

Gibberelline:  
regolatori dell'altezza delle piante  
e della germinazione dei semi

## BAKANAE

(malattia del “germoglio sciocco”)

Malattia del riso diffusa in

Asia causata dal fungo

*Gibberella fujikuroi*



- **1930** (Giappone) Isolamento di cristalli impuri di composti attivi (gibberellina A)
- **1950** (USA, GB) Struttura chimica acido gibberellico ( $GA_3$ )
- **1950** (Giappone) dalla GA A isolate e caratterizzate  $GA_1$ ,  $GA_2$ ,  $GA_3$
- **1958** Identificazione e purificazione nelle piante ( $GA_1$ )

**ATTUALMENTE SONO NOTE 136 GIBBERELLINE naturali** (presenti in piante, funghi, batteri; 12 presenti in *G. fujikuroi*)

<https://agrikaido.com/plant-hormones/gibberellins/>

**NOMENCLATURA:** GA<sub>x</sub>, a seconda dell'ordine cronologico della scoperta

Insieme di composti definiti in base alla loro struttura

chimica e non rispetto alla loro attività biologica

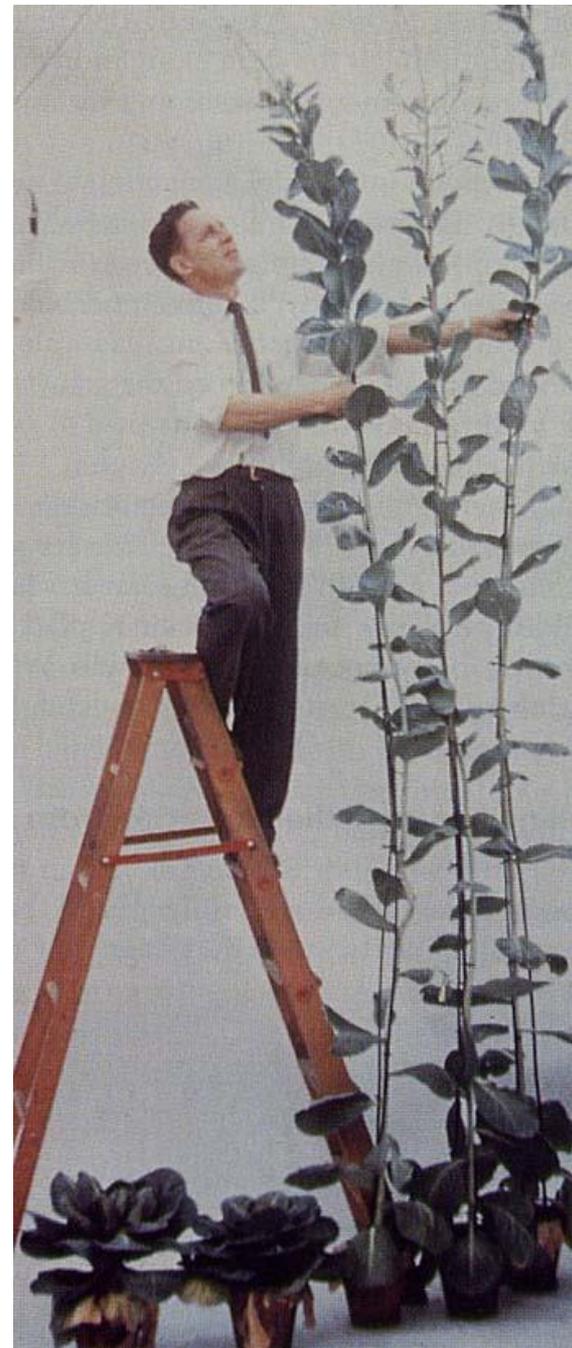
Sono note molte gibberelline,  
ma solo poche di queste sono biologicamente attive

## PRIMI STUDI SULL'ATTIVITA' DELLE GIBBERELLINE

Effetto  $GA_3$  sulla crescita dello  
stelo fiorale del cavolo  
(condizioni sd non induttive)

Allungamento degli internodi su piante a  
rosetta

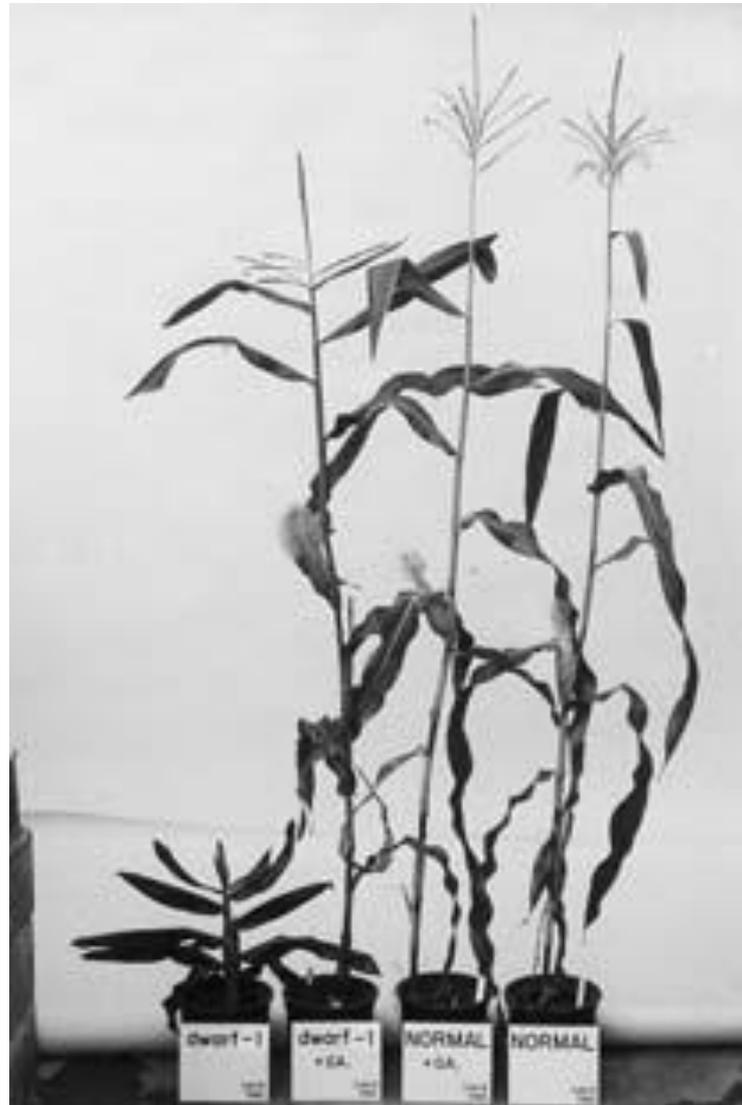
Stimolazione divisione cellulare e crescita per  
distensione



## Effetti delle gibberelline su accrescimento e sviluppo

- Stimolano l'accrescimento del fusto
- Sostituiscono il segnale fotoperiodico (giorno lungo) nelle specie longidiurne
- Regolano la transizione dalla fase giovanile alla fase adulta
- Influiscono sulla formazione dei fiori
- Promuovono l'accrescimento del tubetto pollinico
- Promuovono fruttificazione e partenocarpia
- Promuovono lo sviluppo e la germinazione del seme

# Effetto di GA<sub>1</sub> su mais nano



+ GA



Mutante nano

normale

## Regolano la transizione dalla fase giovanile ad adulta

(A) Abete bianco



(C) Pianticella di sequoia gigante



L'applicazione di  $GA_4+GA_7$  o  $GA_3$  induce conifere giovanili ad entrare in fase riproduttiva producendo coni precocemente

Avviene il contrario e.g. in *Edera*

# Promuovono la fruttificazione e la partenocarpia

Figure 39.11 The effect of gibberellin treatment on seedless grapes



L'applicazione di GA promuove l'accrescimento del frutto

La fruttificazione indotta da GA può avvenire anche in assenza di impollinazione portando alla formazione di frutti senza semi (uva: Es. Uva Thompson senza semi)

## Promuovono lo sviluppo e la germinazione dei semi (interruzione della dormienza)

Mutanti carenti di GA hanno un tasso elevato di semi abortiti

In semi che richiedono luce (semi fotoblastici) o vernalizzazione per germinare le GA possono indurre la germinazione in assenza di stimolo ambientale

Nei cereali le GA inducono la produzione di  **$\alpha$ -amilasi** per la degradazione dell'amido dell'endosperma

