

2° Simposio

Le risposte delle piante a stimoli biotici e abiotici

Plasticità morfogenetica delle piante in risposta a fattori biotici ed abiotici

M. B. Bitonti

Dipartimento di Ecologia, Università degli Studi della Calabria, 87030 Arcavacata di Rende (CS)

e-mail: b.bitonti@unical.it

Le piante, organismi autotrofi ed immobili, sono strettamente vincolati all'ambiente in cui vivono, dove interagiscono più o meno intimamente con una miriade di organismi diversi. In virtù del loro piano organizzativo, gli organismi vegetali non possono facilmente sfuggire né a condizioni ambientali avverse né all'attacco di patogeni e predatori eterotrofi; di conseguenza sono stati spinti ad evolvere specifiche forme d'adattamento e sofisticati meccanismi di difesa, in grado di conferire loro capacità di tolleranza o resistenza. Tali processi si sono concretizzati in un'enorme plasticità a livello cellulare, morfologico e per alcuni aspetti anche a livello della comunità in cui la pianta vive (1, 8).

Le basi cito-fisiologiche e molecolari della risposta della pianta a fattori biotici ed abiotici di disturbo, ampiamente studiate, risultano alquanto articolate e complesse. Esse includono l'attivazione di specifiche vie metaboliche per la trasduzione del segnale (8-10), che interagiscono nel determinare una risposta diretta, o una riconfigurazione metabolica, o, ancora, l'espressione di specifici geni (2-9), che conduce, in alcuni casi, alla risposta ipersensibile ed alla morte cellulare programmata (12,13).

Sovente la risposta della pianta si accompagna ad uno sviluppo morfogenetico *ex novo* o inusuale, che nelle interazioni pianta-organismi eterologhi include quello strettamente coordinato dei noduli radicali (14,15), nella simbiosi *Rhizobium*/leguminose, ma anche alterazioni morfologiche più o meno drastiche, quali iperplasia e sviluppo tumorale, rizomania, plastomania e anomalie della ramificazione (8, 16, 17). Le alterazioni nella differenziazione e morfogenesi sono notoriamente associate allo sbilanciamento dei fattori di crescita che, nei rapporti fra pianta ed endofita, possono essere prodotti da uno o entrambi i bionti, in funzione del livello di coevoluzione raggiunto (18). E', d'altro canto, noto come una coordinata interazione tra le diverse classi di fitormoni controlli la crescita e lo sviluppo delle piante (19).

Un esempio d'alterazione profonda a livello morfologico si riscontra nella patologia del mal della bolla del pesco (*Prunus persica* L.), causato da *Taphrina deformans*, un ascomicete dimorfico, prevalentemente presente nella foglia dell'ospite. L'interazione tra il patogeno e l'ospite, segnalata precocemente dall'accumulo di antociani, che conferiscono colore rosso alla lamina fogliare, causa profonde alterazioni nel pattern differenziativo, inducendo nel mesofillo iperplasia e ipertrofia cellulare, con conseguente bollosità. Tali eventi possono essere causati, almeno in parte, dalla comprovata produzione di auxine e citochinine fungine (20), ma anche dall'alterazione dei livelli endogeni di tali fitormoni nella pianta (21). Considerata la documentata relazione tra specifici ormoni vegetali e l'attività di alcune classi di geni omeobox (22-25), determinanti essenziali del destino differenziativo delle cellule, le foglie di pesco affette dal mal della bolla si presentano come un interessante modello per verificarne il possibile coinvolgimento nello sviluppo neoplastico che caratterizza la patologia. In questo lavoro verranno presentati dei pattern di espressione di un gene omeobox di pesco, del tipo *knox* di classe 1 (*KNAP1*), responsabile dell'identità indefinita dei meristemi vegetativi. Tale gene, di norma non espresso nelle foglie sane, appare riattivato a seguito dell'infezione, suggerendo che il disordine organogenetico sia conseguente all'instaurarsi di una condizione cellulare indeterminata che porta ad una ripresa della proliferazione (23) non più coordinata ad un processo differenziativo. La localizzazione del trascritto suggerisce una relazione spazio-temporale con l'accumulo di citochinine nella foglia infetta, verificato attraverso un approccio immunocitochimico.

