Biotecnologie, Scienze Naturali ed Ambientali, Scienze Agrarie.

**Gli Autori**



# INDICE GENERALE

|   |           |  |           |
|---|-----------|--|-----------|
| <b>Capitolo 1</b>   |           |  |           |
| <b>La pianta e l'acqua</b>  | <b>1</b>  |  |           |
| 1.1 L'acqua e le sue proprietà chimico-fisiche  | 2         |  |           |
| 1.2 Il concetto di potenziale dell'acqua  | 3         |  |           |
| 1.3 Il suolo e l'acqua  | 5         |  |           |
| <b>Scheda 1.1 – Misura del potenziale dell'acqua di tessuti e organi vegetali e dello stato idrico della pianta</b> | <b>10</b> |  |           |
|   |           | <b>Scheda 2.4 – Cambiamenti climatici, mortalità delle foreste e vulnerabilità all'embolia xilematica a cura di Andrea Nardini</b>   | <b>53</b> |
|   |           | <b>Scheda 2.5 – Ruolo dell'organizzazione delle venature fogliari sulla conduttanza idraulica fogliare e, quindi, sulla produttività dell'intera pianta a cura di Patrizia Trifilò</b> | <b>56</b> |
| <b>Capitolo 2</b>   |           |  |           |
| <b>Il bilancio idrico della pianta</b>  | <b>16</b> |  |           |
| 2.1 L'assorbimento dell'acqua nella radice  | 17        |  |           |
| 2.2 La pressione radicale   | 19        |  |           |
| 2.3 Il trasporto xilematico   | 20        |  |           |
| 2.3.1 Lo xilema   | 21        |  |           |
| 2.3.2 La teoria della Tensione-Coesione (T-C)   | 23        |  |           |
| 2.3.3 L'embolia xilematica  | 26        |  |           |
| 2.3.4 Il recupero dei condotti embolizzati ( <i>refilling</i> xilematico)   | 28        |  |           |
| 2.4 La traspirazione  | 30        |  |           |
| 2.4.1 La teoria del continuum suolo-pianta-atmosfera (SPAC)   | 34        |  |           |
| 2.4.2 Gli stomi: organizzazione funzionalità e regolazione  | 36        |  |           |
| <b>Scheda 2.1 – Le aquaporine a cura di Fabio Raimondo</b>  | <b>44</b> |  |           |
| <b>Scheda 2.2 – Le prove sperimentali a supporto della teoria della Tensione-Coesione a cura di Andrea Nardini</b>  | <b>47</b> |  |           |
| <b>Scheda 2.3 – L'“effetto ionico” nella conduttanza xilematica a cura di Patrizia Trifilò</b>                      | <b>50</b> |  |           |
|   |           | <b>Capitolo 3</b>  |           |
|   |           | <b>Il suolo, la radice e la nutrizione minerale</b>  | <b>59</b> |
|   |           | 3.1 I nutrienti essenziali: macro e micronutrienti   | 60        |
|   |           | 3.2 Le carenze di nutrienti minerali   | 60        |
|   |           | 3.3 Il suolo e i nutrienti minerali  | 63        |
|   |           | 3.4 L'assorbimento dei nutrienti minerali  | 66        |
|   |           | 3.5 Il trasporto attraverso la membrana  | 67        |
|   |           | 3.5.1 Le pompe e il trasporto attivo primario  | 67        |
|   |           | 3.5.2 Il trasporto attraverso carrier e canali   | 68        |
|   |           | 3.6 L'acquisizione di nutrienti mediante l'acidificazione della rizosfera  | 75        |
|   |           | 3.7 Le radici esplorano il suolo   | 77        |
|   |           | 3.8 L'assorbimento di soluti da differenti zone della radice   | 79        |
|   |           | 3.9 L'assorbimento radiale di soluti e il trasporto allo xilema  | 80        |
|   |           | 3.10 Le micorrize  | 82        |
|   |           | 3.11 Le radici a grappolo  | 86        |
|   |           | <b>Scheda 3.1 – Le colture idroponiche</b>   | <b>89</b> |
|   |           | <b>Scheda 3.2 – Le pompe protoniche</b>  | <b>91</b> |
|   |           | <b>Scheda 3.3 – L'equazione di Nernst</b>  | <b>96</b> |

## Capitolo 4 La luce come risorsa energetica: le reazioni luminose della fotosintesi

97

|       |   |     |
|-------|---|-----|
| 4.1   | I pigmenti fotosintetici  | 98  |
| 4.1.1 | Le clorofille   | 101 |
| 4.1.2 | I carotenoidi   | 104 |
| 4.1.3 | Le ficobiliproteine   | 106 |
| 4.2   | Il fotosistema  | 107 |
| 4.3   | La fotosintesi anossigenica e ossigenica  | 109 |
| 4.4   | La membrana tilacoidale   | 109 |
| 4.4.1 | Il fotosistema II   | 111 |
| 4.4.2 | Il complesso citocromico $b_6f$   | 119 |
| 4.4.3 | Il fotosistema I  | 121 |
| 4.4.4 | La ferredossina e la ferredossina-NADP <sup>+</sup> riduttasi                           | 125 |
| 4.4.5 | Il complesso dell'ATP sintasi   | 125 |
| 4.5   | Il flusso lineare e il flusso ciclico di elettroni                                      | 127 |
| 4.5.1 | I percorsi del flusso ciclico di elettroni  | 128 |
| 4.6   | La fotoinibizione e la fotoprotezione del PSII  | 130 |
| 4.6.1 | I meccanismi fotoprotettivi fogliari  | 131 |
| 4.6.2 | Il <i>quenching</i> non fotochimico dell'energia luminosa nell'antenna esterna del PSII | 131 |
| 4.6.3 | I meccanismi di fotoprotezione del centro di reazione                                   | 134 |
| 4.6.4 | Le transizioni di stato   | 136 |
| 4.6.5 | Il ciclo di riparazione del PSII  | 138 |
| 4.7   | La fotoinibizione e la fotoprotezione del PSI   | 140 |
| 4.7.1 | Il flusso ciclico di elettroni nella fotoprotezione del PSI                             | 141 |
| 4.7.2 | La cloro-respirazione   | 142 |
| 4.7.3 | La valvola a malato   | 142 |
| 4.7.4 | Il ciclo acqua-acqua  | 143 |
|       | Scheda 4.1 – La fotosintesi non clorofilliana   | 147 |
|       | Scheda 4.2 – I tetrapirroli e le clorofille   | 150 |
|       | Scheda 4.3 – La carotenogenesi e il ciclo della violaxantina                            | 154 |
|       | Scheda 4.4 – I plastidi   | 158 |
|       | Scheda 4.5 – L'evoluzione della fotosintesi e degli organismi fotosintetici             | 165 |

## Capitolo 5 Le reazioni fotosintetiche del carbonio

169

|       |   |     |
|-------|---|-----|
| 5.1   | Il ciclo di Calvin-Benson   | 171 |
| 5.1.1 | Le fasi di carbossilazione, riduzione e rigenerazione del ciclo di Calvin-Benson                | 173 |
| 5.1.2 | La regolazione del ciclo di Calvin-Benson   | 177 |
| 5.2   | I principali prodotti finali dell'organizzazione fotosintetica del carbonio: amido e saccarosio | 183 |
| 5.2.1 | La biosintesi del saccarosio  | 184 |
| 5.2.2 | La biosintesi e l'architettura dei granuli d'amido  | 186 |
| 5.2.3 | I rapporti fisiologici tra cloroplasto e citosol: allocazione dei fotosintati                   | 190 |
| 5.2.4 | Gli zuccheri come molecole segnale  | 194 |
| 5.3   | La partizione dei fotosintati: organi <i>sink</i> e organi <i>source</i>                        | 195 |
| 5.4   | Il rapporto tra organi <i>source</i> e organi <i>sink</i> mediato dal floema                    | 197 |
| 5.4.1 | Le modalità di caricamento e scaricamento del floema  | 199 |
| 5.4.2 | La traslocazione floematica da <i>source</i> a <i>sink</i>                                      | 203 |
| 5.5   | La fotorespirazione   | 206 |
| 5.5.1 | La specificità della Rubisco e l'influenza ambientale sulla fotorespirazione                    | 207 |
| 5.5.2 | Il metabolismo fotorespiratorio   | 210 |
| 5.6   | I meccanismi di concentrazione della CO <sub>2</sub> : le piante C <sub>4</sub>                 | 214 |
| 5.6.1 | Le varianti del metabolismo C <sub>4</sub>  | 218 |
| 5.6.2 | La regolazione degli enzimi del metabolismo C <sub>4</sub>                                      | 223 |
| 5.6.3 | Gli equilibri tra CO <sub>2</sub> gassosa interna, CO <sub>2</sub> disciolta e bicarbonato      | 223 |
| 5.7   | I meccanismi di concentrazione della CO <sub>2</sub> : le piante CAM                            | 224 |
| 5.8   | L'ecofisiologia della fotosintesi   | 228 |
| 5.8.1 | La fotosintesi lorda e la fotosintesi netta   | 228 |
| 5.8.2 | Le risposte fotosintetiche alla luce e alla CO <sub>2</sub>                                     | 228 |

|   |     |
|---|-----|
| Scheda 5.1 – Le piante parassite  | 232 |
| Scheda 5.2 – La Rubisco: l'enzima più abbondante del pianeta  | 237 |
| Scheda 5.3 – La gliceraldeide 3-fosfato deidrogenasi e la fosforibulochinasi: quando la regolazione del ciclo di Calvin-Benson diventa un fatto complesso | 241 |
| Scheda 5.4 – Il metabolismo C <sub>4</sub> a cellula singola  | 243 |
| Scheda 5.5 – Il ciclo del carbonio, la produzione primaria e i cambiamenti globali  | 246 |
| Scheda 5.6 – Sicurezza alimentare e produttività primaria in agricoltura  | 251 |

## Capitolo 6 Il metabolismo respiratorio **257**

|   |     |
|---|-----|
| 6.1 La degradazione dell'amido  | 258 |
| 6.1.1 La degradazione idrolitica dell'amido di riserva                  | 259 |
| 6.1.2 La degradazione fosforolitica dell'amido di riserva               | 261 |
| 6.2 La degradazione dei fruttani  | 262 |
| 6.3 La degradazione del saccarosio                                      | 264 |
| 6.4 La glicolisi nelle cellule vegetali                                 | 264 |
| 6.5 La via ossidativa dei pentosi fosfati                               | 271 |
| 6.5.1 La via ossidativa dei pentosi fosfati plastidiale                 | 274 |
| 6.6 La respirazione mitocondriale                                       | 275 |
| 6.6.1 Il ciclo di Krebs   | 275 |
| 6.7 La regolazione delle vie respiratorie                               | 280 |
| 6.8 La catena di trasporto degli elettroni nei mitocondri vegetali      | 282 |
| 6.8.1 Le peculiarità della catena di trasporto negli elettroni vegetali | 288 |
| 6.8.2 La via dell'ossidasi alternativa o via cianuro-resistente         | 289 |
| 6.8.3 La proteina disaccoppiante della membrana mitocondriale interna   | 291 |
| 6.9 Le fermentazioni  | 292 |
| 6.10 La demolizione delle riserve lipidiche dei semi                    | 294 |
| Scheda 6.1 – L'ATP sintasi mitocondriale                                | 300 |

## Capitolo 7 L'assimilazione dell'azoto e dello zolfo **302**

|   |     |
|---|-----|
| 7.1 L'azoto                                   | 303 |
| 7.1.1 L'assorbimento di azoto dal suolo       | 303 |
| 7.1.2 L'assimilazione dell'azoto nella pianta | 305 |
| 7.1.3 L'eterotrofia per l'azoto               | 311 |
| 7.1.4 Il ciclo dell'azoto                     | 312 |
| 7.1.5 La fissazione biologica dell'azoto      | 315 |
| 7.2 Lo zolfo                                  | 325 |
| 7.2.1 Il ciclo biogeochimico dello zolfo      | 325 |
| 7.2.2 L'assorbimento del solfato nelle piante | 326 |
| 7.2.3 La riduzione assimilativa del solfato   | 327 |
| 7.2.4 L'organico del solfuro                  | 329 |
| 7.2.5 La solfatazione                         | 332 |

|  |     |
|--|-----|
| Scheda 7.1 – Gli enzimi della riduzione del nitrato ad ammonio     | 335 |
| Scheda 7.2 – Le piante carnivore                                   | 340 |
| Scheda 7.3 – Ulteriori percorsi del ciclo biogeochimico dell'azoto | 345 |
| Scheda 7.4 – La nitrogenasi  | 347 |

## Capitolo 8 Gli ormoni nella crescita e nello sviluppo della pianta **349**

|   |     |
|---|-----|
| 8.1 L'auxina  | 351 |
| 8.1.1 Le auxine naturali e le auxine sintetiche             | 351 |
| 8.1.2 I siti di produzione e le vie biosintetiche dell'IAA  | 353 |
| 8.1.3 Il metabolismo dell'IAA                               | 353 |
| 8.1.4 Il trasporto dell'auxina                              | 353 |
| 8.1.5 La ricezione e la trasduzione del segnale dell'auxina | 358 |
| 8.1.6 I ruoli biologici dell'auxina                         | 362 |
| 8.1.7 Gli usi commerciali di auxine sintetiche              | 366 |
| 8.2 Le gibberelline   | 367 |
| 8.2.1 La biosintesi e il metabolismo delle gibberelline     | 367 |