# APPLICAZIONI COMMERCIALI

**GA<sub>3</sub>:**

- Produzione di frutti
- Accelerazione produzione di malto da orzo (birra)
- Aumento rese canna da zucchero



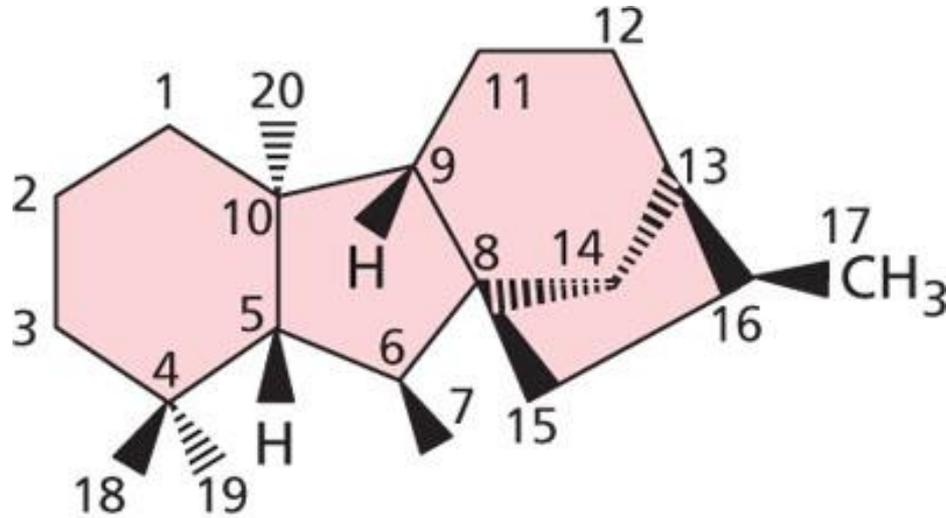
## **Ritardanti della crescita (antigibberelline)**

- Allevamento alberi ornamentali (conifere, chiome più compatte)
- Cereali : minore crescita vegetativa (>produttività)



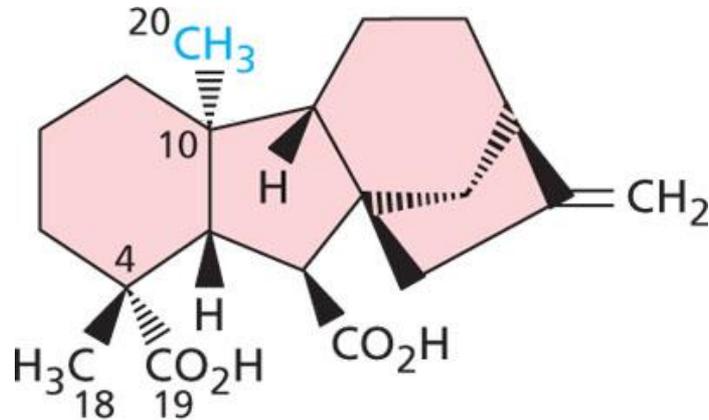
# STRUTTURA BASE DELLE GIBBERELLINE

Diterpeni tetraciclici, 4 unità isoprenoidi, 20 o 19 C



*ent*-Gibberellano

Le gibberelline contengono 19 o 20 atomi di carbonio

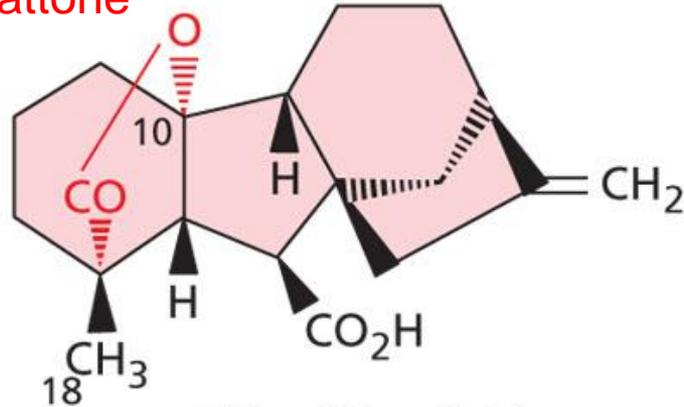


GA<sub>12</sub>

(C<sub>20</sub>)

GA<sub>12</sub> (C<sub>20</sub>-GA)

lattone



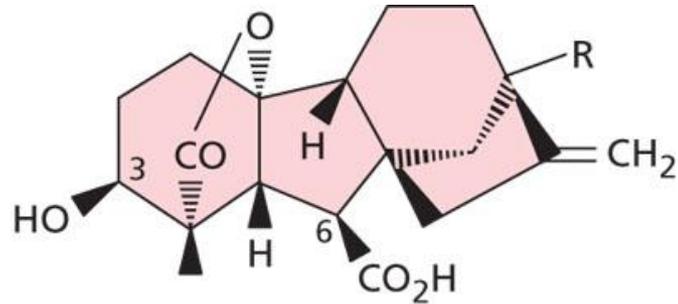
GA<sub>9</sub>

(C<sub>19</sub>)

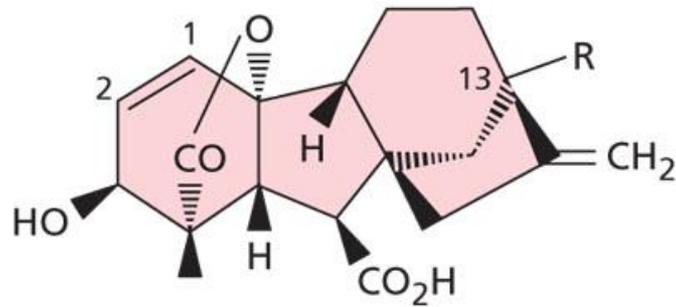
GA<sub>9</sub> (C<sub>19</sub>-GA)

# DIFFERENZE NEL NUMERO E NELLA POSIZIONE DI -OH

**Firme bioattive**  
(> affinità per il recettore):  
**-COOH sul C6**  
**-OH sul C3**

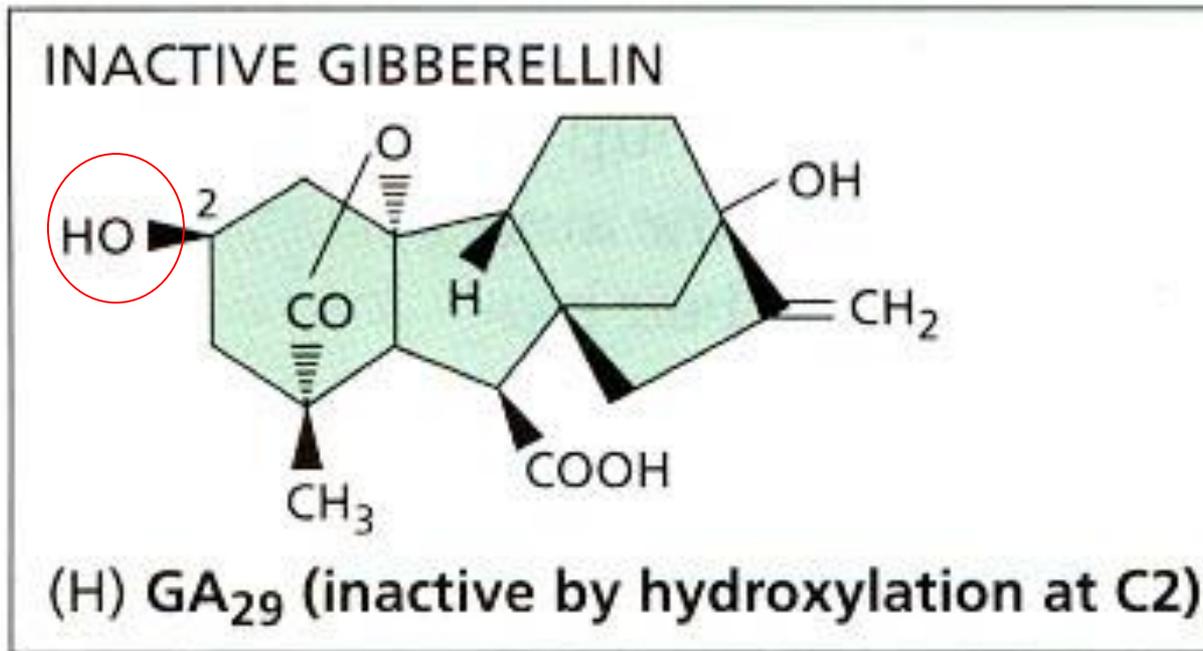


**GA<sub>4</sub>**    R = H  
**GA<sub>1</sub>**    R = OH



**GA<sub>7</sub>**    R = H  
**GA<sub>3</sub>**    R = OH

Idrossilazione in C2 abolisce l'attività biologica  
(impedisce legame GA con il recettore)