La malattia prosegue con una diffusa clorosi, generata da degradazione delle clorofilla, con la riduzione dell'efficienza fotosintetica e culmina con la necrosi fogliare (26). E' stato pertanto preso

in esame anche un gene (*CHL P*) coinvolto nella sintesi della catena laterale della clorofilla, tocoferoli e fillochinoni. Tale gene, una geranil geranil reduttasi, mostra una diminuzione complessiva di espressione, sebbene la localizzazione del messaggero indichi una forte attività a livello delle lesioni fogliari, causate dagli aschi deiscanti .

1. E Schmelzer (2002) *Trend Plant Sc.*, 7, 411-415
2. H.J Bonhert., D. E. Nelson, R. G. Jensen (1995) *Plant Cell*, 7:1099-1111
3. E.P.Beers, J.M McDowell (2001) *Curr.Opin. Plant Biol* ,5, 561-567
4. S.H Hulbert, C.A.
5. Webb, S.M. Smith, Q. Sun (2001) *Annu. Rev. Phytopathol.*, 39,285-312
6. J.L Dangl, J.D.G Jones (2001) *Nature*, 411, 826-833
7. J. Browse (2001) *Curr. Opin. Biotechnology*, 3, 217-223
8. S. Fowler, M.F. Thomashow (2002) *Plant Cell*, 14, 1675-1690
9. J. Ramalingam, C.M. Vera Cruz, K. Kukreja, J.M. Chittoor, J.L. Wu, S.W. Lee, M. Baraoidan, M.L. George, M.B. Cohen, S.H. Hulbert, J.E. Leach, H. Leung. (2003) *Mol Plant Microbe Interact* ;16, 14-24
10. A. Kessler, I.T. Baldwin (2002) *Annu Rev. Plant Biol.*, 53, 299-328
11. J.P. Blein (2002) *Trend Plant Sc.*, 7, 293-296
12. E. Blee (2002) *Trend Plant Sc.*, 7, 315 –321
13. M.C. Heath (2000) *Plant Mol. Biol*, 44, 321-334
14. S. Gazzarini, P. McCourt (2001) *Curr.Opin. Plant Biol.*, 4, 387-391
15. N. Brewin (1991) *Annu.Rev. Cell Biol.*, 7,191-226
16. J. Jorgensen, M. Gronlund, N. Pallisgaard, K Larsen, K. A. Marcker, E.O. Iensen. (1999) *Plant Mol. Biol.*, 40, 65-77
17. L. Sequeira (1963) *Annu. Rev. Phytopathol.*, 1, 5-30
18. P.W. Brian (1967) *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B. Biol. Sc.*, 168, 101-118
19. J. Bergelson , G. Dwyer, J.J. Emerson, (2001) *Annu Rev Genet.*, 35, 469-99.
20. J. Ross, D. O'Neill (2001) *Trends Plant Sci* 6, 2-4
21. C.G. Johnston, J.E. Trione (1974) *Can. J. Bot.*, 52, 1583-1589.
22. I.Sziraki , E. Balázs, Z. Király (1975) *Physiol. Plant Pathol.*, 5, 45-50.
23. H.M Rupp, M. Frank, T. Werner, M. Strnad, T. Schmulling (1999) *Plant J.*, 18, 557-563.
24. G. Frugis, D. Giannino, G. Mele, C. Nicolodi, A.M. Innocenti, A. Chiappetta, M.B. Bitonti, W. De Witte, H. Van Onckelen, D. Margotti (2001) *Plant physiol.*, 126, 1370-1380
25. A. Hay, K. H. Kaur, A. Philips, P. He, S. Hake , M. Tsiantis (2002) *Current Biol.*, 12, 1557-1565.
26. M.J: Scanlon, D.C. Henderson, B. Bernstein (2002) *Development*, 129, 2663-2673.
27. V. Raggi (1995) *Physiol. Plantarum*, 93, 540-544.