## X Indice generale

|       |   |     |       |   |            |
|-------|---|-----|-------|---|------------|
| 8.2.2 | I siti di produzione e la traslocazione delle GA                          | 370 | 8.6.4 | I ruoli biologici dei brassinosteroidi  | 421        |
| 8.2.3 | La recezione e la trasduzione del segnale delle gibberelline              | 370 | 8.6.5 | L'uso commerciale di brassinosteroidi   | 423        |
| 8.2.4 | I ruoli biologici delle gibberelline                                      | 373 | 8.7   | Gli strigolattoni   | 423        |
| 8.2.5 | Gli usi commerciali di GA e di ritardanti di crescita                     | 377 | 8.7.1 | Gli strigolattoni naturali e gli strigolattoni sintetici  | 424        |
| 8.3   | Le citochinine  | 377 | 8.7.2 | La via biosintetica degli strigolattoni   | 424        |
| 8.3.1 | Le citochinine naturali e le citochinine sintetiche                       | 378 | 8.7.3 | I siti di produzione e la traslocazione degli strigolattoni   | 427        |
| 8.3.2 | I siti di produzione e le vie biosintetiche delle citochinine             | 380 | 8.7.4 | La recezione e la trasduzione del segnale degli strigolattoni   | 427        |
| 8.3.3 | Il metabolismo delle citochinine  | 381 | 8.7.5 | I ruoli biologici degli strigolattoni   | 429        |
| 8.3.4 | Il trasporto delle citochinine  | 383 |       | <b>Scheda 8.1</b> – Le vie di trasduzione del segnale   | 433        |
| 8.3.5 | La recezione e la trasduzione del segnale delle citochinine               | 384 |       | <b>Scheda 8.2</b> – I sistemi ubiquitina/proteasoma 26S e ubiquitina/vacuolo nella demolizione delle proteine | 438        |
| 8.3.6 | I ruoli biologici delle citochinine                                       | 386 |       | <b>Capitolo 9</b>   |            |
| 8.3.7 | Gli usi commerciali di citochinine  | 391 |       | <b>La luce come segnale ambientale: fotorecettori e fotomorfogenesi</b>                                       | <b>444</b> |
| 8.4   | L'acido abscissico  | 392 | 9.1   | I fotorecettori della luce rossa: i fitocromi   | 448        |
| 8.4.1 | I siti di produzione e le vie biosintetiche dell'acido abscissico         | 392 | 9.1.1 | Le caratteristiche molecolari del fitocromo   | 448        |
| 8.4.2 | Il metabolismo dell'ABA   | 393 | 9.1.2 | La famiglia dei fitocromi   | 451        |
| 8.4.3 | Il trasporto dell'ABA   | 393 | 9.1.3 | Le risposte delle piante a diverse quantità di luce rossa   | 451        |
| 8.4.4 | La recezione e la trasduzione del segnale dell'acido abscissico           | 395 | 9.1.4 | L'attivazione del fitocromo e la trasduzione del segnale della luce rossa                                     | 453        |
| 8.4.5 | I ruoli biologici dell'ABA  | 398 | 9.1.5 | La sindrome di evitazione dell'ombra  | 459        |
| 8.4.6 | L'uso commerciale dell'ABA  | 405 | 9.1.6 | L'induzione fotoperiodica della fioritura   | 463        |
| 8.5   | L'etilene   | 405 | 9.2   | I fotorecettori della luce UV-A/blu   | 466        |
| 8.5.1 | I siti di produzione, la biosintesi e il metabolismo dell'etilene         | 406 | 9.2.1 | I criptocromi   | 466        |
| 8.5.2 | Il trasporto dell'etilene   | 408 | 9.2.2 | Le fototropine  | 472        |
| 8.5.3 | La recezione e la trasduzione del segnale dell'etilene                    | 408 | 9.2.3 | La famiglia di fotorecettori Zeilupe  | 478        |
| 8.5.4 | I ruoli biologici dell'etilene  | 411 | 9.3   | Il fotorecettore della luce UV-B  | 479        |
| 8.5.5 | Gli usi commerciali dell'etilene e dei suoi inibitori                     | 415 | 9.3.1 | L'attivazione dell'UVR8 e la trasduzione del segnale della luce UV-B  | 480        |
| 8.6   | I brassinosteroidi  | 416 |       |   |            |
| 8.6.1 | I siti di produzione, la biosintesi e il metabolismo dei brassinosteroidi | 416 |       |   |            |
| 8.6.2 | La traslocazione dei brassinosteroidi                                     | 418 |       |   |            |
| 8.6.3 | La recezione e la trasduzione del segnale dei brassinosteroidi            | 418 |       |   |            |



|                                 |   |            |   |  |            |
|---------------------------------|---|------------|---|--|------------|
| 9.3.2                           | Gli effetti della luce UV-B bioattiva                       | 481        | 10.7.3  | La mobilitazione dei lipidi  | 514        |
| 9.4                             | La luce verde nelle segnalazioni morfogenetiche             | 482        | 10.8  | Le modalità di crescita della plantula                                       | 515        |
|                                 | <b>Scheda 9.1 – L'orologio biologico</b>                    | 483        |   | <b>Scheda 10.1 – La regolazione della maturazione del seme</b>               | 518        |
|                                 |   |            |   | <b>Scheda 10.2 – La conservazione dei semi</b>                               | 519        |
|                                 |   |            |   | <b>Scheda 10.3 – La biosintesi degli acidi grassi nei plastidi</b>           | 520        |
|                                 |   |            |   | <b>Scheda 10.4 – Gli acidi grassi insoliti dei triacilgliceroli dei semi</b> | 523        |
| <b>Capitolo 10</b>              |   |            | <b>Capitolo 11</b>                              |  |            |
| <b>I semi e la germinazione</b> |   | <b>490</b> | <b>L'orientamento delle piante nello spazio</b> |  | <b>525</b> |
| 10.1                            | Lo sviluppo del seme  | 492        | 11.1  | I tropismi   | 526        |
| 10.2                            | La vitalità del seme  | 492        | 11.1.1  | Il fototropismo  | 527        |
| 10.3                            | I tipi di seme  | 493        | 11.1.2  | L'eliotropismo   | 531        |
| 10.4                            | Le riserve dei semi   | 494        | 11.1.3  | Il gravitropismo   | 534        |
|                                 | 10.4.1 Le riserve glucidiche                                | 495        | 11.1.4  | L'idrotropismo della radice  | 540        |
|                                 | 10.4.2 Le riserve proteiche                                 | 499        | 11.1.5  | Il tigmotropismo   | 542        |
|                                 | 10.4.3 Le riserve lipidiche                                 | 501        | 11.2  | Le nastie  | 543        |
| 10.5                            | La dormienza dei semi                                       | 504        | 11.2.1  | La termonastia   | 544        |
|                                 | 10.5.1 La modulazione della dormienza: il ruolo ormonale    | 505        | 11.2.2  | La nictinastia   | 544        |
|                                 | 10.5.2 La modulazione della dormienza: i fattori ambientali | 507        | 11.2.3  | La tigonastia e la sismonastia   | 549        |
| 10.6                            | La germinazione   | 509        | 11.2.4  | L'idronastia   | 553        |
| 10.6.1                          | L'idratazione   | 509        | 11.3  | Le nutazioni   | 553        |
|                                 | 10.6.2 Gli eventi biochimici                                | 511        |   | <b>Scheda 11.1 – L'orologio dei fiori di Linneo</b>                          | 557        |
|                                 | 10.6.3 La sintesi di proteine ed acidi nucleici             | 511        |   | <b>Indice analitico</b>  | <b>559</b> |
| 10.7                            | L'utilizzo delle riserve                                    | 512        |   |  |            |
|                                 | 10.7.1 La mobilitazione dei carboidrati                     | 512        |   |  |            |
|                                 | 10.7.2 La mobilitazione delle proteine                      | 514        |   |  |            |





# Capitolo 8

Nicoletta Rascio

## GLI ORMONI NELLA CRESCITA E NELLO SVILUPPO DELLA PIANTA

- ▲ 8.1 L'auxina
- ▲ 8.2 Le gibberelline
- ▲ 8.3 Le citochinine
- ▲ 8.4 L'acido abscissico
- ▲ 8.5 L'etilene
- ▲ 8.6 I brassinosteroidi
- ▲ 8.7 Gli strigolattoni

### SCHEDA

- 8.1 Le vie di trasduzione del segnale
- 8.2 I sistemi ubiquitina/proteasoma 26S e ubiquitina/vacuolo nella demolizione delle proteine

## Premessa

Nelle piante, così come negli animali, il coordinamento e la regolazione degli eventi ordinati di crescita e sviluppo dell'organismo richiedono un'efficiente comunicazione tra cellule, tessuti e organi, che si ottiene attraverso la sintesi e la traslocazione di molecole segnale. Questa importante funzione di messaggeri chimici è svolta principalmente dagli **ormoni** (dal greco *ormao* = stimolo).

Come gli ormoni animali così gli ormoni vegetali (detti anche **fitoormoni**) possono definirsi sostanze naturali che intervengono, a basse concentrazioni, sui processi fisiologici dell'organismo.

Negli animali esistono siti altamente specifici di sintesi di un dato ormone, che ha, a sua volta, funzioni specifiche su un preciso evento fisiologico svolto da **cellule bersaglio** anche molto distanti. Nelle piante, invece, il sito di produzione di un ormone, così come i suoi effetti, non sono altrettanto definiti. Come vedremo nella successiva trattazione, un fitoormone può essere sintetizzato in organi diversi della pianta, può agire non solo su cellule distanti dal luogo di produzione, ma anche su cellule vicine, o addirittura sulla stessa cellula che lo ha prodotto, e può indurre risposte diverse a seconda della sua concentrazione o dell'organo su cui agisce. Inoltre, nelle piante, un tipo di ormone può influenzare numerosi eventi di sviluppo e, per contro, uno stesso evento di sviluppo può dipendere dall'interazione di diversi tipi di ormoni, operanti in sinergia o antagonismo tra loro. Ciò non toglie che la pianta sia in grado di rispondere in modo corretto ai complessi segnali ormonali. In un dato momento del suo ciclo di crescita e sviluppo, infatti, un dato ormone indurrà in una data cellula bersaglio una precisa risposta fisiologica. Naturalmente le cellule bersaglio di un ormone sono quelle che possiedono i **recettori** per quell'ormone, cioè le molecole, generalmente proteiche, che, legando in modo specifico e reversibile l'ormone, attivano la via intracellulare di trasduzione del segnale ormonale che porta alla risposta fisiologica (**SCHEDA 8.1**).

È qui da considerare che, a differenza della maggior parte degli animali, le piante, come organismi sessili, non possono cambiar luogo per sfuggire a condizioni ambientali sfavorevoli. Ciò ha portato le piante ad evolvere raffinati meccanismi, che le mettono in grado di recepire una serie di segnali provenienti dall'esterno, per adeguarsi ai cambiamenti, prevedibili o accidentali, dei diversi fattori dell'ambiente in cui devono condurre l'intero percorso vitale. Un fattore altamente variabile e di fondamentale importanza per le piante è la luce che, oltre a costituire la principale risorsa energetica, è anche una fonte di segnalazione per la regolazione di tutti i processi di crescita e sviluppo correlati con la **fotomorfogenesi** dell'organismo vegetale. Come vedremo nel capitolo specifico, anche per l'induzione delle risposte delle piante ai messaggi luminosi sono richiesti dei recettori (**foto-recettori**), cioè composti che assorbono la luce a lunghezze d'onda appropriate, attivandosi e innescando la via cellulare di trasduzione del segnale.

Nella regolazione degli eventi di crescita e sviluppo delle piante si stabiliscono così complesse interazioni tra i fattori endogeni e fra questi e i fattori ambientali, attraverso **dialoghi incrociati (cross-talks)** delle vie di segnalazione. Gli ormoni, i cui effetti vengono di solito trattati singolarmente per semplicità, nella pianta possono influenzarsi a vicenda, interferendo sul metabolismo o sui segnali l'uno dell'altro. Di conseguenza, un dato evento di sviluppo può essere visto come la risultante delle azioni combinate di un **sistema ormonale unitario** su cui, a loro volta, intervengono le segnalazioni di importanti fattori esogeni, come la luce, la temperatura ed anche la disponibilità di nutrienti inorganici essenziali come fosfato, nitrato e solfato. Ciò dà luogo a un'enorme varietà di possibili combinazioni per la regolazione dello sviluppo della pianta e per gli adattamenti alle variazioni delle condizioni dell'ambiente di crescita.

Da tempo si conoscono come ormoni vegetali l'**auxina**, le **gibberelline**, le **citochinine**, l'**acido abscissico**, l'**etilene** e i **brassinoste-**



**roidi**. A questi, negli ultimi anni, si è aggiunta una nuova classe di composti con riconosciuta attività ormonale rappresentata dagli **strigolattoni**. Le classi di fitoormoni, comunque, sono destinate ad aumentare, perché sempre nuove molecole con funzioni regolatorie sullo sviluppo delle piante vengono segnalate.

Ai composti con precise e riconosciute funzioni ormonali si aggiungono poi ulteriori sostanze con importanti ruoli di segnalazione, sia in eventi di crescita e sviluppo che nelle risposte delle piante agli stress biotici ed abiotici. Tra queste vi sono le **poliammine**, l'**acido salicilico**, le **ossilipine** (come **acido jasmonico** e **jasmonati**), gli **oligosaccaridi** e il polipeptide **sistemina**. L'elenco di questi agenti di segnalazione è in continua crescita e recentemente un ruolo essenziale è stato assegnato anche ad amminoacidi, come il **glutammato**, e a zuccheri, come il **glucosio**, il **fruttosio**, il **saccarosio** e il **trealosio 6-fosfato**. Il coinvolgimento come molecole segnale in numerosi eventi di crescita e sviluppo e in risposte a diversi stress è stato riconosciuto anche per forme di ROS (*Reactive Oxygen Species*), come il **perossido di idrogeno** ( $H_2O_2$ ), e di RNS (*Reactive Nitrogen Species*), come l'**ossido nitrico** (**NO**). Nelle piante, inoltre, un ruolo di segnalazione è svolto dall'**ATP extracellulare** (**eATP**), di cui già da tempo erano note le numerose implicazioni fisiologiche nelle cellule animali. L'eATP, rilasciato nell'apoplasto attraverso ferite, vescicole esocitotiche o trasportatori, oltre che in diversi eventi di crescita e sviluppo è coinvolto in risposte di difesa delle cellule vegetali contro l'attacco di patogeni. Ciò richiama la funzione dell'eATP nelle risposte infiammatorie delle cellule animali.

In diversi capitoli del libro viene riportata l'azione di alcuni di questi ulteriori agenti di segnalazione in specifici eventi metabolici, nutrizionali, di sviluppo o di risposta a fattori ambientali.

Per la trattazione completa e approfondita di queste molecole segnale si rimanda a testi più ampi di Fisiologia Vegetale.