La maggior parte delle gibberelline sono dei precursori di quelle biologicamente attive

Nella maggior parte delle piante  
le gibberelline attive sono  $GA_1$  e  $GA_4$

Altre GA attive:

$GA_3$

$GA_7$

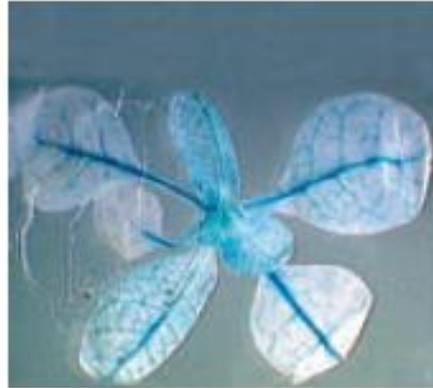
$GA_9$

La biosintesi di GA avviene in molti tessuti e in tutti gli stadi di vita della pianta

(A) Pianticella di 5 giorni



(B) Pianticella di 3 settimane



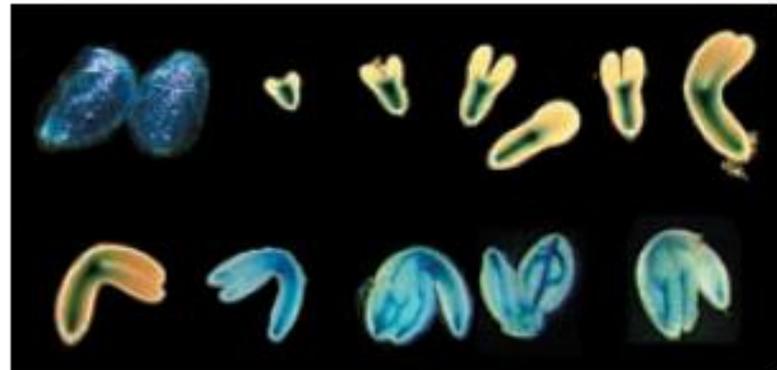
(C) Fiore aperto



(D) Siliqua matura con semi



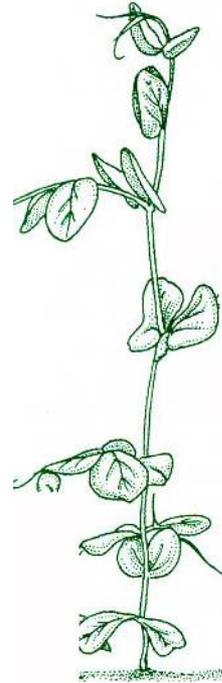
(E) Embrioni in sviluppo



Attività del gene promotore GA1:  
codifica per CPS (ent- coparyl-difosfato sintasi)



+GA



Le gibberelline sono dei regolatori di crescita naturali?

Le piante alte hanno più GAs delle piante nane?

La lunghezza del fusto è direttamente correlata alla quantità di GA attiva ( $GA_1$ ) endogena

Mutanti slender (*sln*): mancano gli enzimi di degradazione delle GA

$GA_1$  è la principale gibberellina endogena bioattiva che regola la crescita dei fusti in mais e pisello

$GA_1$  e  $GA_4$  intrinsecamente bioattive per la crescita dei fusti

ultranano



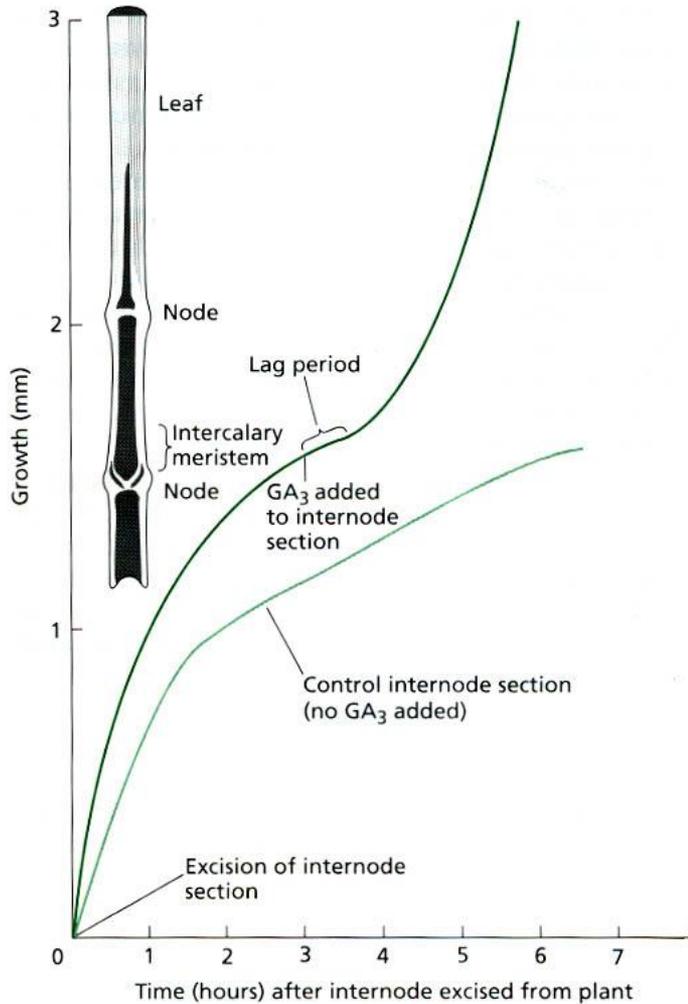
Ultranano: nessuna GA <i>nana</i>	Nano: contiene $GA_{20}$ e tracce di $GA_1$ <i>Na le</i>	Alto: contiene $GA_1$ <i>NA LE</i>	Slanciato: contiene più $GA_1$ <i>NA LE sln</i>
---	---	---	--

# Meccanismo di azione delle gibberelline

- Promozione della crescita del fusto  
(meristema intercalare del riso di acqua profonda)
  
- Degradazione dell'amido nell'endosperma  
(germinazione dei cereali)

# PROMOZIONE CRESCITA DEL FUSTO

(allungamento internodo superiore del riso)

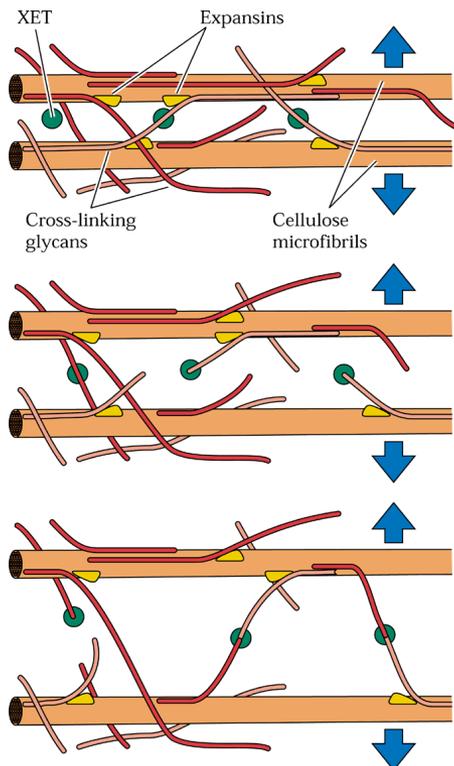


- Aumento estensibilità parete cellulare (+ diminuzione soglia di cedimento)
- No acidificazione apoplasto
- Lag time da 40 min a 3 ore
- Effetto additivo con IAA

Le GA stimolano sia l'espansione che la divisione cellulare

## Azione delle GA sulla distensione cellulare (diverso da quello dell'auxina)

- aumento dei livelli di XET (xiloglucano endotransglicosidasi)
- aumento dei livelli di espressione del gene OsEXP4 (espansina)