Le fitochelatine nella risposta di licheni e piante superiori ai metalli pesanti

L. Sanità di Toppi

Dipartimento di Biologia Evolutiva e Funzionale, Università di Parma

Come riportato in letteratura e supportato dai dati che verranno presentati, le piante non tolleranti *sensu stricto* ai metalli pesanti rispondono a stress acuti e cronici causati da tali metalli – in particolare cadmio – mediante diversi meccanismi che possono agire additivamente o sinergicamente (1, 2). Tale risposta complessa, definita “a ventaglio” (3), sembra essere in buon accordo con l’ipotesi di “general adaptation syndrome” formulata e discussa da Hans Selye già nel 1936 (4). Mentre i processi di disintossicazione del cadmio e di altri metalli pesanti in piante non tolleranti sembrano essere sotto un controllo di tipo poligenico, la “vera” tolleranza ai metalli mostrata da alcune specie vegetali adattate naturalmente o artificialmente ad un’esposizione cronica ad essi pare essere sotto un controllo di natura monogenica o oligogenica (5). L’ipotesi che verrà discussa, e che segue un modello piramidale, è che la vera tolleranza adattativa si basi su meccanismi costitutivi di disintossicazione, a loro volta basati su processi costitutivi di natura omeostatica (6, 7). Il passaggio tra omeostasi e risposta “a ventaglio” può essere rapido ed implicare rapide variazioni dell’espressione genica; differentemente, la lenta transizione da risposta “a ventaglio” a vera tolleranza è generata ed influenzata dalla pressione di selezione, in grado di aumentare la frequenza e promuovere l’espressione di uno o più geni della tolleranza (3). La conoscenza di base dei sopra citati meccanismi rappresenta una condizione imprescindibile per la realizzazione di piani di recupero di ambienti inquinati da metalli pesanti con piante superiori (la cosiddetta “phytoremediation”) (8, 9) o di protocolli applicativi di biomonitoraggio dell’inquinamento dell’aria mediante l’impiego di licheni (10).

- 1) L. Sanità di Toppi, M. Lambardi, N. Pecchioni, L. Pazzagli, M. Durante, R. Gabbrielli (1999) *J. Plant Physiol.*, 154, 385-391
- 2) D. Neumann, O. Lichtenberger, D. Gunther, K. Tschiersch, L. Nover (1994) *Planta*, 194, 360-367
- 3) L. Sanità di Toppi, R. Gabbrielli R. (1999) *Environ. Exp. Bot.*, 41, 105-130
- 4) H. Selye (1936) *Nature*, 138, 32-34
- 5) M.R. Macnair (1993) *New Phytol.*, 124, 541-559
- 6) A.A. Meharg (1994) *Plant Cell Environ.*, 17, 989-993
- 7) L. Sanità di Toppi, M.N.V. Prasad, S. Ottonello (2002) In: *Physiology and biochemistry of metal toxicity and tolerance in plants*, M.N.V. Prasad and K. Strzačka (Eds.), Kluwer Acad. Publish., Dordrecht, pp. 59-94
- 8) L. Sanità di Toppi, M.A. Favali, R. Gabbrielli, P. Gremigni (2001) In: *Metals in the environment: analysis by biodiversity*, M.N.V. Prasad (Ed.), Marcel Dekker, New York, pp. 219-257
- 9) D.E. Salt, M. Blaylock, N.P.B.A. Kumar, V. Dushenkov, B.D. Ensley, I. Chet, I Raskin (1995) *Nature Biotechnol.*, 13, 468-474.
- 10) B. Pawlik-Skowrońska, L. Sanità di Toppi, M.A. Favali, F. Fossati, J. Pirszel, T. Skowroński (2002) *New Phytol.*, 156, 95-102

La morte cellulare ipersensibile nella risposta di resistenza ai patogeni

M. Delledonne

Università degli Studi di Verona, Strada Le Grazie 15, Cà Vignal 1, 37134 Verona

Le piante sono costantemente minacciate da microrganismi patogeni. Esse hanno pertanto sviluppato svariati meccanismi per prevenire l'invasione dei loro tessuti da parte di funghi, batteri e virus. Una caratteristica comune della resistenza alle malattie è la risposta ipersensibile nella zona di infezione, caratterizzata dalla formazione di lesioni necrotiche e dalla riduzione nella crescita e sviluppo del patogeno. A seguito di questa risposta localizzata il tessuto distale la zona di infezione sviluppa una resistenza sistemica acquisita nei confronti di successive infezioni da parte dello stesso o di altri patogeni.