## 8.1 L'auxina

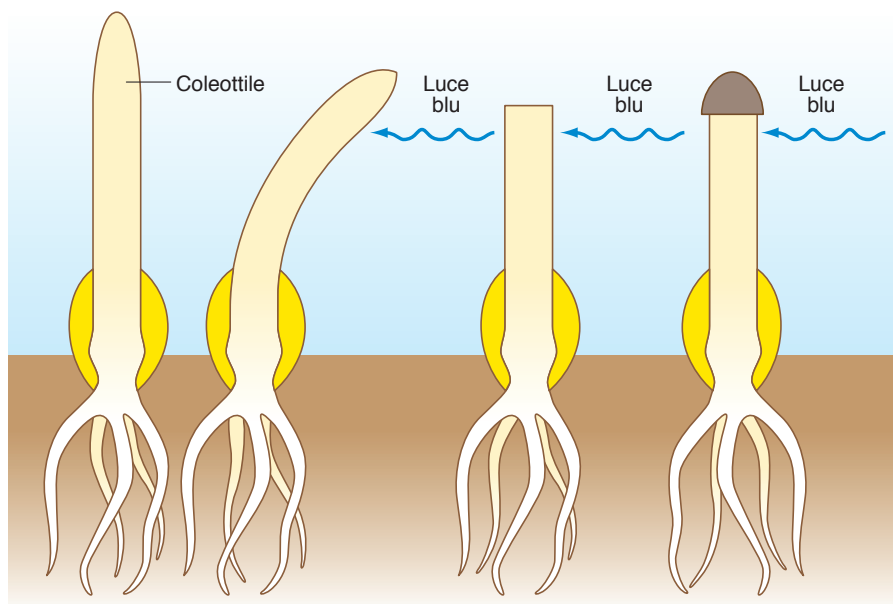
L'auxina è stato il primo ormone vegetale ad essere studiato.

La storia dell'auxina inizia nel 1880 con l'osservazione di Charles Darwin del movimento **fototropico** del coleottilo di una graminacea (*Phalaris canariensis*). Nell'esperimento di Darwin, esemplificato nella **FIGURA 8.1**, il coleottilo, illuminato su un lato con luce blu, si curvava verso la sorgente di luce. Se l'apice del coleottilo veniva tagliato, o se veniva coperto con un cappuccio opaco, la curvatura non avveniva più. L'apice quindi percepiva il segnale luminoso, che veniva trasferito in qualche modo alla sottostante zona di crescita, dove una maggiore distensione delle cellule sul lato buio era responsabile della curvatura del coleottilo verso la luce.

Una serie di successivi esperimenti, condotti da diversi ricercatori, portarono all'idea che nella risposta fototropica fosse coinvolto un fattore chimico, solubile e traslocabile, in grado di stimolare la crescita delle cellule. Fu Frits Went nel 1926 a dimostrare l'effettiva esistenza di una sostanza diffusibile induttiva della distensione cellulare e il fatto che il sito di sintesi (l'apice del coleottilo) fosse diverso dal sito di azione (la sottostante regione di distensione) lo portò a definire questa sostanza come **ormone vegetale**, a cui successivamente venne assegnato il nome di **auxina** (dal greco *auxein* = crescere) per la sua attività nell'induzione della crescita cellulare.

### ▲ 8.1.1 Le auxine naturali e le auxine sintetiche

Gli studi effettuati per definire la natura chimica dell'auxina stabilirono che si trattava dell'**acido indol-3-acetico** (**IAA**). Successivamente vennero scoperte altre sostanze (**FIGURA 8.2**) prodotte dalle piante, che avevano anch'esse attività auxinica, come l'**acido indol-3-butilirrico** (**IBA**), l'**acido 4-clorindol-3-acetico** (**4-Cl-IAA**) e l'**acido fenilacetico** (**FAA**). L'IAA è comunque l'auxi-

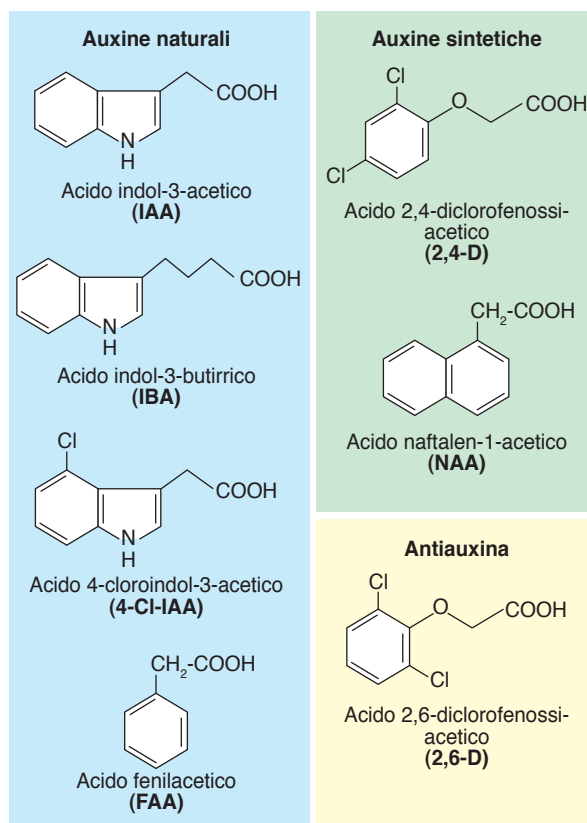


**FIGURA 8.1** Movimento fototropico del coleottile di una graminacea verso una sorgente di luce blu. Se l'apice viene asportato o coperto, il coleottile non si curva.

na più abbondante e più importante dal punto di vista fisiologico.

Oltre alle **auxine naturali** esistono attualmente in commercio numerosi composti chimici che mostrano attività auxinica (Figura 8.2) e per tale motivo sono utilizzati per pratiche agricole. Ne sono esempi l'**acido 2,4-diclorofenossiacetico (2,4-D)** e l'**acido naftalen-1-acetico (NAA)**. Questi composti, chiamati **auxine sintetiche**, possono avere formule molto diverse tra loro, ma possiedono, in comune con le auxine naturali, alcune caratteristiche molecolari che permettono loro di legarsi in modo corretto ai recettori auxinici della pianta, facendo partire le risposte ormonali.

Vengono invece definite **antiauxine** (Figura 8.2) sostanze, come l'**acido 2,6-diclorofenossiacetico (2,6-D)**, che si legano in modo non corretto ai recettori, impedendo il legame di questi con le auxine naturali e agendo, di conseguenza, come antagonisti delle molecole ormonali.



**FIGURA 8.2** Struttura chimica delle auxine naturali, di due auxine sintetiche e di un'antiauxina.

### ▲ 8.1.2 I siti di produzione e le vie biosintetiche dell'IAA

Per quanto tutti i tessuti vegetali siano potenzialmente capaci di produrre IAA, la sintesi dell'ormone avviene principalmente nei meristemi e nei giovani tessuti in crescita.

In una pianta sono siti primari di produzione dell'IAA gli apici del germoglio, le giovani foglie e i semi in via di sviluppo. Anche il meristema apicale della radice sintetizza l'ormone, però la maggior parte dell'IAA che opera nella radice arriva a quest'organo per traslocazione dai siti di sintesi della parte aerea.

Nelle piante esistono più vie biosintetiche di IAA che hanno il **triptofano**, sintetizzato nei plastidi, come precursore (**vie triptofano-dipendenti**) e derivano il nome da intermedi specifici. Si distinguono così la via dell'**acido indol-3-piruvico (IPA)**, della **triptammina (TAM)** e dell'**indol-3-acetammide (IAM)** (FIGURA 8.3A) a cui, nelle brassicacee, si aggiunge l'ulteriore via dell'**indol-3-acetaldossima (IAOx)**. Oltre alle vie triptofano-dipendenti, nelle piante operano vie di sintesi di IAA **triptofano-indipendenti**, una delle quali parte da un precursore del triptofano, l'**indol-3-glicerolo fosfato** (Figura 8.3A).

A tutt'oggi non sono stati chiariti del tutto i dettagli biochimici e molecolari dei diversi e talvolta complessi percorsi che portano alla produzione di IAA, ma è stato riconosciuto che la via biosintetica predominante è quella triptofano-dipendente dell'acido indol-3-piruvico. Questa via, descritta in *Arabidopsis*, comprende due reazioni. Nella prima il triptofano viene convertito a IPA da una **amminotrasferasi (TAA1: Tryptophan Amminotransferase of Arabidopsis 1)** e nella seconda l'IPA viene utilizzato come substrato da una **flavina monoossigenasi** della famiglia **YUC** per produrre IAA.

È possibile che le diverse vie di sintesi dell'IAA siano tessuto-specifiche, o che vengano attivate in momenti precisi del ciclo vitale della pianta. Sicuramente esse garantiscono alla pianta la produzione delle quantità necessarie di IAA, a dimostrazione dell'importanza di que-

sto ormone per la realizzazione dei programmi di crescita e sviluppo della pianta stessa.

### ▲ 8.1.3 Il metabolismo dell'IAA

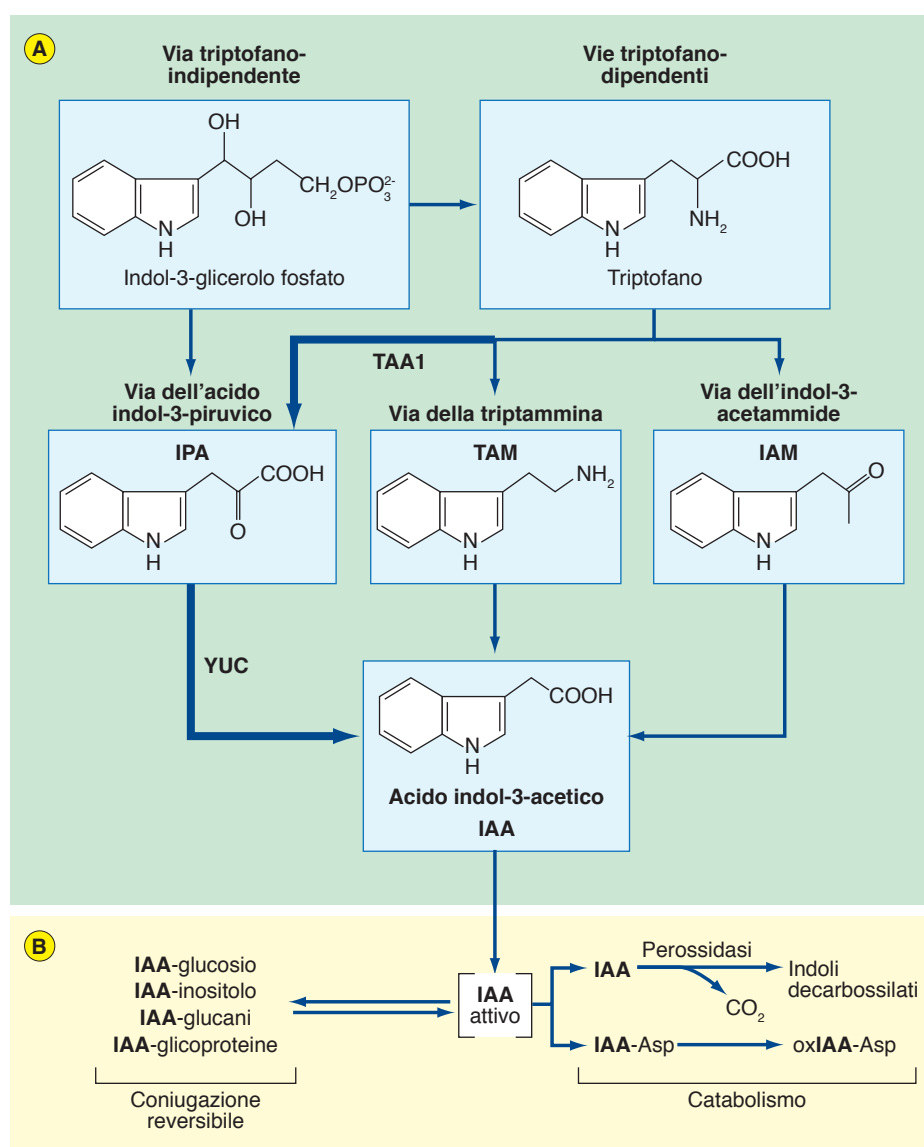
Nella pianta l'IAA oltre che in forma libera (attiva) si trova legato covalentemente (coniugato) a composti a basso (glucosio, *mio*-inositolo, amminoacidi) o alto (glucani, peptidi, glicoproteine) peso molecolare (FIGURA 8.3B). L'IAA coniugato non ha attività ormonale, ma la riacquista in seguito all'idrolisi del legame di coniugazione.

I **coniugati dell'auxina**, quindi, possono assumere la funzione di forme di riserva dell'ormone che, all'occorrenza, può essere rapidamente reso disponibile. Auxine coniugate sono particolarmente abbondanti, ad esempio, negli embrioni e nei tessuti di riserva dei semi, dove costituiscono un utile deposito ormonale. Nel seme in germinazione queste forme coniugate sono la fonte principale dell'IAA richiesto nelle fasi iniziali di crescita della plantula. Un'ulteriore funzione della coniugazione dell'IAA, inoltre, può essere quella di proteggere l'ormone dalla degradazione ossidativa. Non tutte le forme coniugate di IAA, però, hanno un ruolo nella messa in riserva o nella protezione dell'ormone. Alcuni coniugati a basso peso molecolare, come l'IAA-Aspartato (IAA-Asp), indirizzano invece l'IAA verso il catabolismo (Figura 8.3B).

La **degradazione dell'IAA** è un altro fattore essenziale per la regolazione del livello di auxina nelle cellule e può realizzarsi mediante percorsi diversi (Figura 8.3B). La via **decarbossilativa**, che coinvolge l'attività di IAA-perossidasi, degrada la molecola ormonale attraverso il distacco del gruppo carbossilico. Altre vie, **non decarbossilative**, portano all'ossidazione irreversibile dell'IAA (come oxIAA = ossindol-3-acetato) anche in forma coniugata.

### ▲ 8.1.4 Il trasporto dell'auxina

Il trasporto dell'auxina dai siti di produzione a quelli di risposta avviene attraverso due vie distinte: la **via apolare** e la **via polare**.