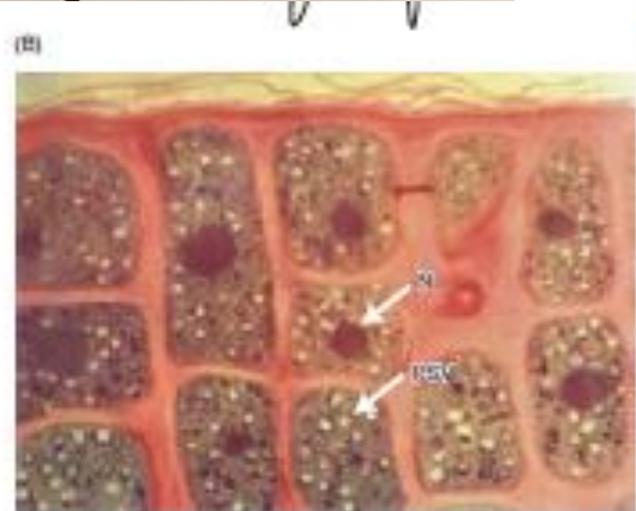
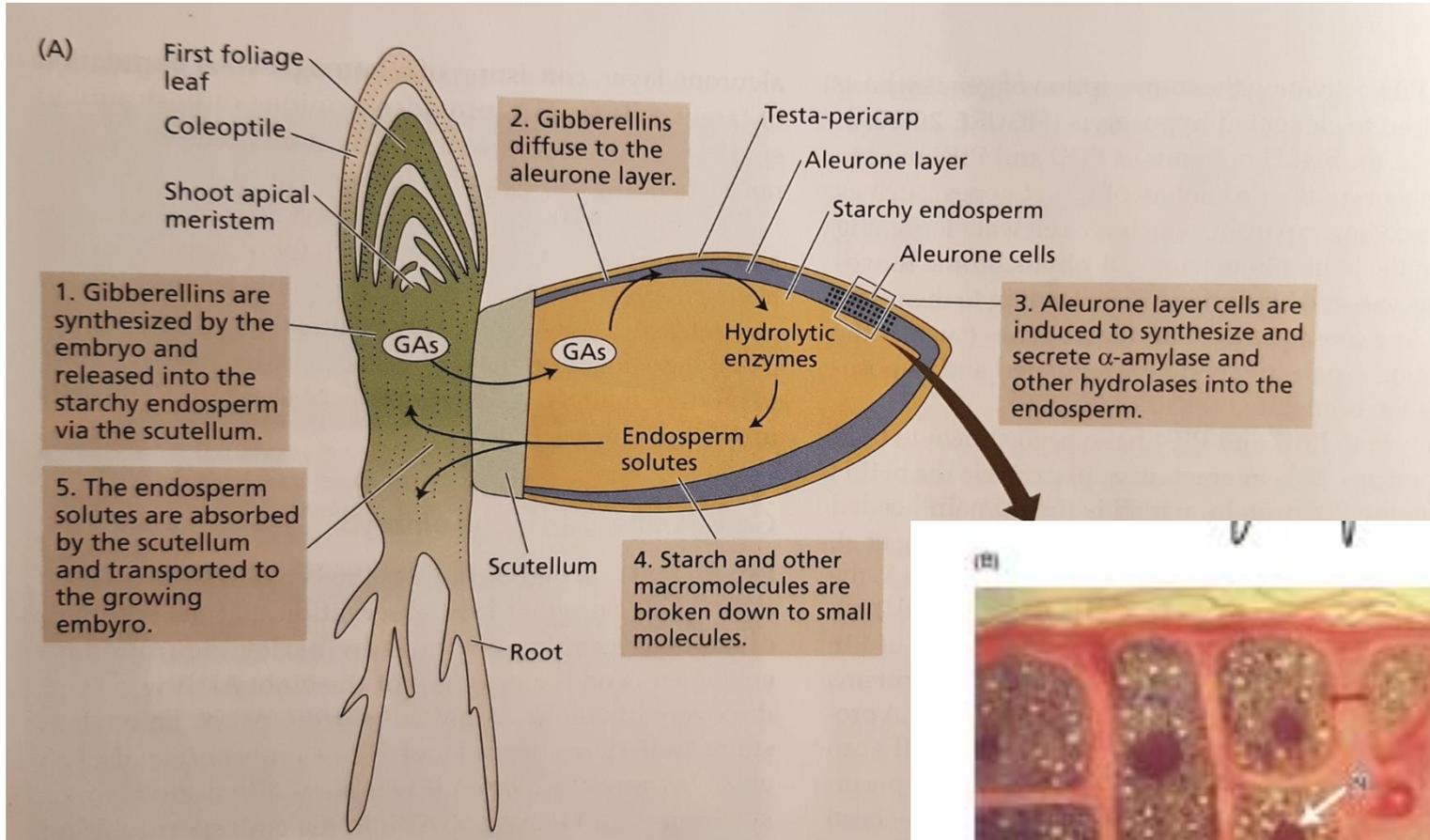


sommersione:



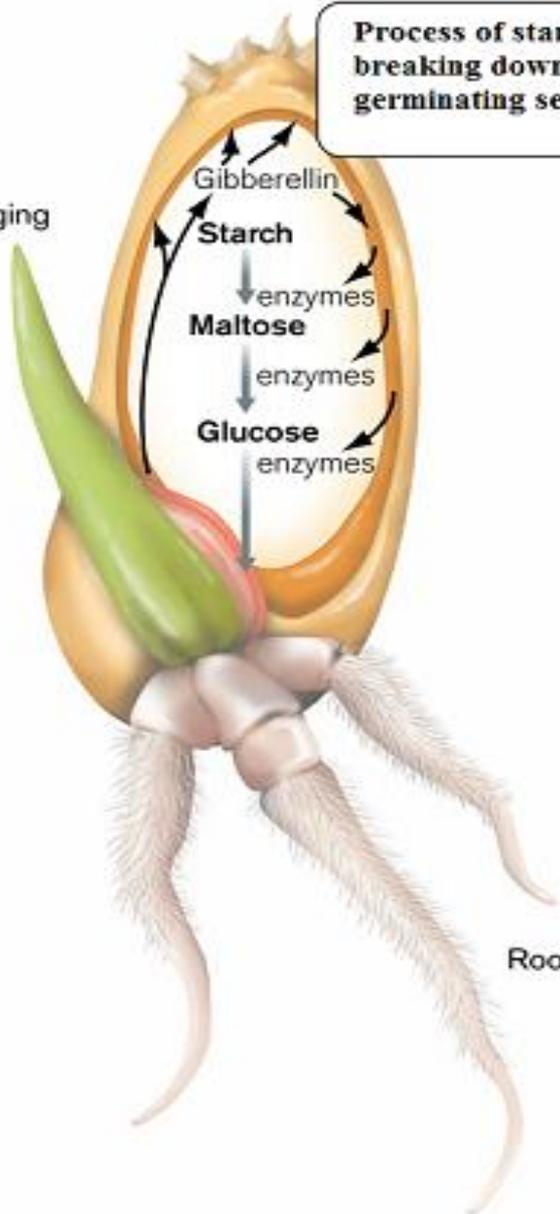
Costrutto Antis. OsEXP4    Contr    Senso OsEXP4