Nel caso di patogeni biotrofi, il collasso ipersensibile di singole cellule o di intere porzioni del tessuto costituisce un'efficace barriera allo sviluppo dell'organismo invasore, e rappresenta una forma di morte cellulare programmata la cui esecuzione è finemente regolata dall'azione concertata di molecole estremamente reattive. Uno degli eventi più precoci durante la risposta ipersensibile è infatti rappresentato dal rapido accumulo di specie reattive dell'ossigeno e ossido nitrico mediante l'attivazione di sistemi enzimatici simili all'*NADPH* neutrofilica e all'ossido nitrico sintasi come avviene nei macrofagi durante la risposta immunitaria. L'attivazione del burst ossidativo rappresenta una componente fondamentale di un sistema di segnali altamente amplificato e integrato che coinvolge anche acido salicilico e perturbazioni dei livelli di Ca^{2+} citosolico, per attivare l'espressione di meccanismi di resistenza e per mediare una rete sistemica di segnali responsabile dell'induzione dell'immunizzazione della pianta. H_2O_2 è anche necessaria per l'induzione della morte cellulare, ma da sola essa non è sufficiente per una risposta efficace. L'ossido nitrico prodotto contemporaneamente al burst ossidativo coopera con le specie reattive dell'ossigeno nell'induzione della morte cellulare ipersensibile. Il meccanismo di questa interazione è ancora sconosciuto e, a differenza di quanto avviene nei sistemi animali, non si basa sulla formazione di perossinitrito, una molecola altamente reattiva che induce apoptosi in animali e microrganismi ma non in pianta. L'ossido nitrico è inoltre coinvolto nella modulazione di alcune vie metaboliche in maniera indipendente dalle specie reattive dell'ossigeno, quali le vie responsabili della sintesi dei composti fenilpropanoidi, i cui derivati possono avere funzioni antibiotiche, strutturali (lignina) e di attivazione della resistenza sistemica acquisita (acido salicilico).

Indagini fitosociologiche, fenologiche ed ecofisiologiche sulla vegetazione di un sito altamente contaminato da metalli pesanti

F. Andreucci, R. Barbato, N. Massa, G. Berta

Università del Piemonte Orientale 'Amedeo Avogadro', C.so Borsalino 54, Alessandria

L'area circostante lo stabilimento Synidial (ex ACNA) nel comune di Cengio (SV), è altamente contaminata da inquinanti organici ed inorganici, tra i quali vari metalli pesanti. Nonostante l'elevato degrado, l'area è ricoperta da una folta vegetazione cresciuta su uno strato di riporto e che mostra sintomi di stress fotosintetico. Individuare le specie più frequenti e con buon stato di salute potrebbe essere utile a fini di bonifica (vedi riassunto Massa *et al.*). Si sono pertanto effettuati rilievi fitosociologici (marzo-settembre 2002 e 2003), compilato un indice floristico unitamente ad osservazioni fenologiche ed ecofisiologiche. Le analisi sono state condotte nella zona 1 di sfondo e nella zona 2 di bordo della collinetta artificiale A5 situata in prossimità dell'alveo del fiume Bormida, formata dall'accumulo di rifiuti tossici abbondanti in Cu, As, Hg e Co. Sono stati poi posizionati alcuni quadrati permanenti (1m²), che intercettano la maggior parte delle specie più diffuse e rappresentative. Le fenofasi sono state rilevate attraverso l'uso di una chiave standard, che fornisce una sintesi delle fenofasi più spiccate. I rilievi sono stati effettuati mensilmente, dall'inizio della primavera. Parallelamente sono state effettuate misure di efficienza fotosintetica (PEA).

Fisionomicamente, la vegetazione è rappresentata da una prateria meso-xerofila afferente sia ai *Molinio-Arrhenatheretea*, per la dominanza di *Festuca rubra*, sia ai *Agropyreteae intermedii-repentis*, che tendono a costituire comunità pioniere semiruderali in ambienti aridi o semiaridi. Nelle quote più elevate *Bromus erectus* svolge il ruolo di specie fisionomizzante e rappresenta l'aspetto più evoluto di queste praterie. Le leguminose, preponderanti e diffuse su tutta la superficie della collina, si sviluppano su materiale di riporto incoerente formando l'associazione *Echio-Meliloletum* con dominanza di *Melilotus alba*. Nella zona 2 di bordo invece, si rileva un boschetto rado a *Robinia pseudoacacia* e *Populus alba*, con un rovetto che colonizza tutto il pendio esposto a SE. Il lato rivolto a N verso il fiume, più umido, è coperto invece da un boschetto dominato da arbusti di *Salix purpurea*, *P. canescens*, *P. alba* e *Clematis vitalba*. La presenza di plantule di *Quercus robur* confermano la tendenza della vegetazione al bosco planiziale a farnia. Tutti i popolamenti vegetali osservati sono caratterizzati da una notevole povertà floristica.