**FIGURA 8.3A-B** Biosintesi e metabolismo dell'IAA. **(A)** Schema semplificato di vie biosintetiche triptofano-dipendenti, definite in base ad intermedi specifici, e della via triptofano-indipendente che parte dall'indol-3-glicerolo fosfato. Nella via biosintetica predominante dell'acido indol-3-piruvico (IPA) vengono anche indicati l'amminotrasferasi TAA1 che catalizza la formazione di IPA dal triptofano e la flavina monoossigenasi YUC che opera nella tappa che porta dall'IPA all'IAA. **(B)** Esempi dell'inattivazione dell'IAA mediante coniugazione reversibile e del catabolismo per ossidazione decarbossilativa o non decarbossilativa (IAA-Asp = IAA-Aspartato, oxIAA-Asp = ossindol-3-acetato-Aspartato).

Nella **via apolare**, comune al trasporto di altri ormoni, l'auxina si sposta nel floema. Il movimento dell'auxina nella linfa floematica avviene passivamente e riveste una certa importanza per la sua traslocazione a lunga distanza, ad esempio per il trasferimento rapido

(5-10 cm/h) dalla regione apicale del germoglio alla radice.

La via di **trasporto polare**, invece, è propria dell'auxina ed è fondamentale per l'induzione di numerosi eventi di crescita e sviluppo mediati dall'ormone. Il trasporto polare dell'auxi-

na è unidirezionale, coinvolge essenzialmente la forma fisiologicamente attiva dell'ormone, avviene a velocità inferiore (5-10 mm/h) rispetto a quello non polare ed è energia-dipendente. Ciò è dimostrato dal fatto che esso viene inibito da basse temperature, veleni metabolici e mancanza di ossigeno. Le due vie di trasporto, comunque, non sono del tutto separate. Nelle giovani regioni in differenziamento dei germogli, ad esempio, auxine possono uscire dal flusso floematico apolare ed essere inserite nella via di trasporto polare.

Un percorso polare direzionato dell'auxina si realizza lungo tutto l'asse della pianta, dall'apice del germoglio fino all'apice della radice, e coinvolge principalmente le cellule parenchimali dello xilema. Questo trasporto, che ha direzione **basipeta** nel fusto ed **acropeta** nella radice, crea lungo l'asse longitudinale della pianta un gradiente di auxina, che ne determina la polarità germoglio-radice ed è responsa-

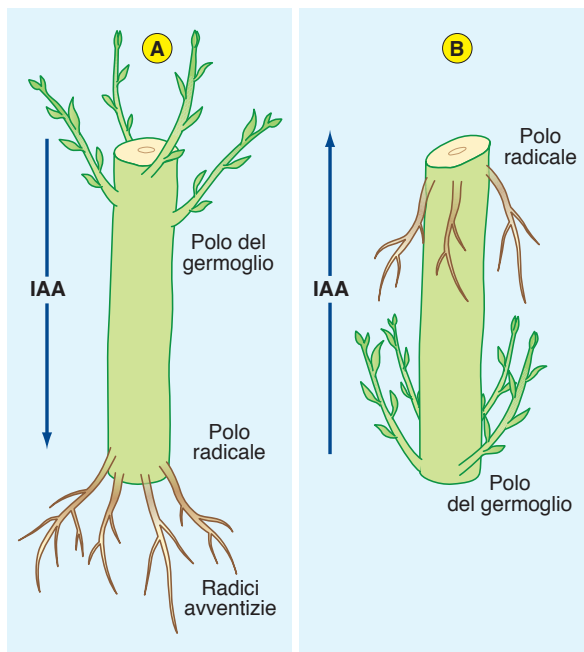
bile di diversi eventi di crescita e sviluppo, come, ad esempio, l'allungamento del fusto e della radice e la dominanza apicale.

Il trasporto polare di auxina può essere dimostrato dall'esperimento riportato nella **FIGURA 8.4A-B**. In un segmento isolato di fusto, mantenuto in ambiente umido, si formano radici (avventizie) alla sua terminazione basale (**polo radicale**), per induzione dell'auxina accumulata in quella zona dal trasporto polare. Alla terminazione apicale del segmento (**polo del germoglio**) si formano invece gemme, per la diminuzione della concentrazione di auxina conseguente, anch'essa, al trasporto polare. Se si inverte l'orientamento del segmento di fusto non cambia la direzione del trasporto dell'ormone e le radici si formano ancora a quello che rimane il polo radicale. Ciò dimostra anche che il trasporto polare dell'auxina è indipendente dalla gravità.

#### 8.1.4.1 Il trasporto polare dell'auxina

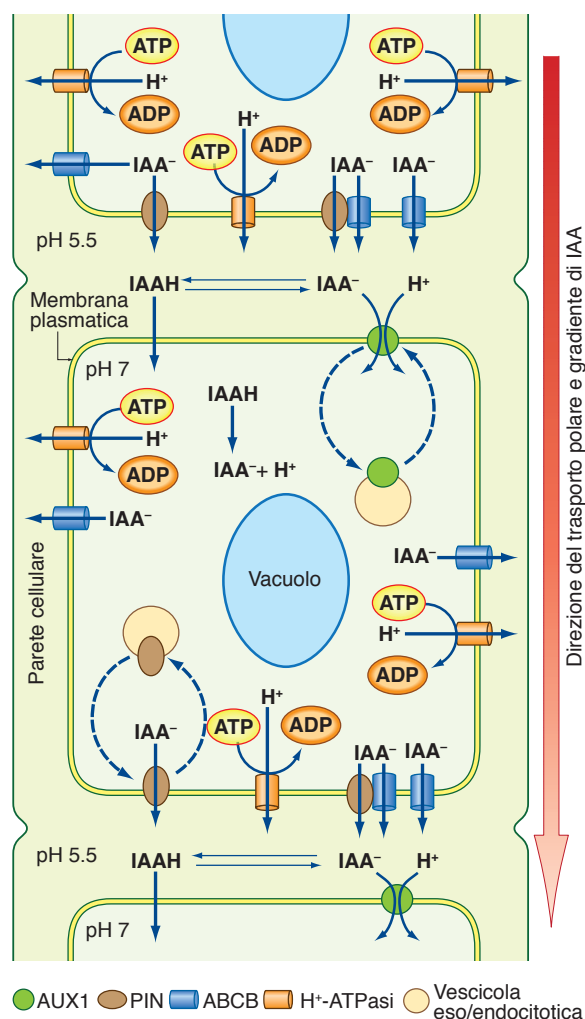
Il trasporto polare dell'auxina si basa su un meccanismo chemiosmotico che genera un flusso apoplastico → simplastico → apoplastico dell'ormone attraverso cellule successive (**FIGURA 8.5**).

Consideriamo come prima tappa l'entrata, nella cellula coinvolta nel trasporto polare, dell'auxina presente nell'ambiente apoplastico. In questo ambiente, la continua estrusione di protoni da parte dell' $H^+$ -ATPasi della membrana plasmatica mantiene la soluzione parietale su valori di pH attorno a 5-5.5. A questi valori di pH una percentuale di auxina (25%), si trova nella forma protonata (IAAH), che può entrare nella cellula diffondendo liberamente attraverso la membrana plasmatica. La percentuale predominante dell'ormone (75%) è presente invece in forma anionica ( $IAA^-$ ) e richiede l'attività di un trasportatore specifico per superare la barriera membranale. Questo trasportatore, a cui è stato dato il nome di **AUX1**, conduce l'entrata nella cellula di  $IAA^-$  in simporto con  $H^+$  ( $2H^+/IAA^-$ ) ed ha una distribuzione non omogenea nella membrana plasmatica, essendo concentrato principalmente nella parte supe-



**FIGURA 8.4A-B** Formazione di radici avventizie al polo radicale e di gemme al polo del germoglio in un segmento di ramo in posizione normale (**A**) o in posizione rovesciata (**B**). Il trasporto polare di IAA è indicato dalla direzione delle frecce.





**FIGURA 8.5** Schema del trasporto polare dell'auxina. Il flusso direzionato dell'ormone lungo le cellule dipende dalle conversioni  $\text{IAAH} \leftrightarrow \text{IAA}^- + \text{H}^+$ , causate dai valori di pH intracellulari ed extracellulari, dovuti all'attività delle H<sup>+</sup>-ATPasi della membrana plasmatica e dalla distribuzione in questa membrana dei trasportatori di ingresso (AUX1) e di efflusso (PIN) dell'IAA<sup>-</sup>. Nello schema viene anche indicata la partecipazione all'efflusso di IAA<sup>-</sup> di proteine ABCB e la collocazione dinamica di AUX1 e PIN nella membrana plasmatica, realizzata attraverso il movimento di vescicole eso/endocitotiche. (Per una spiegazione più dettagliata si veda il testo).

riore della cellula. L'auxina, entrata nella cellula sia per diffusione passiva (come IAAH) che per trasporto attivo secondario (come IAA<sup>-</sup>), si trova ora nell'ambiente citosolico, il cui pH si

aggira su valori di 7-7.2. In questa situazione l'auxina passa quasi completamente alla forma dissociata (IAA<sup>-</sup>) e come tale non può uscire liberamente dalla cellula. La sua uscita è condotta da un trasportatore, chiamato PIN, anch'esso distribuito disomogeneamente nella membrana plasmatica e collocato essenzialmente nella regione basale della cellula. L'auxina reimpressa nell'ambiente acido apoplastico torna in parte nella forma protonata ed entra nella cellula successiva attraverso i meccanismi precedentemente descritti. In tal modo il trasporto polare dell'auxina prosegue lungo tutta una serie di cellule e la direzione del flusso ormonale è determinata dalla diversa collocazione nelle membrane plasmatiche dei trasportatori di ingresso (AUX1) e di efflusso (PIN).

Il trasporto polare direzionato, che inizia con l'embriogenesi e continua lungo tutta la vita della pianta, crea gradienti di concentrazione dell'auxina, portando l'ormone, nelle diverse parti della pianta e in precisi momenti di crescita e sviluppo, alle concentrazioni ottimali per la regolazione della divisione, distensione e differenziazione delle cellule. Per tale motivo questo trasporto è fondamentale per la realizzazione dell'architettura dell'intera pianta, così come per le sue risposte adattative ai cambiamenti ambientali.

Nella pianta il trasporto polare dell'auxina non avviene solo in direzione assiale dall'apice del germoglio a quello della radice. L'auxina viene indirizzata polarmente in molte altre direzioni. Nella radice, ad esempio, l'auxina si sposta anche in senso basipeto dall'apice della radice verso la zona di differenziazione dell'organo (Figura 11.6). Questo movimento avviene attraverso le cellule laterali della cuffia e le cellule dell'epidermide e del parenchima corticale. Inoltre, la direzione dei flussi polari di auxina può essere modificata nella pianta in particolari situazioni, come accade nel gravitropismo e nel fototropismo (Capitolo 11). Tutti questi percorsi direzionati dell'auxina sono determinati dalla precisa distribuzione di AUX1 e di PIN nella membrana plasmatica delle cellule coinvolte e

le variazioni della direzione del trasporto richiedono necessariamente la ricollocazione spaziale nella membrana dei trasportatori di influsso e di efflusso dell'ormone.

C'è ora da dire che AUX1 e PIN non hanno una collocazione stabile nella membrana plasmatica. Essi, infatti, subiscono "costitutivamente" flussi ciclici che li allontanano dalla membrana e li reimmettono successivamente in essa (Figura 8.5). Così la loro ricollocazione avviene attraverso meccanismi di regolazione di questi flussi. Di fatto, le proteine di trasporto vengono internalizzate in vescicole endocitotiche dirette al sistema endosomale della cellula e da qui possono venire riciclate e riportate alla membrana plasmatica, nella nuova collocazione richiesta, attraverso vescicole esocitotiche.

#### 8.1.4.2 I trasportatori dell'auxina

Ricerche recenti hanno portato ad un notevole avanzamento delle conoscenze riguardanti sia le caratteristiche molecolari e funzionali dei trasportatori dell'auxina che i meccanismi con cui viene regolata la loro distribuzione nelle membrane cellulari.

Il trasportatore più conosciuto per l'influsso di auxina è l'**AUX1 (Auxin Resistant 1)** a cui si sono aggiunte recentemente tre proteine omologhe, identificate in *Arabidopsis* e chiamate **LAX (Like-AUX1)**. I carrier AUX1/LAX giocano un ruolo nella determinazione della direzione del trasporto polare dell'ormone attraverso la loro localizzazione asimmetrica nella membrana plasmatica. Nel trasporto polare assiale della pianta essi sono localizzati nella regione cellulare opposta rispetto alla direzione del flusso ormonale, cioè nella regione superiore della membrana delle cellule competenti. La loro localizzazione, però, cambia nel caso in cui ci sia da modificare il percorso da imprimere all'auxina. Come già detto, questa collocazione dinamica si realizza attraverso il flusso direzionato delle molecole di AUX1/LAX, mediante vescicole, dalla membrana plasmatica al sistema endosomale e dal sistema endosomale alla membrana plasmatica.

Nelle piante sono presenti, come trasporta-

tori per l'efflusso dell'auxina, diversi componenti della famiglia proteica **PIN** (8 in *Arabidopsis*, indicati con numeri progressivi) il cui nome deriva dalla forma "a spillo" dell'infiorescenza del mutante **pin1 (pin-formed1)** di *Arabidopsis*. Cinque di questi (PIN1-4 e PIN7) sono espressi nella pianta in modo specifico per diversi tessuti, o addirittura per diversi tipi cellulari, e conducono l'esporto direzionato di auxina in distinti eventi mediati dall'ormone. L'importanza dei PIN nel trasporto polare dell'auxina è dimostrata dal fatto che la velocità di efflusso di IAA<sup>-</sup> dalle cellule è proporzionale alla quantità di proteine PIN nella membrana plasmatica e che tale efflusso è inibito dall'acido **2,3,5-triodobenzoico (TIBA)** che si lega specificamente a questi trasportatori.