# Degradazione dell'amido nell'endosperma (germinazione delle cariossidi dei cereali)



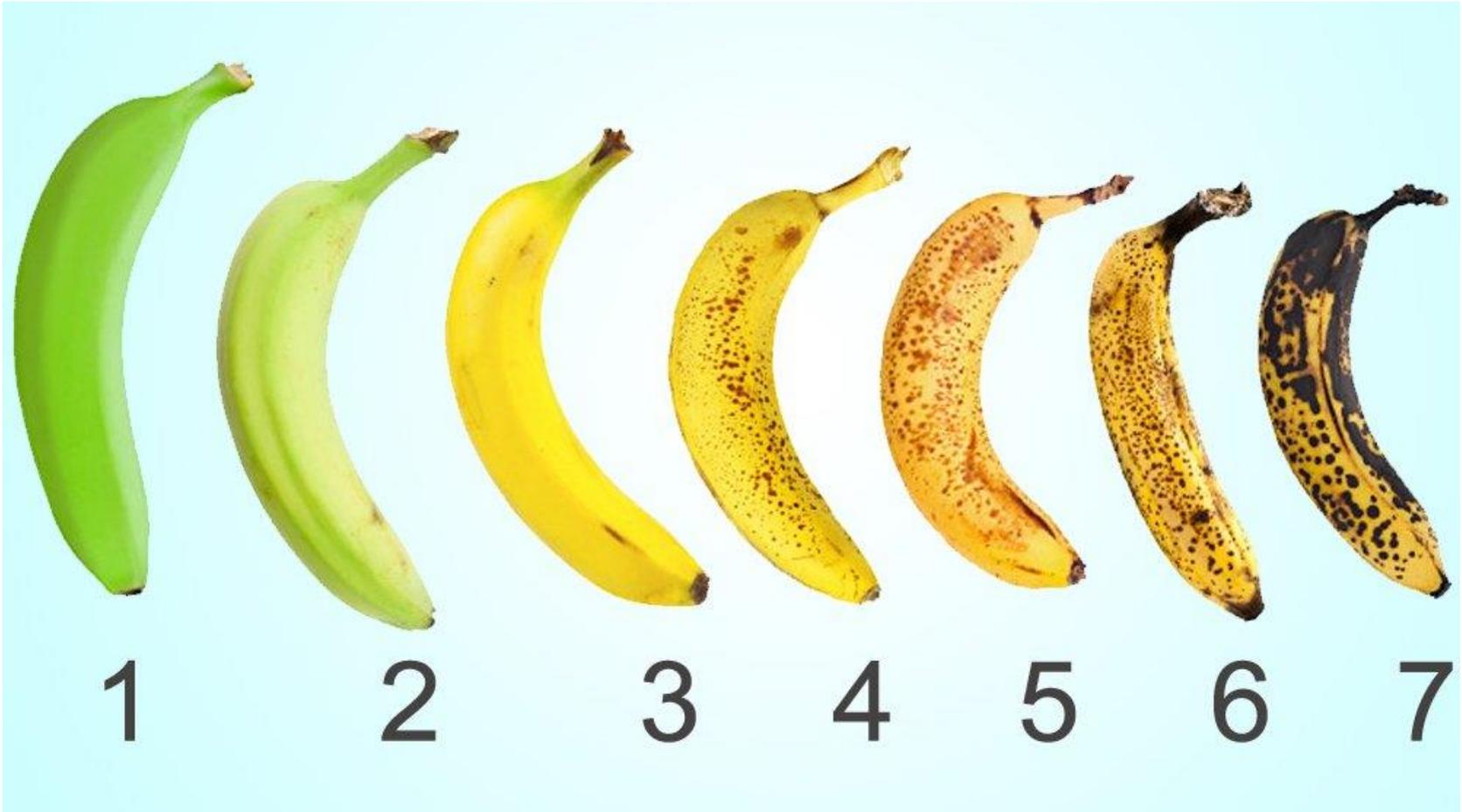
**Process of starch breaking down in germinating seed**

Emerging stem



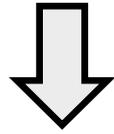
Rootlets

# ETILENE



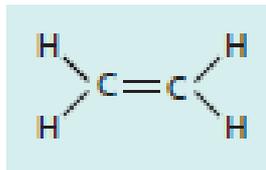
1800

Alberi in prossimità dei lampioni stradali



perdita foglie  
sviluppo alterato

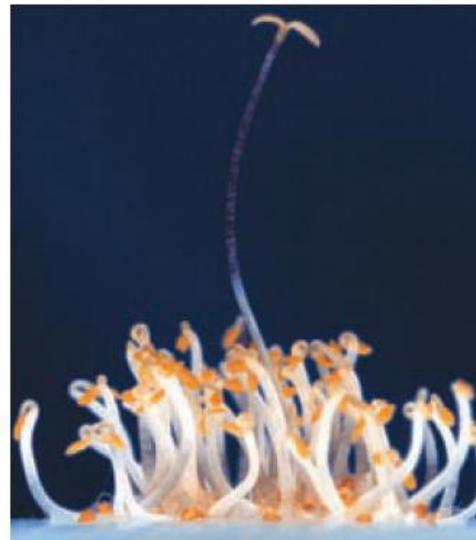
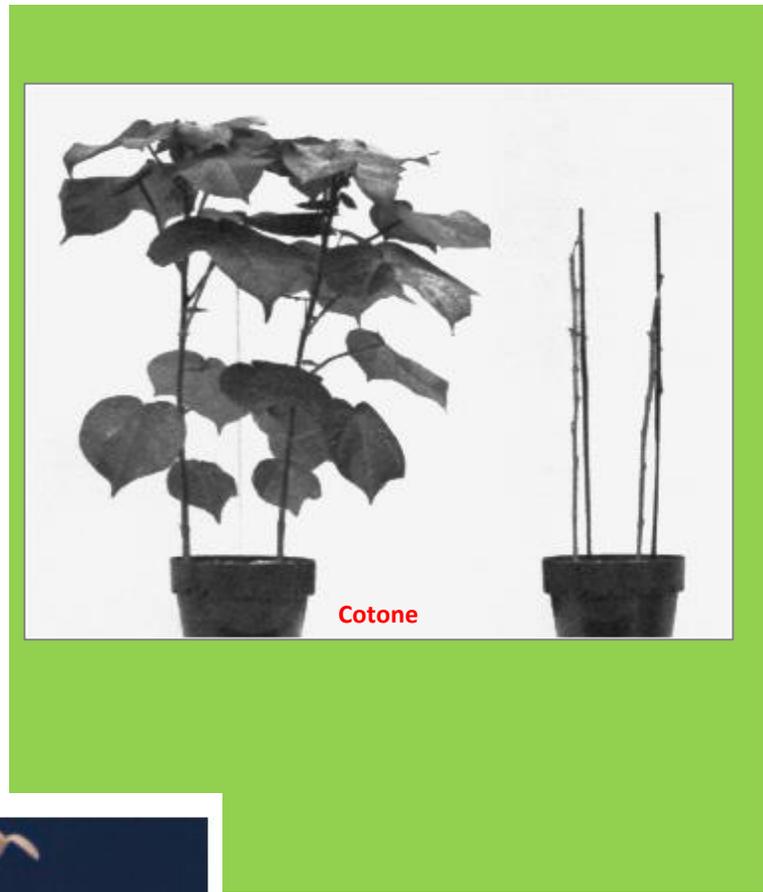
1901



Etilene

**L'etilene** è il gas  
responsabile degli effetti

(risposta tripla)



1910

Banane conservate insieme ad arance

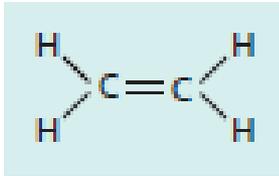


maturazione  
banane

1930

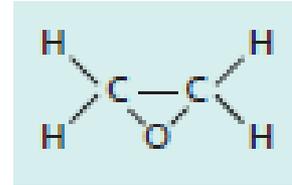
Identificazione dell'etilene nelle angiosperme