Le fasi fenologiche osservate per le specie presenti nei vari quadrati permanenti posizionati nell'area, mostrano come alcune specie non raggiungano mai la fioritura, ma emettono le foglie e dopo breve tendono a seccare e scomparire; altre sono in grado di svolgere tutto il ciclo vitale, comunque di breve durata, con fiori e frutti di ridotte dimensioni. Le specie meglio adattate a tale ambiente appaiono alcune leguminose.

Lo spettro delle forme biologiche evidenzia come la maggior parte delle specie siano emicriptofite, tipiche dei climi temperati e temperato-freddi. Un elevato contingente di specie è rappresentato da terofite tipiche di ambienti disturbati. La collina, sebbene sia stata creata da circa 7 anni, non è colonizzata da arbusti e tantomeno da alberi, ad eccezione del perimetro, ma soltanto da specie erbacee. L'evoluzione verso cenosi di più mature, che porterebbero, attraverso vari stadi intermedi, al querceto planiziale a farnia risulta completamente impedita.

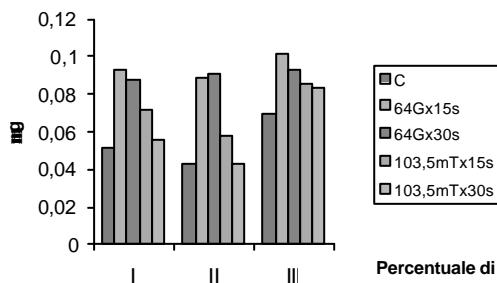
Questa ricerca è stata realizzata nell'ambito delle attività previste dal Commissario Delegato alla Bonifica della Valle Bormida, Ministero dell'Ambiente, ordinanza n 2986 del 31 maggio 1999.

Influenze ambientali su entità vegetali in ambienti urbani e remoti

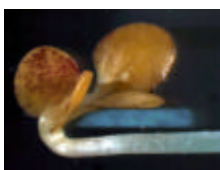
M.R.Melati, M.G. Alaimo, A. Curione, A. Firetto, D. Vizzi
 Dip Scienze Botaniche Università degli Studi di Palermo

Il laboratorio di Citologia e Differenziamento Vegetale del Dip. di Sc. Botaniche dell'Università di Palermo, da tempo, come linea di ricerca, ha assunto la problematica inerente le reciproche interazioni tra l'ambiente e le strutture vegetali: foglie, pollini, semi. In particolare sono state studiate le modificazioni indotte dalla presenza di inquinanti nell'aria, e da influenze dovute al magnetismo su foglie, pollini e semi mediante tecniche citochimiche e osservazioni al m.o. e al SEM. La presente dimostrazione riporta i dati delle ricerche da noi condotte, in continuazione alle precedenti, sul medesimo tema. 1) Sinergismo ambiente- foglie: è stato seguito l'accumulo dei composti fenolici e dei micro e macroelementi, indicatori dell'inquinamento atmosferico. Le reazioni istochimiche, e le osservazioni al m.o. hanno evidenziato che le modificazioni, e i danni, sono secondari alle influenze dell'ambiente con deposizione dei metaboliti secondari e per la presenza di elementi in traccia. I danni sono stati maggiori nel periodo invernale rispetto a quello estivo. Come entità vegetali sono stati prescelti *Cupressus sempervirens* L. e *Pinus pinea* L. 2) Sinergismo ambiente – pollini: è stata testata la qualità dei campioni pollinici con osservazioni al m.o. prendendo in considerazione due parametri: vitalità e germinabilità, markers delle modificazioni indotte dall'inquinamento atmosferico e magnetico, utilizzando pollini di piante forestali in diverse condizioni di stress. *Cupressus* è risultato meno sensibile agli stress, mantenendo, in ambienti disturbati, la propria vitalità. *Pinus* e *Fraxinus ornis* L. hanno esibito maggiore sensibilità rispetto a *Cupressus*, dimostrandosi meno vitali alle condizioni di osservazione. I pollini di *Cupressus*, *Pinus*, *Fraxinus* hanno esibito, in maniera tra loro simile, minore germinabilità alle condizioni di stress. Alle condizioni di stress magnetico (mT), *Cupressus* ha mantenuto le stesse caratteristiche di vitalità e germinabilità dei controlli. Sono ancora in corso le osservazioni relative a *Pinus* e *Fraxinus*. 3) Sinergismo ambiente- semi: sono stati scelti i semi di *Sinapis alba* L. e sono stati esposti a campi magnetici a bassa intensità e per brevi periodi paragonando le modificazioni a quelle secondarie ad esposizioni ad alta intensità sempre per brevi periodi. Le osservazioni sono state condotte sulle prime fasi della germinazione dei semi. Si sono ottenute delle significative evidenze di incremento in peso delle plantule.