La collocazione dei trasportatori PIN nella membrana plasmatica delle cellule competenti è estremamente dinamica e viene modulata attraverso il rapido flusso, actina-dipendente, di vescicole endo/esocitotiche (Figura 8.5). Questo flusso ciclico è di particolare importanza per la definizione ed il mantenimento della distribuzione polare di questi trasportatori, da cui deriva la direzionalità del trasporto ormonale che nella pianta è correlato con i numerosi processi di sviluppo auxina-dipendenti. I trasportatori PIN collocati nella membrana plasmatica vengono sequestrati ed internalizzati in vescicole endocitotiche e successivamente recuperati (riciclati) dal compartimento endosomale e riinviati alla regione stabilita della membrana plasmatica attraverso il flusso direzionato di vescicole esocitotiche.

Un ruolo predominante nel riciclaggio e nell'indirizzo di PIN verso la membrana plasmatica è giocato dalla proteina **GNOM**<sup>1</sup>. Nelle

<sup>1</sup> La proteina **GNOM** appartiene alla famiglia enzimatica **GEF (Guanilic Exchange Factor)** la cui funzione è quella di attivare piccole proteine G chiamate **ARF (ADP Ribosilation Factor)**. Le proteine enzimatiche di questa famiglia (comune a piante ed animali), indicate come proteine **ARF-GEF**, catalizzano lo scambio di GDP con GTP sulle proteine ARF che nella forma attivata (legata al GTP) intervengono nella formazione di vescicole da componen-



piante questa proteina opera come regolatore del traffico vescicolare intracellulare con la funzione predominante di recuperare trasportatori PIN dal sistema endosomale e dirigerne la ricollocazione principalmente nella membrana plasmatica basale delle cellule.

Nella regolazione della polarità dei trasportatori PIN interviene anche la serina/treonina chinasi **PID** (da **PINOID**), che ha un ruolo antagonistico a quello di GNOM. Questa proteina fosforila le molecole di PIN e la fosforilazione determina il cambio di polarità. I PIN fosforilati, infatti, non entrano nel traffico vescicolare GNOM-regolato e vengono invece direzionati, in vescicole esocitotiche, verso la regione apicale della membrana plasmatica. Sarà quindi lo stato di fosforilazione di PIN a determinare la polarità basale o apicale dei trasportatori nelle membrane plasmatiche delle cellule competenti per il trasporto dell'auxina.

La constatazione che l'attività della proteina PID è, a sua volta, regolata da proteine leganti calcio (di tipo calmodulina) rivela il coinvolgimento anche di questo ione nel trasporto polare dell'auxina. Il calcio, attivando l'attività proteina chinasi di PID, è in grado di modulare, alla fine, lo stato di fosforilazione dei PIN e, di conseguenza, la loro distribuzione spaziale che direziona il trasporto dell'ormone.

Il fatto che il gene che codifica per PID sia auxina-sensibile crea un circuito a *feedback* (a retroazione) mediante il quale la stessa auxina può controllare la direzione del suo trasporto. L'auxina è in grado di regolare anche il livello del suo flusso polare modulando la quantità dei trasportatori nella membrana plasmatica. Essa, infatti, può incrementare l'espressione di geni che codificano per diversi PIN, può intervenire sul movimento delle vescicole endo/esocitotiche che escludono queste proteine dalla membrana plasmatica o le ricollocano nella membrana, e può anche indurre la demolizione di PIN attra-

ti del sistema di endomembrane cellulari. Le proteine ARF-GEF (come GNOM), agendo sullo stato di attivazione delle proteine ARF, giocano un ruolo essenziale nella regolazione della produzione di queste vescicole e del loro traffico intracellulare.

verso la via ubiquitina/vacuolo litico (**SCHEDA 8.2**).

Nell'efflusso di IAA dalle cellule, oltre alle proteine PIN sono coinvolte anche fosfo-glicoproteine (**PGP: Phospho-Glicoproteins**) di membrana, comunemente indicate come proteine **ABCB** (Figura 8.5) in quanto appartenenti alla sottofamiglia B dell'ampia classe di trasportatori **ABC (ATP-Binding Cassette)**<sup>2</sup>. Le proteine ABCB non sono distribuite polarmente nella membrana plasmatica. Esse, però, oltre all'azione diretta come carrier di efflusso dell'auxina, possono operare positivamente sul trasporto direzionale PIN-mediato dell'ormone. È stato dimostrato, ad esempio, che una di queste proteine, la ABCB19, co-localizza con PIN1 e stabilizza la molecola del trasportatore nella membrana plasmatica. Ciò ostacola il flusso ciclico costitutivo endo-esocitotico di PIN1 inibendone l'internalizzazione ed incrementandone l'attività di trasporto dell'auxina.

C'è infine da segnalare che, oltre ai trasportatori collocati nella membrana plasmatica e operanti nel flusso intercellulare di auxina, esistono trasportatori intracellulari coinvolti nell'omeostasi dell'ormone nella cellula. Nelle membrane del reticolo endoplasmatico sono presenti proteine PIN "a molecola corta" (PIN5, PIN6 e PIN8) che mediano il sequestro dell'IAA in questo compartimento cellulare.

### ▲ 8.1.5 La recezione e la trasduzione del segnale dell'auxina

La maggior parte degli effetti auxinici sono elicitati intracellularmente ed alcuni di questi

<sup>2</sup> Le **ABC (ATP-Binding Cassette)** sono una classe molto ampia di proteine, la maggior parte delle quali media il trasporto, attraverso una membrana cellulare, di una vasta serie di substrati, tra cui ormoni, peptidi, zuccheri, lipidi, acidi inorganici, metaboliti secondari e xenobiotici, in modo più o meno specifico. I trasportatori di tipo ABC sono comuni ai batteri e a tutti gli organismi eucarioti e sono particolarmente numerosi nelle piante. Tipicamente le ABC sono proteine oligomeriche costituite da subunità con domini idrofobici transmembrana e domini periferici citosolici che legano l'ATP e ne accoppiano l'idrolisi al trasporto del substrato. Oltre ad operare direttamente come trasportatori, le proteine ABC possono anche interagire con altri sistemi di trasporto, modulandone l'attività.

sono determinati dalla capacità dell'auxina di indurre una rapida regolazione della trascrizione di geni il cui promotore contiene elementi di risposta all'ormone.

Ricerche recenti hanno permesso di identificare i recettori intracellulari dell'auxina e di chiarire molti dei meccanismi molecolari della via di trasduzione del segnale che porta alla regolazione dell'espressione genica (FIGURA 8.6).

Come recettore dell'auxina è stata riconosciuta la proteina nucleare **TIR1 (Transport Inhibitor Response 1)** appartenente alla famiglia delle proteine **F-box**, che sono le subunità di ricezione delle proteine bersaglio degli enzimi **E3 ubiquitina ligasi** di tipo **SCF** (Scheda 8.2).

Come detto in precedenza, i geni sensibili all'auxina contengono elementi di risposta, indicati come **AuxRE (Auxin Response Element)**, nella regione del promotore. A questi AuxRE sono legate proteine nucleari a vita breve, chiamate **ARF (Auxin Response Factor)**, che operano principalmente come attivatori (ma anche come repressori) dei geni in questione. In assenza di auxina l'attività delle ARF è impedita dal legame ad esse di altre proteine a vita breve, espresse costitutivamente e indicate come **AUX/IAA (Auxin/Indole 3-acetic acid)**. La funzione dell'**SCF<sup>TIR1</sup>** (la E3 ubiquitina ligasi che ha TIR1 come F-box) è proprio quella di catalizzare la degradazione auxina-mediata di queste proteine AUX/IAA.

Quando nel nucleo entra auxina, questa si lega direttamente a TIR1 e questo legame promuove l'associazione dell'**SCF<sup>TIR1</sup>** con le proteine AUX/IAA, attivando l'azione ligasica dell'enzima, per cui le proteine AUX/IAA vengono rapidamente poliubiquitinate e successivamente demolite attraverso il proteasoma 26S. Di conseguenza, le proteine ARF, non più bloccate dalle proteine AUX/IAA, possono svolgere (generalmente in forma dimerica) la loro azione, incrementando (o reprimendo) il livello di trascrizione del gene a cui sono legate. Le proteine AUX/IAA, quindi, operano come **regolatori negativi** indiretti della modulazione genica che porta alle risposte all'ormone.

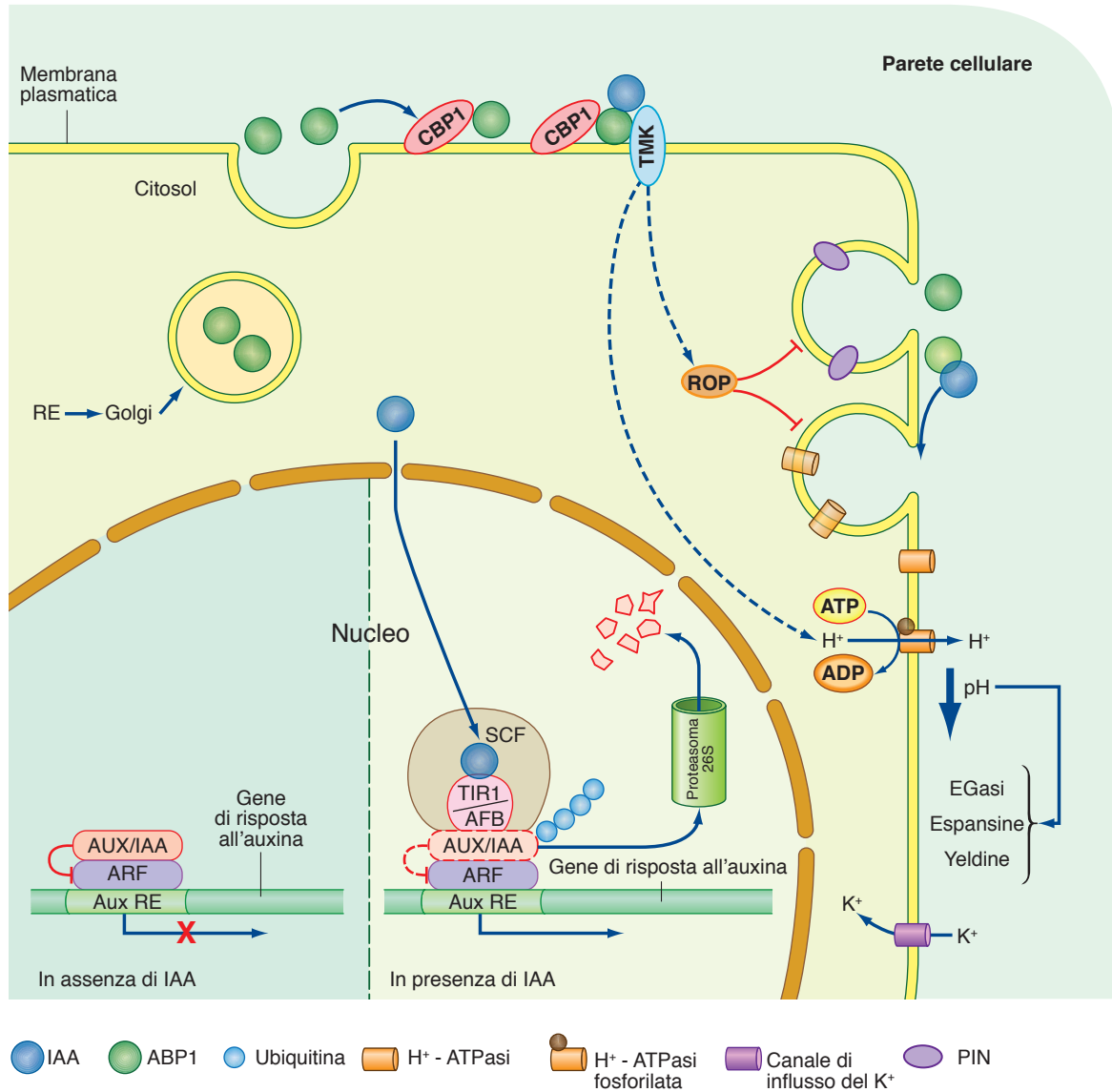
Dopo TIR1 sono state riconosciute come re-

cettori auxinici altre proteine F-box indicate come **AFB (Auxin signaling F-box Protein)**. Le AFB sono strettamente correlate a TIR1 e funzionano anch'esse in complessi E3 ubiquitina ligasi di tipo SCF.

Il modello convenzionale della segnalazione ormonale prevede che il legame dell'ormone con il recettore inneschi la formazione di una cascata di intermedi e secondi messaggeri in percorsi che, da ultimo, portano alla risposta cellulare. L'identificazione dei recettori nucleari dell'auxina (TIR1 e AFB) ha rivelato un nuovo meccanismo di segnalazione, indipendente da intermedi e basato solo su interazioni proteina-proteina. Attraverso questa via di trasduzione viene modulata la trascrizione dei numerosi geni coinvolti nei molteplici eventi di crescita e sviluppo regolati dall'ormone. Di particolare interesse risulta il fatto che l'auxina, arrivata nel nucleo, induce l'accumulo in pochi minuti dei trascritti dei geni **AUX/IAA**<sup>3</sup>. All'apparenza sembra paradossale che l'auxina induca l'espressione dei geni di proteine che funzionano nella repressione della segnalazione ormonale, ma una spiegazione si può ricavare dal quadro generale di ciò che avviene nelle cellule. L'entrata di auxina nel nucleo e il conseguente rapido crollo dei livelli di AUX/IAA, attivano la trascrizione, mediata dalle proteine ARF, dei geni auxina-sensibili, tra cui, appunto, i geni **AUX/IAA**. L'accumulo dei trascritti di questi geni e la sintesi *de novo* delle proteine AUX/IAA creano, però, un percorso a *feedback* negativo, che assicura una risposta transiente al segnale auxinico.

Nella pianta, oltre alla catena di eventi innescata dall'iniziale legame dell'auxina alle

<sup>3</sup> I geni **AUX/IAA** appartengono alla categoria dei geni precoci o **geni di risposta primaria**. Questi geni codificano principalmente per fattori di trascrizione o altre proteine di regolazione e la loro espressione, che può avvenire nel giro di minuti, è indipendente dalla sintesi *ex novo* di proteine. I **geni tardivi** o **geni di risposta secondaria**, invece, codificano per proteine coinvolte in risposte ormonali a più lungo termine, che riguardano eventi di crescita e sviluppo, e la loro espressione richiede la sintesi *ex novo* di proteine regolatorie (tra cui i prodotti dei geni di risposta primaria).