L'etilene è prodotto anche da gimnosperme, felci, cianobatteri, funghi e batteri



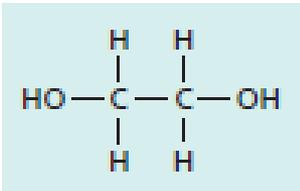
**Etilene**

ossidazione →



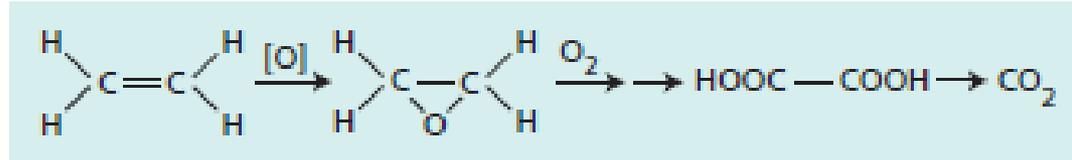
**Ossido di etilene**

idrolisi



**Glicole etilenico**

Ossidazione completa dell'etilene



**Etilene**

**Ossido di etilene**

**Acido ossalico**

**Biossido di carbonio**

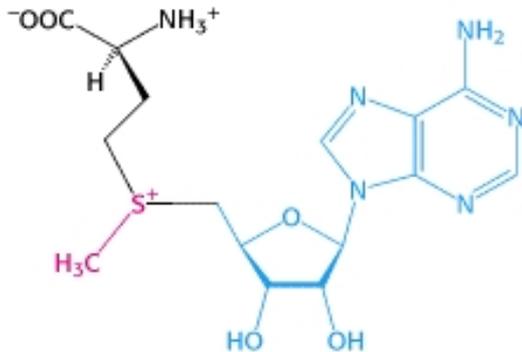
# BIOSINTESI DELL'ETILENE

è prodotto da molti tessuti

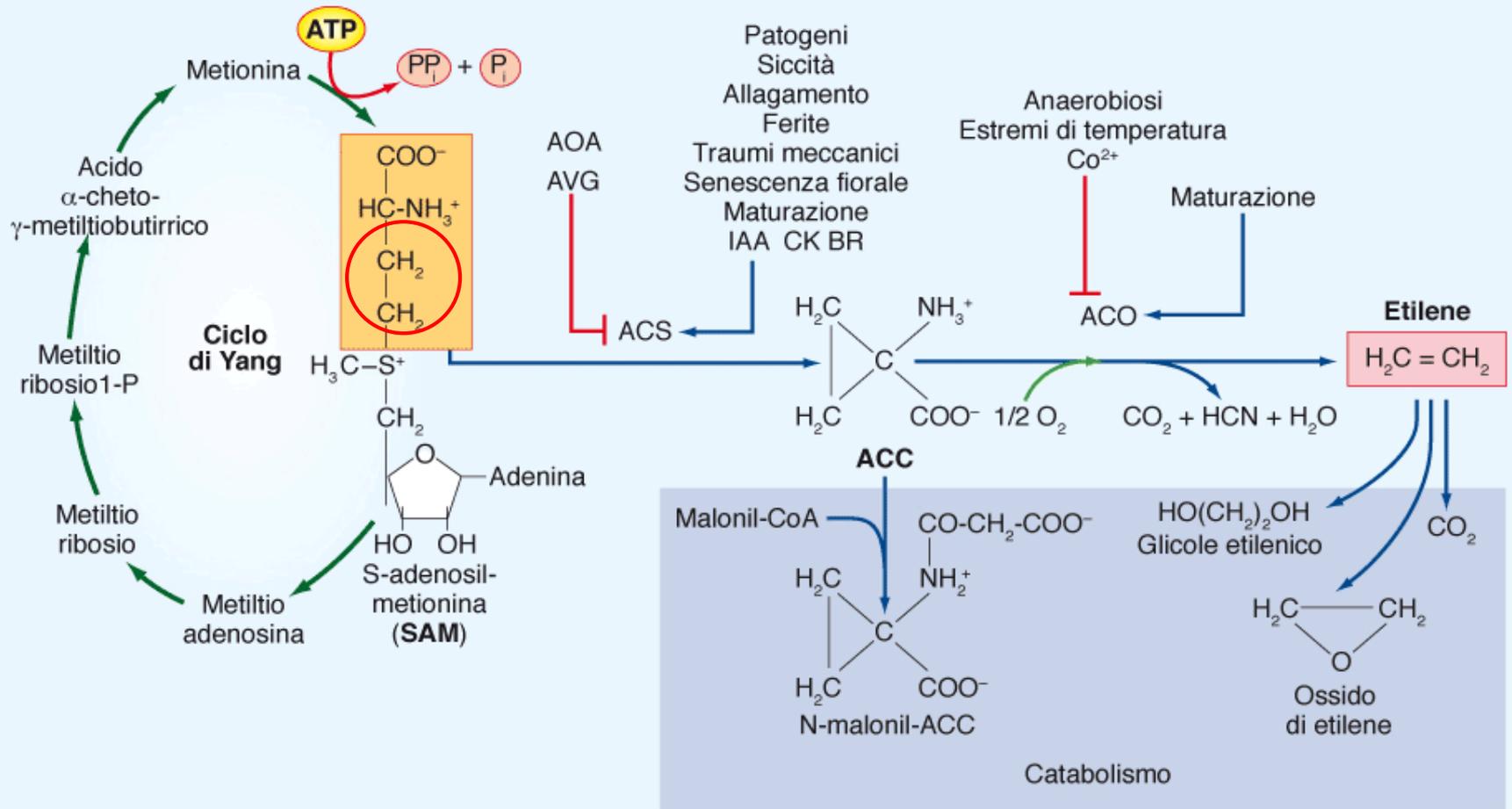
principali siti di sintesi

meristemi

regioni nodali



S-adenosil metionina (SAM)



**Figura 8.29** • Biosintesi e catabolismo dell'etilene. Nelle due reazioni della via di sintesi, che parte dalla SAM fornita dal ciclo di Yang (di cui si riportano solo i nomi dei metaboliti che lo compongono), sono indicati alcuni fattori che stimolano la sintesi di etilene (freccie) o che la inibiscono (barre), agendo sull'attività dei due enzimi ACC sintasi (ACS) e ACC ossidasi (ACO). (AOA = acido amminoossiacetico, AVG = amminoetossivinilglicina, ACC = acido 1-amminociclopropano-1-carbossilico). La reazione dell'ACC con il malonil-CoA porta alla formazione del coniugato inattivo N-malonil-ACC. Dall'ossidazione dell'etilene si producono derivati inattivi.

**ACC SINTASI: S-adenosil metionina  $\longrightarrow$  ACC    passaggio limitante**

- Enzima citosolico
- Instabile, viene stabilizzato tramite fosforilazione (chinasi)
- Presente in basse concentrazioni
- Concentrazione regolata da altri ormoni (auxine) e da stress ambientali
- Famiglia multigenica: in pomodoro 9 geni, in arabidopsis 8 sottogruppi sensibili a induttori diversi (auxina, maturazione, ferita)

**ACC ossidasi: ACC  $\longrightarrow$  etilene (richiede O<sub>2</sub>)**

Famiglia multigenica appartenente alla superfamiglia delle Fe<sup>2+</sup> / ascorbato ossidasi

- incremento espressione durante maturazione dei frutti, senescenza dei fiori

## La sintesi di etilene è influenzata da diversi fattori interni ed esterni

- **Stadio di sviluppo:** (maturazione, senescenza)
- **Ormoni: auxina** (alcuni degli effetti attribuiti all'auxina sono in realtà mediati dall'etilene!)
- **Stress:** ferita, patogeni, allagamento, siccità , gelo, temperatura
- **Ritmo circadiano:** picco diurno



**Agente Orange**

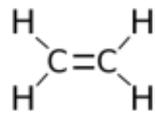
*(acido-2,4-diclorofenossiacetico) + (acido-2,4,5-triclorofenossiacetico)*

## Effetti fisiologici dell'etilene

- Regolazione della maturazione dei frutti
- Induzione della risposta tripla
- Induzione dell'accrescimento dei peli radicali
- Regolazione della senescenza fogliare