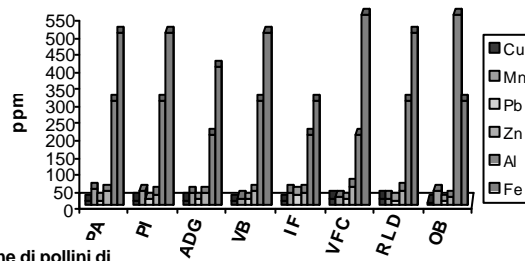
Peso medio per plantula di *Sinapis alba* L. dopo trattamento magnetico.



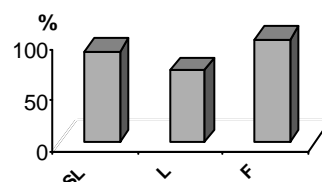
Plantula di *Sinapis alba* L.



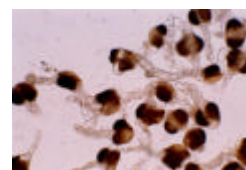
Dosaggio metalli su foglie di *Pinus pinea* L. Feb. 2003. Palermo.



Percentuale di germinazione di pollini di *Pinus pinea* L., (buio 26 °C).



Pollini di *Pinus pinea* L.



Effetti di una alterata carotenogenesi sui plastidi fogliari e sull'espressione dei geni *Lhcb* in frumento e ginkgo

S. De Faveri, K. Barbarotto, N. La Rocca, N. Rascio
Dipartimento di Biologia, Università di Padova

Cariossidi di frumento (*Triticum aestivum* L.) e semi di ginkgo (*Ginkgo biloba* L.) sono stati imbibiti con una soluzione dell'erbicida amitrolo (100 μ M e 500 μ M, rispettivamente per le due specie) e messi a germinare a 20°C.

Le plantule sono state fatte crescere alla luce (200 μ mol.m⁻².s⁻¹) e alla stessa temperatura (20°C). Sulle prime foglie sono state analizzate le conseguenze del trattamento con l'erbicida (che inibisce la sintesi dei carotenoidi a livello della ciclizzazione del licopene) sull'ultrastruttura dei cloroplasti, i contenuti in pigmenti e proteine tilacoidali e sull'attività fotosintetica.

In entrambe le piante la carenza di carotenoidi fotoprotettivi porta a profonde alterazioni delle membrane tilacoidali che risultano scarse e fortemente alterate. Tracce persistenti di clorofille dimostrano comunque che su queste membrane sono ancora attivi gli enzimi delle ultime tappe della via biosintetica di questi pigmenti.

I cloroplasti fotodanneggiati invece sono del tutto privi di attività fotosintetica e plausibilmente non sono mai stati funzionali, visto il trattamento con l'erbicida già dalla germinazione.

Sulle foglie delle due specie è stata condotta l'analisi dell'espressione dei geni nucleari *Lhcb* (che codificano per le proteine delle antenne periferiche del fotosistema II e che appartengono alla famiglia genica *Cab*). Dall'analisi risulta che nelle cellule contenenti cloroplasti fotodanneggiati e del tutto inattivi la trascrizione di tali geni persiste. Ciò dimostra che per il mantenimento dell'espressione dei geni nucleari *Cab* il fattore determinante non è la funzionalità dei cloroplasti.

Alla luce delle recenti informazioni della letteratura (1,2), si può ipotizzare che l'espressione genica sia piuttosto modulata dallo stato di danno e di demolizione delle membrane tilacoidali. Da questo può dipendere la capacità dei plastidi di completare la via biosintetica delle clorofille e di conseguenza di intervenire sul livello dei precursori tetrapirrolici solubili. Questi tetrapirroli infatti sarebbero coinvolti nel segnale negativo inviato dal cloroplasto al nucleo per inibire l'espressione dei geni fotosintetici (3).