**FIGURA 8.6** Schema semplificato della ricezione e trasduzione dei segnali auxinici. Il legame dell'auxina con il recettore nucleare TIR1/AFB (proteina F-box di una E3 ubiquitina ligasi di tipo SCF) induce l'ubiquitinazione e successiva demolizione nel proteasoma 26S della proteina bersaglio AUX/IAA, che, in assenza dell'ormone, reprime l'azione della proteina ARF, un fattore di trascrizione che si lega al promotore di geni con l'elemento di risposta all'auxina (AuxRE). In seguito alla demolizione di AUX/IAA, ARF, non più represso, può agire sull'espressione di questi geni. Il legame dell'auxina al recettore extracellulare ABP1, ancorato alla membrana plasmatica dalla proteina CBP1, porta alla formazione di un complesso con la protein chinasi transmembrana TMK che attiva vie citosoliche di risposta all'ormone. Una di queste vie coinvolge proteine ROP (che agiscono sul traffico vescicolare della cellula) e porta all'inibizione dell'internalizzazione nel citosol di trasportatori PIN e dell'H<sup>+</sup>-ATPasi. La segnalazione citosolica induce anche l'attivazione (mediante fosforilazione) della H<sup>+</sup>-ATPasi della membrana plasmatica. L'aumentata estrusione di H<sup>+</sup> e la conseguente acidificazione dell'apoplasto induce l'attivazione di enzimi che causano il rammollimento della parete. Nello schema è anche rappresentata l'entrata di K<sup>+</sup> nella cellula attraverso canali di ingresso attivati dall'iperpolarizzazione della membrana plasmatica. (Per una spiegazione più dettagliata si veda il testo).

proteine F-box nucleari, esiste un ulteriore sistema di percezione dell'auxina, derivante dal legame diretto dell'ormone ad un diverso recettore proteico. Questo recettore, chiamato **ABP1 (Auxin-Binding Protein 1)**, è una glicoproteina dimerica localizzata primariamente nel lume del reticolo endoplasmatico. Oltre che nel reticolo endoplasmatico, però, una piccola quantità di ABP1 (< 20%) è collocata anche sul lato esterno della membrana plasmatica, a cui arriva attraverso le vescicole esocitotiche del Golgi (Figura 8.6). ABP1 non ha domini transmembrana, ma è ancorata alla membrana attraverso una proteina intrinseca "di attracco" (*docking protein*) indicata come **CBP1 (C-terminal peptide-Binding Protein 1)**. È il pool membranale di ABP1, che espone verso l'esterno della cellula il sito di legame per l'auxina, ad essere implicato nella mediazione delle risposte ormonali. Come recettore dell'auxina ABP1 è coinvolto in eventi di distensione e morfogenesi cellulare, di iperpolarizzazione della membrana plasmatica e di divisione delle cellule, rivestendo, anch'esso, un ruolo essenziale nei programmi di crescita e sviluppo della pianta. Nonostante gli effetti riconosciuti di ABP1 su eventi di crescita e sviluppo indotti dall'auxina, la mancanza di un suo dominio transmembrana e l'incapacità della proteina di attracco CBP1 di mediare la trasduzione del segnale ormonale all'interno della cellula avevano mantenuto qualche dubbio sulla effettiva azione di ABP1 come recettore dell'auxina. Studi recenti, però, hanno fornito importanti chiarimenti sul meccanismo di ricezione di ABP1 e su componenti della via di trasduzione citosolica del segnale ormonale. È risultato che, in seguito al legame con l'auxina, ABP1 può interagire con la proteina **TMK (Transmembrane Kinase)** della famiglia dei recettori di membrana **RLK (Receptor-Like Kinase)** (Figura 8.6). La TMK è una proteina transmembrana con un dominio citosolico ad attività protein chinasi e un dominio extracellulare che interagendo con ABP1 porta alla formazione di un complesso (ABP1-TMK) di rice-

zione e trasduzione del segnale auxinico. È stato anche dimostrato che in una via di trasduzione citosolica sono coinvolte proteine della famiglia **ROP (Rho-like GTPases from Plants)**<sup>4</sup> (Figura 8.6) regolate dal segnale ormonale. Più precisamente, l'auxina, modulando l'attività di specifici componenti di questa famiglia, interviene sul traffico intracellulare di vescicole endo/esocitotiche e inibisce l'internalizzazione di trasportatori PIN dalla membrana plasmatica regolando così il suo trasporto polare, essenziale per numerosi eventi di morfogenesi e sviluppo. Nello stesso modo l'auxina inibisce l'internalizzazione delle molecole di H<sup>+</sup>-ATPasi, stabilizzando la pompa protonica nella membrana plasmatica ed incrementandone l'attività.

Le risposte all'auxina indotte attraverso il sistema di ricezione extracellulare sono estremamente rapide, il che sta ad indicare che, a differenza delle risposte indotte dalla ricezione nucleare, esse sono indipendenti dalla regolazione genica. In alcuni eventi di sviluppo della pianta, comunque, le vie di segnalazione mediate da ABP1 e quelle mediate da TIR1/AFB possono cooperare nella determinazione delle risposte all'ormone. Un esempio è dato dalla induzione della divisione cellulare. Anche se non sono state definite del tutto le basi molecolari con cui si realizza la risposta ormonale, esistono evidenze che l'induzione auxinica, che coinvolge proteine operanti nella progressione del ciclo cellulare, è condotta attraverso le vie ABP1- e TIR1/AFB-dipendenti. Le due vie di trasduzione sono implicate anche nella distensione cellulare indotta dall'ormone.

<sup>4</sup> Le proteine **ROP (Rho-like GTPases from Plants)** appartengono alla famiglia vegetale delle **Rho-GTPasi**, piccole proteine G, conservate in tutti gli eucarioti. Queste proteine possono trovarsi nella forma inattiva legata al GDP o nella forma attiva legata al GTP. Nella forma attiva esse operano in processi cellulari fondamentali (come divisione, polarizzazione e morfogenesi) agendo principalmente sulle dinamiche del citoscheletro e sul traffico vescicolare (endo/esocitosi).

### ▲ 8.1.6 I ruoli biologici dell'auxina

L'auxina è stato l'ormone vegetale più studiato ed è considerato l'ormone **dominante** poiché influenza la maggior parte, se non tutti, i processi di crescita e sviluppo della pianta.

Tra i principali eventi in cui è coinvolta l'auxina ci sono: la distensione e la divisione cellulare, la dominanza apicale, la differenziazione dei tessuti vascolari, la crescita in lunghezza di fusto e radice, lo sviluppo di radici laterali e radici avventizie, la fillotassi, la differenziazione degli stomi, lo sviluppo delle gemme fiorali, lo sviluppo dei frutti, l'inibizione dell'abscissione di organi dalla pianta madre, il fototropismo e il gravitropismo di fusti e radici. Alcuni di questi eventi saranno descritti qui di seguito. Altri verranno solo accennati, rimandando per una più approfondita trattazione ad altri capitoli del testo e al più specifico volume di Elementi di Biologia dello Sviluppo delle Piante (Altamura et al. EdISES, 2007).

#### 8.1.6.1 L'auxina induce la distensione cellulare

La crescita delle cellule per distensione (auxesi), cioè l'aumento della loro dimensione dovuto ad un aumento del volume vacuolare, è l'evento indotto dall'auxina che maggiormente caratterizza questo ormone, tanto da stabilirne il nome.

Le fasi che portano alla distensione cellulare possono essere seguite trattando con auxina esogena segmenti isolati delle regioni in allungamento di fusti o coleottili. Ciò è dovuto al fatto che in una pianta intera queste regioni del germoglio contengono già concentrazioni dell'ormone adatte per la crescita, per cui l'aggiunta di auxina esogena non porta ad effetti rilevanti sulla distensione delle cellule. Al contrario, segmenti isolati dell'organo, non più riforniti endogenamente di auxina, rispondono prontamente all'ormone applicato dall'esterno.

Quando un segmento di fusto viene posto in un mezzo contenente auxina si può osservare e misurare il suo allungamento, che inizia dopo

un intervallo di tempo (*lag time*) di circa 10 minuti, raggiungendo la velocità massima dopo 30-60 minuti. L'allungamento è più o meno ampio a seconda della quantità di ormone fornito nell'intervallo delle concentrazioni induttive, che per il fusto hanno valori ottimali tra  $10^{-6}$  e  $10^{-5}$  M. La crescita per distensione delle cellule è un processo che richiede energia ed è quindi sensibile agli inibitori metabolici, alle basse temperature ed all'anaerobiosi. Esso viene anche bloccato dagli inibitori della sintesi di RNA e di proteine, poiché richiede la trascrizione e la traduzione di geni specifici.

L'incremento del volume cellulare è correlato con l'aumento della massa vacuolare per l'entrata passiva nel vacuolo di una maggiore quantità di acqua. Ciò richiede la modificazione di alcuni parametri chimico-fisici delle cellule.

In una cellula non in distensione, la differenza di potenziale idrico ( $\Delta\Psi_{H_2O}$ ) tra la soluzione dell'ambiente apoplastico ( $\Psi_{H_2O} = 0$ ) e quella dell'ambiente vacuolare ( $\Psi_{H_2O} < 0$ ) richiama acqua verso l'interno della cellula e crea una pressione di turgore a cui si contrappone la resistenza meccanica parietale. La distensione cellulare, quindi, richiede innanzitutto la caduta della resistenza della parete e l'aumento della sua estensibilità, con la conseguente entrata di acqua nel vacuolo per il gradiente di potenziale idrico.

La velocità con cui una cellula si distende si può esprimere con la seguente formula:

$$GR = m (\Psi_p - Y)$$

dove GR (*Growth Rate*) è la velocità di crescita e  $m$  rappresenta il coefficiente di estensibilità della parete, che dipende dalla pressione di turgore ( $\Psi_p$ ) e dalla soglia di deformazione plastica ( $Y$ ), che, a sua volta, indica la pressione a cui la parete inizia a deformarsi irreversibilmente.

Secondo l'ipotesi della **crescita acida**, l'indebolimento della resistenza parietale è indotto dall'auxina attraverso l'acidificazione dell'apoplasto. La sequenza di eventi che porta alla



distensione cellulare è la seguente: l'auxina, in seguito al legame con il recettore **ABP1** e alla formazione del complesso di ricezione e segnalazione **ABP1-TMK** (Figura 8.6), stimola l'attività della H<sup>+</sup>-ATPasi della membrana plasmatica, plausibilmente attraverso la sua fosforilazione (Figura 8.6) ad opera di una protein chinasi, potenziando l'estrusione di protoni, con il conseguente abbassamento del pH nell'ambiente della parete e l'iperpolarizzazione della membrana; la diminuzione del pH attiva proteine enzimatiche parietali, la cui azione porta al rammollimento della parete e all'aumento della sua estensibilità; l'iperpolarizzazione della membrana plasmatica causa l'apertura di canali di influsso (*inward rectifying*) di cationi potassio (K<sup>+</sup>), la cui entrata nella cellula compensa l'incrementata estrusione di H<sup>+</sup> e mantiene la pressione di turgore a un valore costante durante l'aumento di dimensione della cellula.

L'auxina non solo stimola l'attività della pompa protonica già presente nella membrana plasmatica, ma induce anche la sintesi di nuove molecole di H<sup>+</sup>-ATPasi mediante la via TIR1/AFB-dipendente. L'ormone, inoltre, opera mantenendo più a lungo nella membrana plasmatica le molecole di H<sup>+</sup>-ATPasi, che vengono normalmente riciclate attraverso una via endo/esocitotica simile a quella che dirige i flussi cellulari dei carrier auxinici. Quest'ultima azione dell'auxina, che inibisce l'internalizzazione delle molecole di H<sup>+</sup>-ATPasi, avviene con la mediazione del complesso ABP1-TMK e si realizza attraverso la modulazione dell'attività di specifiche proteine ROP (Figura 8.6).

L'acidificazione dell'ambiente apoplastico, conseguente all'aumentata estrusione di H<sup>+</sup>, porta all'attivazione di due classi principali di proteine enzimatiche presenti nella parete: le **espansine** e le **endo-β(1→4)-glucanasi (EGasi)**. Le expansine modificano le proprietà meccaniche della parete attraverso la rottura dei ponti idrogeno tra i componenti polisaccaridici; le EGasi conducono la parziale degradazione idrolitica delle emicellulose (xiloglucani) della matrice parietale. La diminuzione

del pH attiva anche le **yeldine**, proteine parietali non correlate con le expansine, la cui azione sembra essere quella di facilitare, in qualche modo, l'allentamento dei legami tra i componenti strutturali della parete, abbassando il valore di Y e favorendo, di conseguenza, la sua deformazione plastica (*yelding*). All'indebolimento della resistenza parietale partecipano anche enzimi litici (espansine) sintetizzati *ex novo* per l'azione induttiva dell'auxina sull'espressione genica (mediante la via TIR1/AFB-dipendente) ed immessi nell'apoplasto attraverso vescicole di secrezione.

### 8.1.6.2 L'auxina regola la crescita in lunghezza del fusto e della radice

A concentrazioni 10<sup>-6</sup>-10<sup>-5</sup> M l'auxina stimola la crescita in lunghezza del fusto per distensione delle cellule. Alla base dell'effetto induttivo vi è il trasporto polare dell'auxina dalla regione apicale verso la sottostante zona di accrescimento e il bersaglio primario di questa azione ormonale sono le cellule dei tessuti esterni di tale zona. Per raggiungere le cellule corticali ed epidermiche sensibili, l'auxina, arrivata nella zona di accrescimento lungo il parenchima vascolare, viene direzionata verso l'esterno attraverso la collocazione polarizzata di **PIN1** nella membrana plasmatica delle cellule competenti.

Le concentrazioni che promuovono la crescita del fusto inibiscono invece la crescita per distensione della radice, che viene comunque indotta da concentrazioni di auxina molto più basse (10<sup>-10</sup>-10<sup>-9</sup> M). La differenza tra i due organi, quindi, sta essenzialmente nella diversa richiesta quantitativa dell'ormone. Come nel fusto, anche nella radice, il bersaglio primario dell'azione auxinica sono le cellule dei tessuti esterni della zona di accrescimento. A queste cellule bersaglio l'auxina arriva dall'apice radicale attraverso un trasporto polare basipeto che procede lungo le cellule laterali della cuffia e le cellule epidermiche e corticali ed è direzionato dalla collocazione polarizzata di carrier di efflusso (principalmente **PIN2**) nelle membrane plasmatiche.