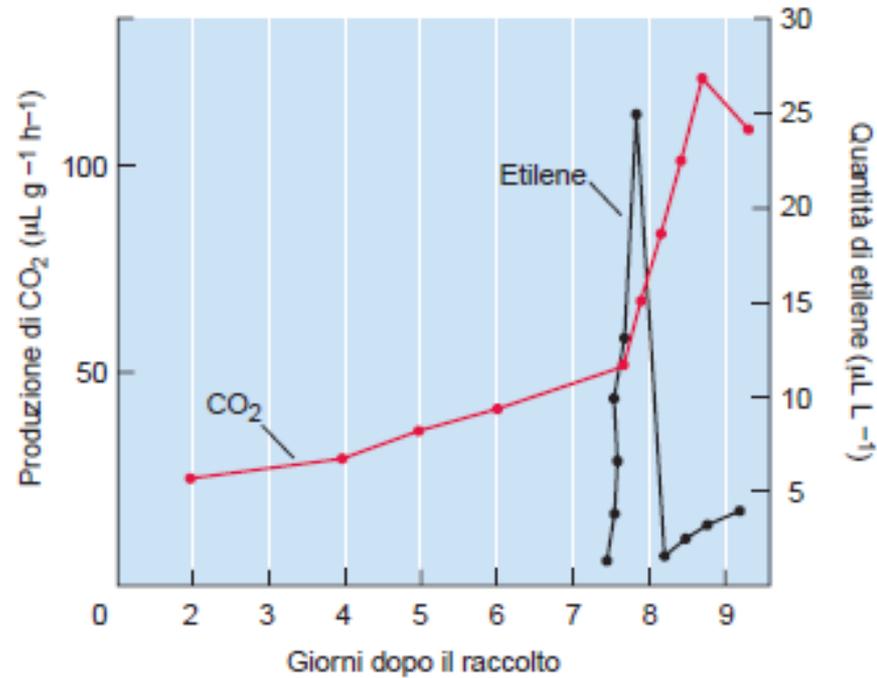


**Auxina**  
**GA**



**Etilene**

# L'etilene promuove la maturazione dei frutti climaterici



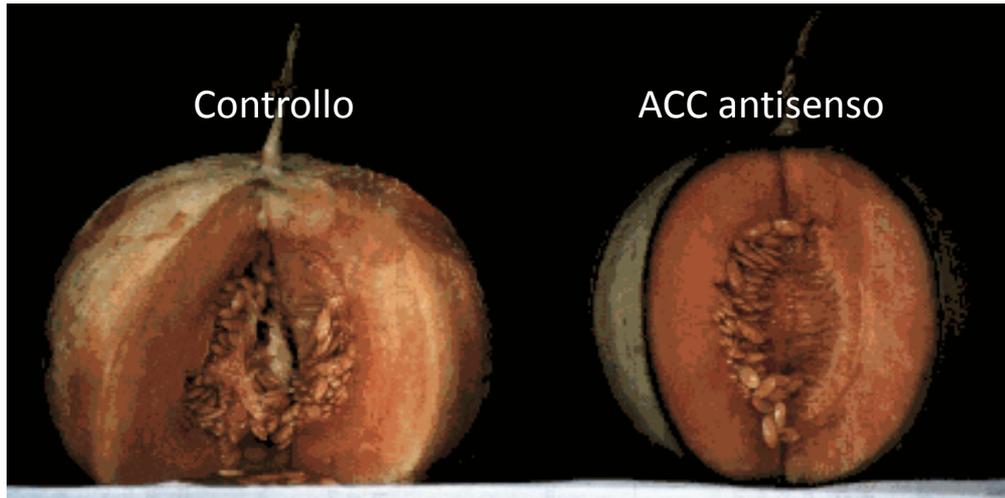
Banana: picco respiratorio (climaterio) che precede la maturazione

**TABELLA 22.1**  
**Frutti climaterici e non climaterici**

<b>Climaterico</b>	<b>Non climaterico</b>
Mela	Peperone
Avocado	Ciliegia
Banana	Agrumi
Cantaloupe	Uva
Cherimoya	Ananas
Fico	Fagiolo
Mango	Fragola
Oliva	Anguria
Pesca	
Pera	
Caco	
Prugna	
Pomodoro	

Nei frutti climaterici, il trattamento con etilene ne stimola la produzione interna

Il controllo molecolare della biosintesi dell'etilene può essere sfruttato a scopi commerciali

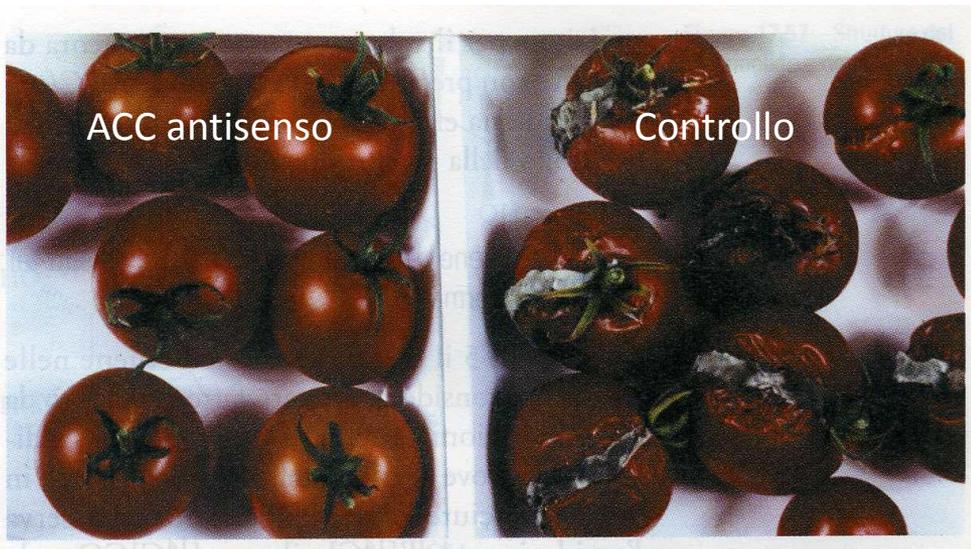


Melone e pomodoro

Costrutto antiseno per ACC sintasi

Ridotta produzione di etilene

Ipermaturazione bloccata o rallentata



## Senescenza florale

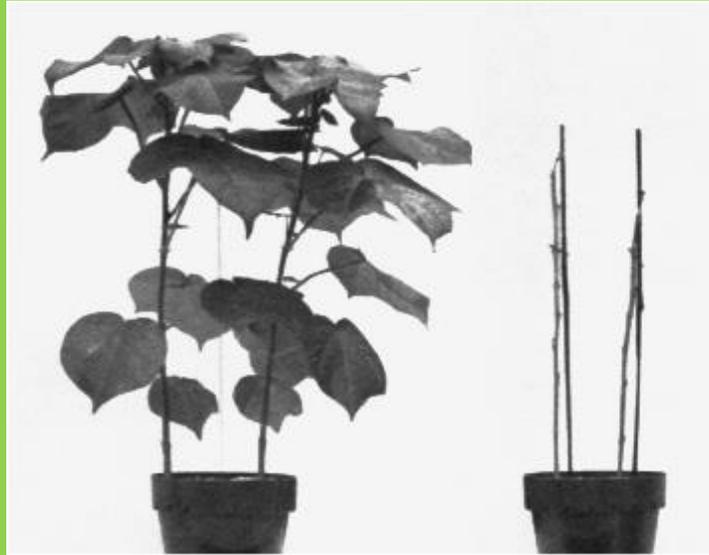


Tiosolfato di argento (STS), inibitore dell'azione dell'etilene:  
inibizione della senescenza florale (ma anche fogliare)

La senescenza (fiorale, fogliare) è regolata dal rapporto citochinine/etilene:

- Etilene esogeno accelera la senescenza (Perdita di clorofilla, discolorazione)
- Citochinine esogene ritardano la senescenza