E' anche interessante il fatto che le stesse situazioni e gli stessi eventi si rilevino nelle foglie di frumento e di ginkgo, due specie piuttosto distanti dal punto di vista sistematico.

(1) N. La Rocca, N. Rascio, U. Oster, W. Rüdiger (2001). *Planta*, 213: 101-108.

(2) A. Strand, T. Asami, J. Alonso, J.R. Ecker, J. Chory (2003). *Nature* 421: 79-83.

(3) S. Rodermel (2001). *Trends in Plant Science*, 6: 471-478.

Analisi dell'espressione di un gene codificante una metallotioneina in *Posidonia oceanica* L. (Delile)

R. Cozza¹, T. Pangaro¹, P. Maestrini², A. Cavallini²

¹ Università degli Studi della Calabria-Dip.to di Ecologia, Arcavacata di Rende (CS)

² Università degli Studi di Pisa-Dip.to di Biologia delle Piante Agrarie, Sezione di Genetica, Pisa

La fanerogama marina *Posidonia oceanica* è endemica del Mar Mediterraneo dove, con le sue praterie, detiene un ruolo multifunzionale nel mantenere l'equilibrio ecologico dei fondali infralitorali. Essa, quale componente rilevante del fitobenthos costiero, è sottoposta con facilità a modificazioni nel chimismo delle acque in relazione a fattori inquinanti e/o di disturbo. E' noto che *P. oceanica* può assorbire metalli dai sedimenti ed accumularli nei propri tessuti (1, 2); in particolare potendo tale pianta vivere in siti ricchi in mercurio è stata proposta essere un bioindicatore per questo metallo (3, 4). I meccanismi fisiologici e molecolari alla base della tolleranza ai metalli nelle fanerogame marine sono ancora ampiamente sconosciuti. Tra le diverse risposte sembra importante la sintesi di proteine a basso peso molecolare ricche in cisteina, tra cui le metallotioneine le quali, legando ioni metallici come rame, zinco e cadmio, rivestono un ruolo di primaria importanza nel controllo del metabolismo dei metalli e detossificazione cellulare.

Nel presente lavoro abbiamo isolato 12 diversi geni e alleli codificanti metallotioneine di classe I di *P. oceanica*, mediante PCR, utilizzando inneschi corrispondenti a porzioni del gene altamente conservate. Analisi Southern e di similarità di sequenza indicano che i geni isolati appartengono a una famiglia multigenica di almeno cinque membri. Di una di queste sequenze, la cui trascrizione in risposta a trattamenti con metalli in acquario era stata precedentemente studiata (5), è stato analizzato il pattern di espressione in piante prelevate da praterie presenti lungo il litorale calabrese. A livello fogliare i risultati evidenziano una stretta associazione del trascritto ai fasci vascolari; inoltre l'espressione della proteina risulta modulata lungo l'asse fogliare e rispetto allo stadio di sviluppo della foglia con presenza di un gradiente di espressione nell'ambito del fascio fogliare. Questo pattern di localizzazione del trascritto confinata a particolari tipi cellulari è in accordo con un ruolo non costitutivo della metallotioneina che viene espressa là dove c'è un attivo trasporto e/o la presenza di agenti induttori di stress. D'altra parte non si può escludere una traslocazione del messaggero attraverso i tubi cribrosi che in tal modo media lo scambio di informazioni per via sistemica consentendo la presenza della proteina in altri tessuti. Questi dati, oltre che rappresentare uno dei primi contributi nell'analisi di espressione di una metallotioneina in *Posidonia*, aprono interessanti prospettive di indagine circa il coinvolgimento delle metallotioneine nei processi di detossificazione da metalli o più in generale nelle risposte a stress in queste piante marine.

1) P. Malea (1993) Botanica marina, 36:423-431

2) M.A. Schlacher-Hoenlinger, T.A. Schlacher (1998) Marine Biology, 131:401-410.

3) B.E. Maserti, R. Ferrara, P. Paterno (1988) Mar. Pollut. Bull., 19: 381-382

4) C. Pergent-Martini (1998) Mar. Environ. Res., 45: 101-111

5) T. Giordani, L. Natali, B.E. Maserti, S. Taddei, A. Cavallini (2000) Plant Physiol., 123:1571-1581