### 8.1.6.3 L'auxina è coinvolta nella dominanza apicale

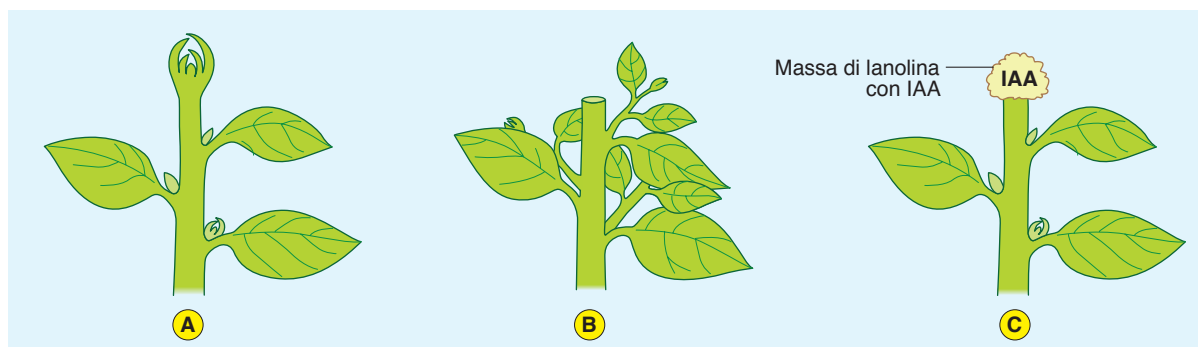
La ramificazione del germoglio è il processo mediante cui le gemme ascellari localizzate alla base delle foglie si sviluppano formando nuovi rami. Nella regolazione della ramificazione, che è alla base dell'architettura della parte aerea della pianta, interagiscono segnali ambientali e segnali ormonali. Di particolare importanza nella regolazione ormonale dello sviluppo delle gemme ascellari sono l'azione inibitoria dell'auxina e quella promotoria delle citochinine.

L'IAA, prodotto nella gemma apicale del germoglio e traslocato polarmente verso il basso, inibisce la crescita delle gemme ascellari, determinando quella che viene definita **dominanza apicale**. Il coinvolgimento dell'auxina nella dominanza apicale è dimostrato dal fatto che la rimozione della gemma apicale elimina l'effetto inibitorio sulla crescita delle gemme ascellari e che questo viene ripristinato dall'applicazione sul germoglio decapitato di auxina esogena (FIGURA 8.7).

Inizialmente si riteneva che l'auxina, arrivata dalla gemma apicale, inibisse direttamente la crescita delle gemme ascellari, a causa della loro elevata sensibilità all'ormone, che ne rendeva inibitori i livelli dell'IAA che veniva ad accumularsi in esse. Questa ipotesi, però, venne inficiata dalla constatazione che l'applicazione di auxina esogena alle gemme ascella-

ri non ne ostacolava la crescita e che l'auxina prodotta dalla gemma apicale non entrava, in realtà, nelle gemme ascellari. L'idea attuale è che l'auxina intervenga nella dominanza apicale, mantenendo bassi i livelli delle **citochinine**, che sono gli ormoni promotori della crescita di queste gemme. Ciò avviene attraverso l'inibizione dell'espressione di geni che codificano per enzimi coinvolti nella sintesi delle citochinine e l'induzione dell'espressione di geni degli enzimi citochinina ossidasi/deidrogenasi, che degradano irreversibilmente le molecole ormonali.

L'auxina prodotta dalla gemma apicale gioca anche un ruolo indiretto nella dominanza apicale, intervenendo sui livelli della stessa auxina nelle gemme ascellari. Secondo il modello definito di "**canalizzazione del trasporto di auxina**", la crescita delle gemme ascellari è correlata alla loro capacità di esportare polarmente l'auxina endogena, dirigendola nel percorso assiale principale del fusto, che fa da *sink* portando l'ormone basipetamente verso la radice. Questa canalizzazione di auxina verso il fusto è però inibita competitivamente da fonti più forti dell'ormone, come la gemma apicale. Il rifornimento di auxina da parte della gemma apicale al sistema assiale di trasporto polare, infatti, ne riduce la forza drenante, ostacolando l'entrata dell'ormone da ulteriori siti di produzione, come le gemme più vicine all'apice.



**FIGURA 8.7A-C** Dominanza apicale. **(A)** Nel germoglio intero la crescita delle gemme ascellari è inibita. **(B)** La rimozione dell'apice ripristina la crescita di queste gemme. **(C)** L'inibizione della crescita delle gemme ascellari si mantiene se all'apice decapitato viene fornito IAA esogeno.

#### 8.1.6.4 L'auxina induce il differenziamento vascolare

Il trasporto polare di auxina mediato dal trasportatore **PIN1** è responsabile della formazione di modelli spazialmente organizzati dei tessuti vascolari al di sotto delle gemme e delle giovani foglie in crescita e, in particolare, del corretto differenziamento dello xilema (xilogenesi) nei fasci cribro-vascolari. L'auxina regola anche la differenziazione e l'architettura del tessuto vascolare che costituisce le nervature delle foglie. Ciò avviene nel primordio fogliare mediante il trasporto di auxina, direzionato anch'esso da PIN1, lungo i margini del primordio stesso, con l'accumulo dell'ormone in precisi **punti di convergenza** che stabiliranno la posizione delle nervature durante il successivo sviluppo della foglia.

Nelle piante legnose, ogni primavera, l'auxina che arriva dalle nuove gemme in crescita attiva anche il cambio cribro-vascolare e induce la differenziazione dell'anello annuale del tessuto vascolare, che parte dalle più giovani ramificazioni procedendo basipetamente verso l'apice radicale. L'auxina, quindi, presiede alla costruzione del sistema vascolare continuo lungo tutta la pianta.

#### 8.1.6.5 L'auxina promuove la formazione di radici laterali e radici avventizie

Dalla presenza e distribuzione delle radici laterali dipende l'architettura dell'apparato radicale della pianta. Tra i diversi fattori endogeni che regolano lo sviluppo delle radici laterali un ruolo essenziale è giocato dall'auxina. Questo ormone induce la formazione delle radici laterali, che inizia a una certa distanza dal meristema apicale (al di sopra della zona dei peli radicali), riattivando l'attività meristemica in due cellule adiacenti del periciclo a contatto con un'arca xilematica. Il segnale auxinico è coinvolto anche nella successiva organizzazione dei primordi radicali e nella crescita ed emergenza delle radici laterali dalla radice parentale. Nelle diverse fasi di inizio, sviluppo e crescita delle radici laterali opera l'auxina arrivata all'apice radicale dal germoglio attraverso il

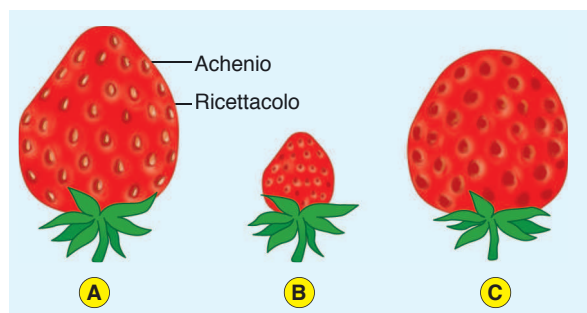
trasporto polare acropeto. Mediante la corretta collocazione dei trasportatori PIN l'auxina viene poi ritraslocata basipetamente fino alle cellule competenti del periciclo e, successivamente, del nuovo apice radicale.

L'auxina è in grado di stimolare la ripresa dell'attività meristemica anche nelle cellule di una varietà di tessuti che non appartengono alla radice, portando al successivo sviluppo di un meristema radicale e alla formazione di radici definite **avventizie** (Figura 8.4). Ciò avviene con un modello analogo a quello che si realizza nella formazione dei primordi delle radici laterali.

#### 8.1.6.6 L'auxina promuove la formazione e la crescita dei frutti

L'impollinazione e i successivi eventi di fecondazione, che portano allo sviluppo del seme (Capitolo 10), inducono anche la formazione del frutto, che deriva dalla trasformazione e dall'accrescimento dei tessuti dell'ovario. Nella crescita del frutto è direttamente coinvolta l'auxina fornita dai semi in via di sviluppo. La crescita del frutto in assenza di semi è definita **partenocarpia** e può avvenire spontaneamente in alcune specie (per anomalie nella fecondazione o per aborto degli embrioni), o essere indotta mediante il rifornimento di auxina esogena ai fiori non impollinati. La **FIGURA 8.8A-C** mostra un classico esempio del coinvolgimento di questo ormone nella crescita del frutto, anche se riguarda, in realtà, il "falso frutto" della fragola, in cui la parte edule deriva dall'ingrossamento del ricettacolo dell'infiorescenza. Nella fragola l'asportazione degli acheni (i veri frutti contenenti i semi), e quindi dell'auxina fornita da questi, impedisce la crescita del ricettacolo florale, che può venire ripristinata attraverso l'applicazione esogena dell'ormone.

Indagini molecolari hanno fornito precise informazioni sul ruolo chiave giocato dall'auxina nell'induzione della formazione e della crescita del frutto. È risultato che, prima della fecondazione, la crescita dell'ovario è bloccata dall'azione repressiva del complesso AUX/IAA-ARF sui geni auxina-sensibili necessari per l'i-



**FIGURA 8.8A-C** Effetto dell'auxina sulla crescita del "frutto" della fragola. **(A)** Se sono presenti gli acheni (veri frutti) il ricettacolo si accresce normalmente. **(B)** La crescita del ricettacolo viene impedita dalla rimozione degli acheni. **(C)** L'applicazione di auxina ripristina la crescita del ricettacolo privo di acheni.

nizio della fruttificazione. Dopo la fecondazione, l'aumento dei livelli di auxina nelle cellule dell'ovario induce la degradazione proteasomica dell'AUX/IAA, con la conseguente attivazione dell'espressione di questi geni. Una dimostrazione della validità di questo modello è data dal fatto che piante di pomodoro che esprimono un AUX/IAA antisenso producono frutti partenocarpici, perché possono trascrivere i geni legati alla fruttificazione prima della fecondazione.

### 8.1.6.7 Altri ruoli dell'auxina

**L'auxina regola la fillostassi della pianta.** La fillostassi definisce la distribuzione spaziale delle foglie sul fusto, attraverso un preciso modello di induzione dei primordi fogliari nei meristemi degli apici caulinari. Esperimenti condotti su piante trattate con inibitori del trasporto polare dell'auxina (come TIBA) hanno evidenziato l'importanza dei flussi direzionati dell'ormone per la corretta collocazione dei primordi fogliari nella gemma. Il parametro più cruciale per la determinazione del modello di fillostassi è la distribuzione di PIN1 e di AUX1 nelle cellule esterne del meristema apicale. Dalla distribuzione dinamica di questi due trasportatori dipende la regolazione del trasporto polare che porta alla localizzazione, secondo

modelli spaziali specie-specifici, dei massimi di auxina che inducono la formazione dei primordi fogliari. Il trasporto polare di auxina è essenziale anche per il corretto sviluppo sulla pianta dei meristemi fiorali.

**L'auxina regola la differenziazione degli stomi.** È stato dimostrato che l'auxina svolge un importante ruolo regolatorio dello sviluppo degli apparati stomatici sulle lamine fogliari. In questa azione l'auxina agisce come un inibitore della differenziazione degli stomi da specifiche unità (meristemoidi) di cellule epidermiche. In tal modo l'ormone controlla la "spaziatura" degli stomi sulla superficie fogliare stabilendo il valore dell'**indice stomatico** (il rapporto tra numero di stomi e numero di cellule epidermiche).

**L'auxina dilazona nel tempo l'abscissione di organi della pianta.** Su questo evento l'auxina svolge un'azione inibitoria, contrapponendosi agli effetti induttivi dell'etilene (Paragrafo 8.5.4.2).

**L'auxina media il fototropismo e il gravitropismo delle piante.** L'auxina è coinvolta in modo determinante in entrambi questi "movimenti" della pianta (Capitolo 11) e c'è da ricordare che proprio l'iniziale osservazione della curvatura fototropica di un coleotile di graminaacea ha portato poi a scoprire l'esistenza e la natura chimica di questo ormone vegetale.

### 8.1.7 Gli usi commerciali di auxine sintetiche

Molte delle attività dell'auxina vengono sfruttate in agricoltura e orticoltura mediante l'utilizzo di **auxine sintetiche**. Composti come il 2,4-D sono utilizzati per l'induzione della radicazione avventizia nella propagazione vegetativa delle piante (**talee**), per lo sviluppo di frutti partenocarpici e per la prevenzione dell'abscissione di frutti e foglie. Per queste pratiche si utilizzano concentrazioni di auxine sintetiche

molto basse, corrispondenti alle concentrazioni in cui nella pianta operano le auxine naturali.

Ad alte concentrazioni, invece, le auxine sintetiche vengono utilizzate come diserbanti. Ciò è dovuto al fatto che esse non vengono metabolizzate come le auxine naturali e quindi si accumulano nella pianta, inducendo la sintesi di etilene, l'ormone responsabile di eventi che portano alla senescenza ed alla morte dell'organismo vegetale.

## 8.2 Le gibberelline

Il percorso che ha portato alla scoperta delle gibberelline come ormoni vegetali si può dire che sia iniziato dal riconoscimento, da parte di ricercatori giapponesi, che una malattia nota del riso, chiamata **bakanae** (malattia del "germoglio sciocco"), era causata dall'infezione del fungo *Gibberella fujikuroi*. Le piante infettate dal fungo si allungavano in modo abnorme, avevano foglie clorotiche e non producevano spighe con cariossidi. Prove sperimentali dimostrarono che questi sintomi erano dovuti a una qualche sostanza solubile prodotta e secreta dal fungo.

Attraverso i lavori di numerosi gruppi di ricerca si arrivò, verso la metà del secolo scorso, ad isolare e caratterizzare un primo principio attivo di origine fungina, indicato come **acido gibberellico**, a cui seguì il riconoscimento di altre forme attive, che vennero definite nell'insieme **gibberelline**. Ricerche successive portarono a scoprire che le gibberelline erano, di fatto, composti naturali, sintetizzati non solo dai funghi, ma anche da tutte le piante, in cui giocavano ruoli importanti nel controllo di numerosi aspetti della crescita e dello sviluppo. Nel tempo vennero individuate nelle piante tutta una serie di gibberelline a cui, per convenzione, fu assegnato un numero progressivo in base all'ordine cronologico della scoperta.

Le **gibberelline (GA)** costituiscono una famiglia molecolare molto vasta di diterpeni tetraciclici di cui, attualmente, si conoscono più di 130 forme distinte, tutte basate su uno scheletro

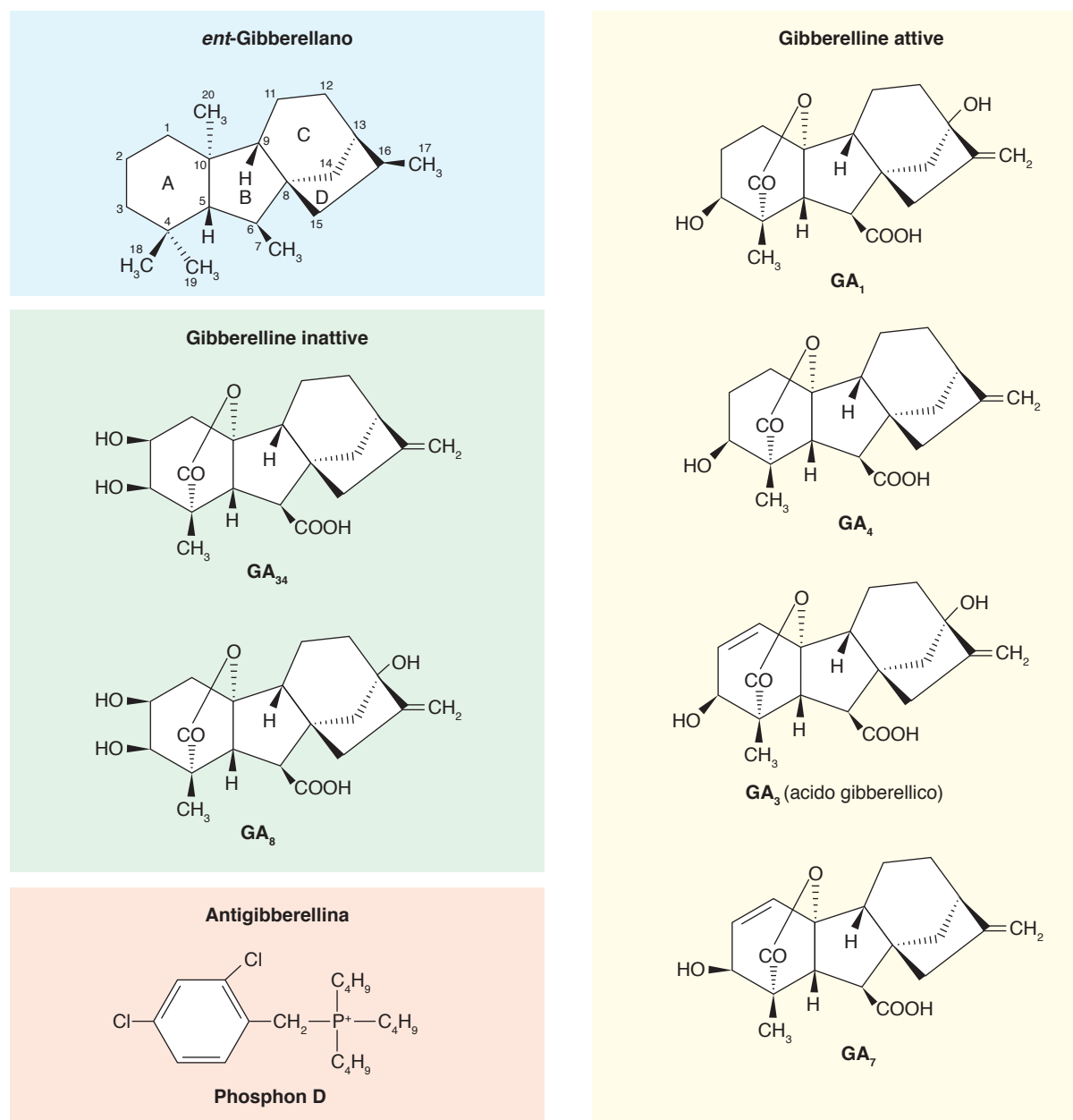
di **ent-gibberellano** (FIGURA 8.9). Solo alcune GA, però, hanno attività biologica, con distinte funzioni nel ciclo vitale della pianta. Le altre sono precursori o prodotti di disattivazione delle forme bioattive. Le diverse gibberelline differiscono per gruppi funzionali, la cui posizione e stechiometria determinano l'attività o meno della molecola. Tutte le GA bioattive hanno un gruppo carbossilico sul C-6 e un gruppo ossidrilico in posizione  $\beta$ -3. Le GA più attive (come **GA<sub>1</sub>**, **GA<sub>3</sub>**, **GA<sub>4</sub>**, **GA<sub>7</sub>**), inoltre, hanno 19 carboni (**C<sub>19</sub>-GA**) per la perdita del C-20 e la formazione di un latrone tra C-4 e C-10 (Figura 8.9). La presenza di un gruppo ossidrilico in posizione  $\beta$ -2 (come in **GA<sub>34</sub>** e **GA<sub>8</sub>**) rende invece inattiva la molecola di GA (Figura 8.9). Tutte queste caratteristiche molecolari giocano ruoli essenziali sul grado di affinità delle GA per il recettore.

Tra le gibberelline bioattive **GA<sub>1</sub>** è stata identificata in una grande varietà di piante e si ritiene sia la forma molecolare più ampiamente distribuita. **GA<sub>4</sub>** è presente anch'essa in molte specie e risulta essere la principale GA bioattiva in *Arabidopsis*. Infine è da notare che **GA<sub>3</sub>**, anch'essa con elevata attività ormonale, è la forma corrispondente all'**acido gibberellico**.

Le gibberelline sono coinvolte nella pianta in un gran numero di eventi di crescita e sviluppo. Esse svolgono un ruolo essenziale nella promozione dell'allungamento del fusto, determinando così l'altezza della pianta, ma agiscono anche sull'allungamento della radice, sull'espansione delle foglie, sulla germinazione e la mobilitazione delle riserve dei semi e sulla transizione a fiore di alcuni tipi di piante.

### 8.2.1 La biosintesi e il metabolismo delle gibberelline

Nelle piante superiori la via biosintetica delle gibberelline si realizza in diversi compartimenti cellulari (FIGURA 8.10A). Nel plastidio viene prodotto **ent-kaurene**, a partire dal geranylgeranyl pirofosfato (**GGPP**) che è un precursore generale dei diterpenoidi. La biosintesi prosegue poi nel reticolo endoplasmatico fino alla produzione della prima gibberellina **GA<sub>12</sub>**. I suc-

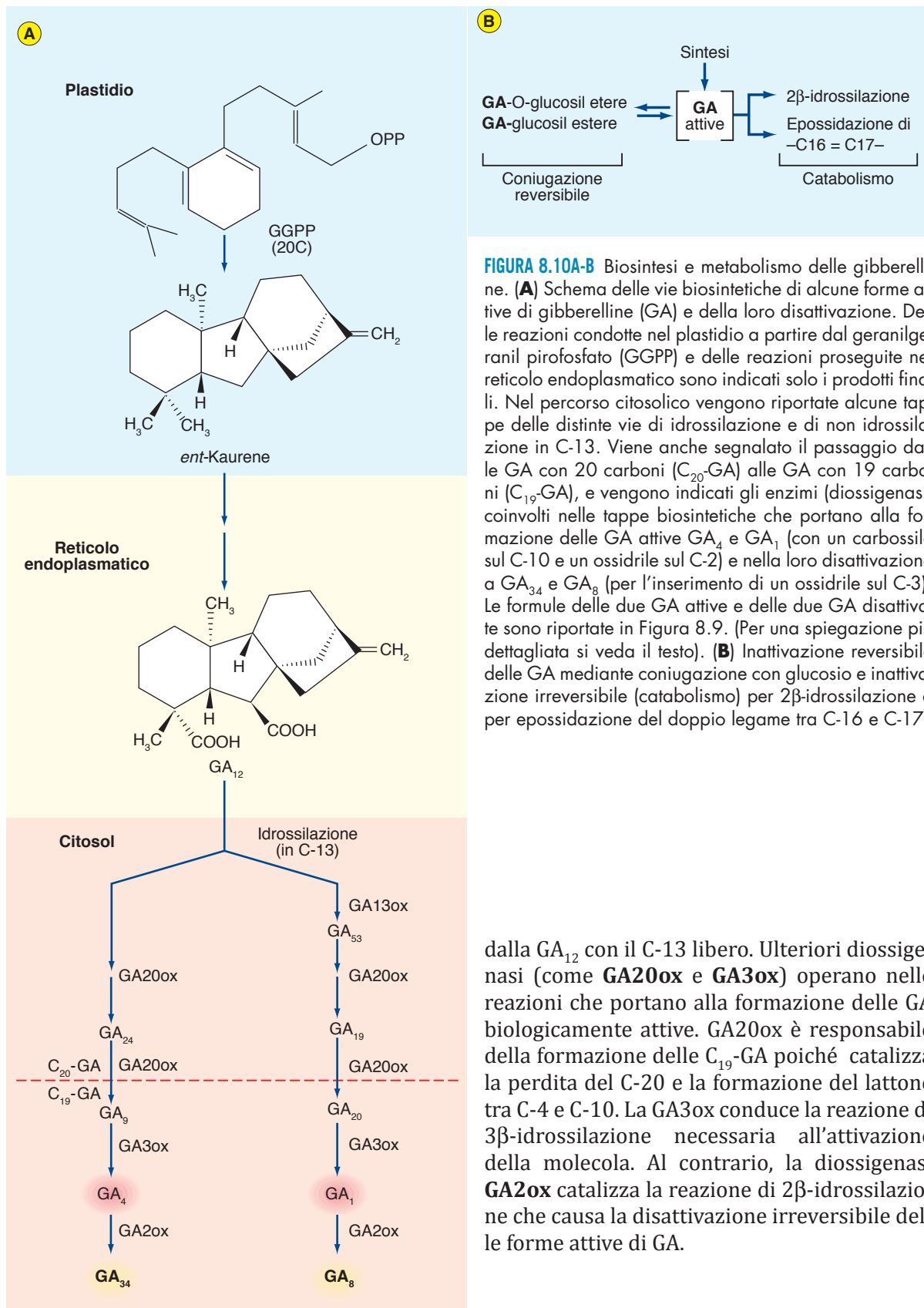


**FIGURA 8.9** La struttura dell'*ent*-gibberellano, le caratteristiche molecolari di gibberelline attive (con un gruppo ossidrilico in posizione  $\beta$ -3) e inattive (con un gruppo ossidrilico in posizione  $\beta$ -2) e la molecola dell'antigibberellina phosphon D.

cessivi percorsi che portano da questo intermedio comune alle diverse forme di GA, sia a 20 ( $C_{20}$ -GA) che a 19 ( $C_{19}$ -GA) carboni, avvengono nel citosol e sono condotti da specifiche **diossigenasi**. Una prima diossigenasi (**GA13ox**), inserendo un gruppo -OH in posizione 13 nella

molecola della  $GA_{12}$ , dà inizio alla **via di idrossilazione in C-13**, che porta alla sintesi di una serie di gibberelline (ad es.  $GA_1$  e  $GA_3$ ) con questa caratteristica molecolare, che le distingue dalle GA (ad es.  $GA_4$  e  $GA_7$ ) prodotte nella **via di non-idrossilazione in C-13**, che parte invece





**FIGURA 8.10A-B** Biosintesi e metabolismo delle gibberelline. **(A)** Schema delle vie biosintetiche di alcune forme attive di gibberelline (GA) e della loro disattivazione. Delle reazioni condotte nel plastidio a partire dal geranilgeranil pirofosfato (GGPP) e delle reazioni proseguite nel reticolo endoplasmatico sono indicati solo i prodotti finali. Nel percorso citosolico vengono riportate alcune tappe delle distinte vie di idrossilazione e di non idrossilazione in C-13. Viene anche segnalato il passaggio dalle GA con 20 carboni (C<sub>20</sub>-GA) alle GA con 19 carboni (C<sub>19</sub>-GA), e vengono indicati gli enzimi (diossigenasi) coinvolti nelle tappe biosintetiche che portano alla formazione delle GA attive GA<sub>4</sub> e GA<sub>1</sub> (con un carbossile sul C-10 e un ossidile sul C-2) e nella loro disattivazione a GA<sub>34</sub> e GA<sub>8</sub> (per l'inserimento di un ossidile sul C-3). Le formule delle due GA attive e delle due GA disattivate sono riportate in Figura 8.9. (Per una spiegazione più dettagliata si veda il testo). **(B)** Inattivazione reversibile delle GA mediante coniugazione con glucosio e inattivazione irreversibile (catabolismo) per 2β-idrossilazione o per epossidazione del doppio legame tra C-16 e C-17.

dalla GA<sub>12</sub> con il C-13 libero. Ulteriori diossigenasi (come **GA20ox** e **GA3ox**) operano nelle reazioni che portano alla formazione delle GA biologicamente attive. GA20ox è responsabile della formazione delle C<sub>19</sub>-GA poiché catalizza la perdita del C-20 e la formazione del lattone tra C-4 e C-10. La GA3ox conduce la reazione di 3β-idrossilazione necessaria all'attivazione della molecola. Al contrario, la diossigenasi **GA2ox** catalizza la reazione di 2β-idrossilazione che causa la disattivazione irreversibile delle forme attive di GA.





N. Rascio

# Elementi di Fisiologia Vegetale

Accedi all'ebook e ai contenuti digitali > Espandi le tue risorse > con un libro che **non pesa** e si **adatta** alle dimensioni del tuo **lettore**



All'interno del volume il **codice personale** e le istruzioni per accedere alla versione **ebook** del testo e agli ulteriori servizi. L'accesso alle risorse digitali è **gratuito** ma limitato a **18 mesi dalla attivazione del servizio**.