# Senescenza fogliare, abscissione



**Cotone**

**Cotone  
+ etilene**



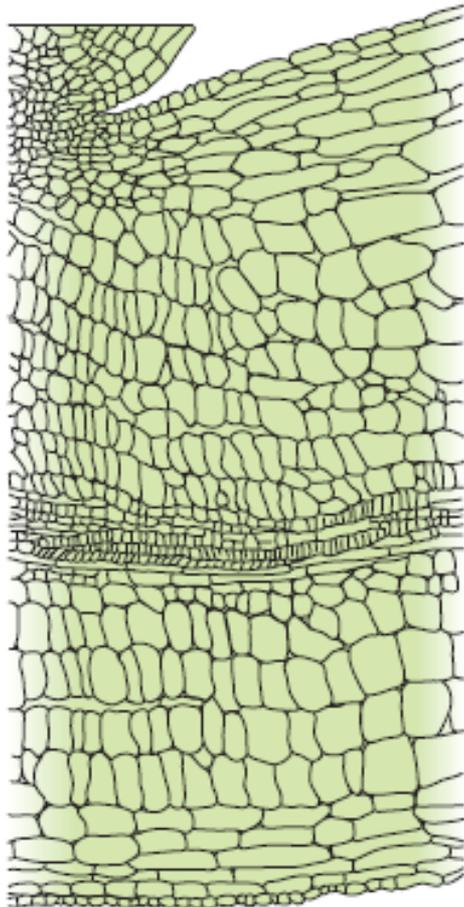
**Betulla wt**

**Betulla etr1**

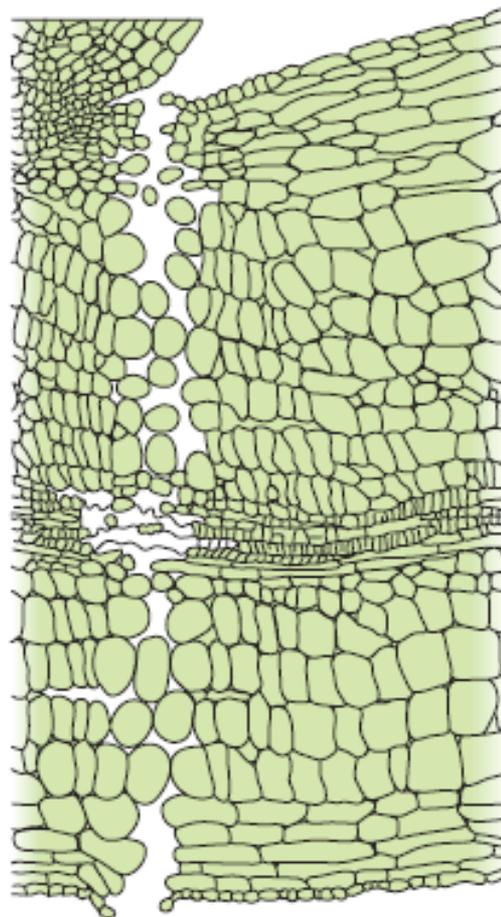
**+ etilene**

## Formazione dello strato di abscissione

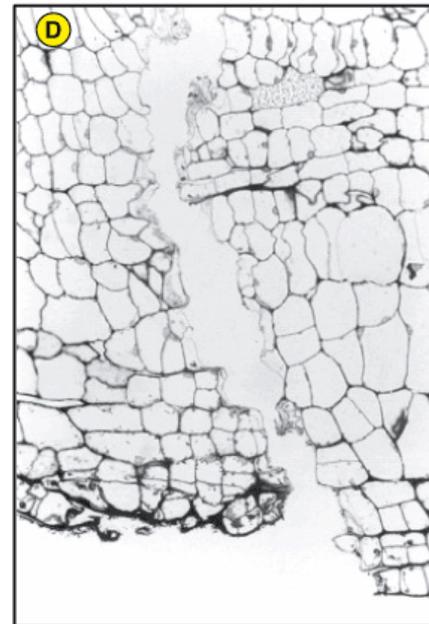
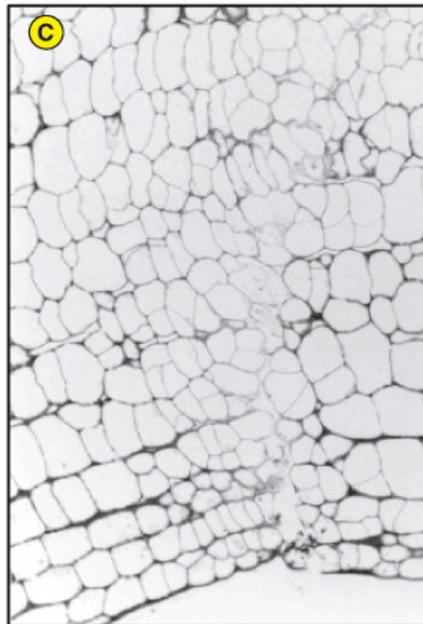
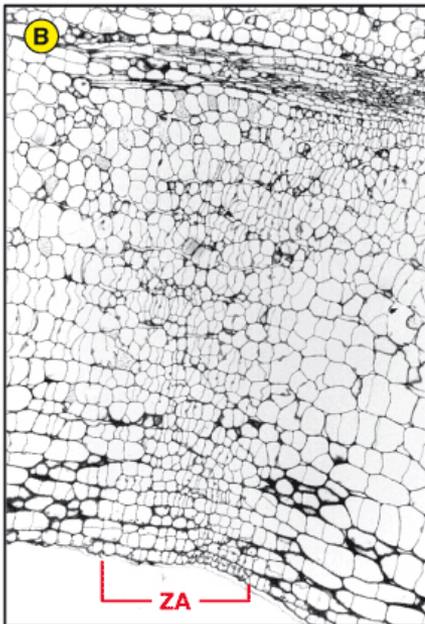
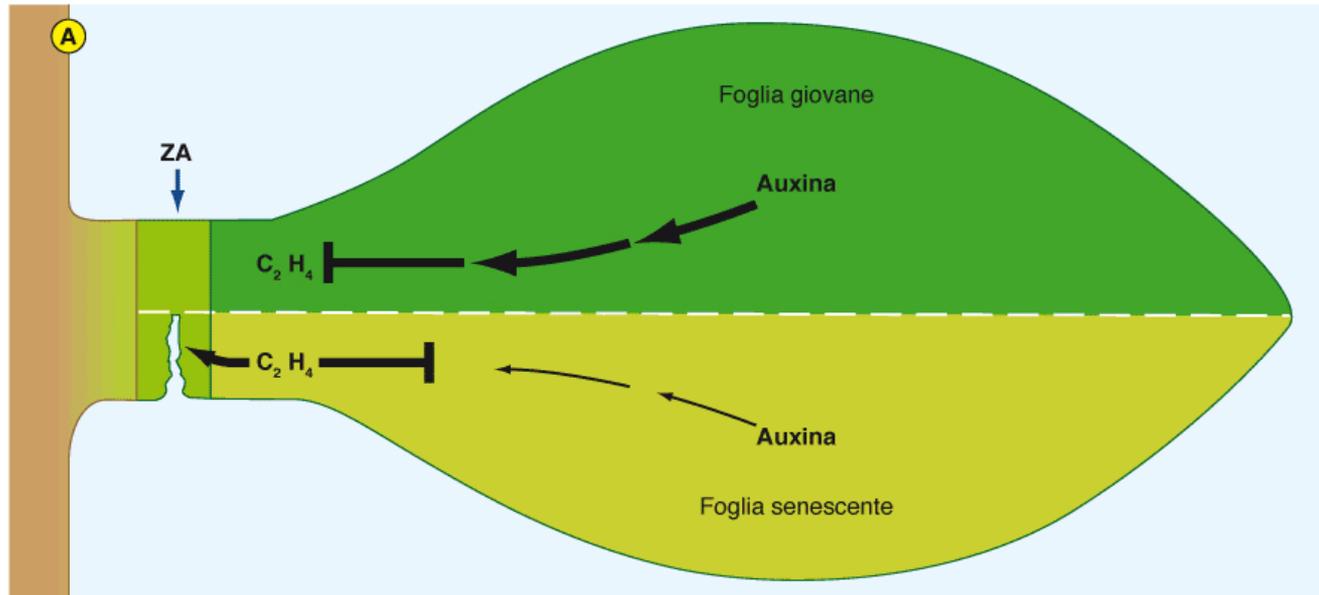
(A)



(B)



# L'abscissione fogliare è controllata dall'interazione antagonista di etilene e auxina



# Formazione di peli radicali

(D) Formazione di peli radicali



Indotta es.  
da carenza  
di nutrienti  
(fosfato)

Induzione espressione di geni che codificano per espansine, xiloglucano endotransglucosidasi (XET), etc.

## Risposta tripla

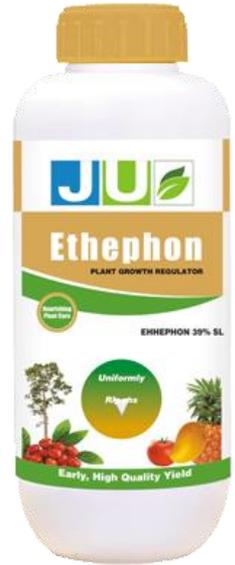
- Accrescimento plagiotropo
- Inibizione allungamento e induzione di espansione laterale
- accentuazione del ripiegamento del gancio apicale (uncino)



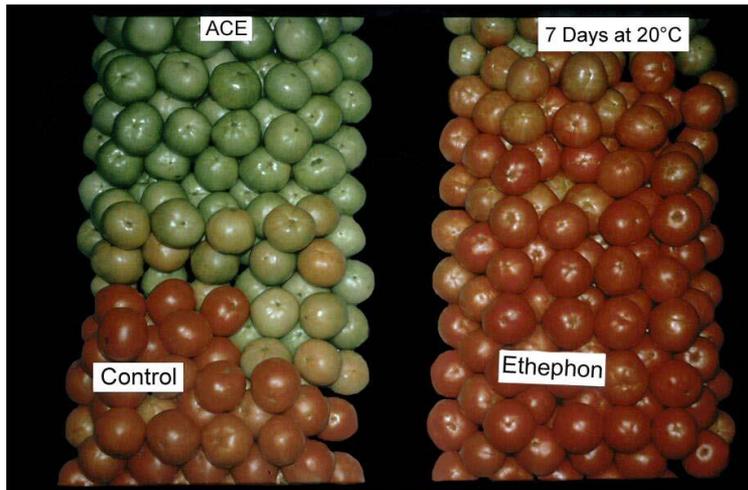
## L'etilene ha importanti applicazioni commerciali

**Ethephon:** composto in soluzione acquosa che rilascia etilene

- Accelera la maturazione dei frutti di mela e pomodoro
- Promuove il viraggio dal verde ad arancio negli agrumi
- Sincronizza la formazione di fiori e frutti di ananas
- Promuove la caduta dei frutti di cotone, ciliegio e noce



**Inibizione della produzione di etilene:** atmosfere modificate, ioni argento o Ethylbloc (1-metylcliclopropene) per la conservazione di fiori recisi



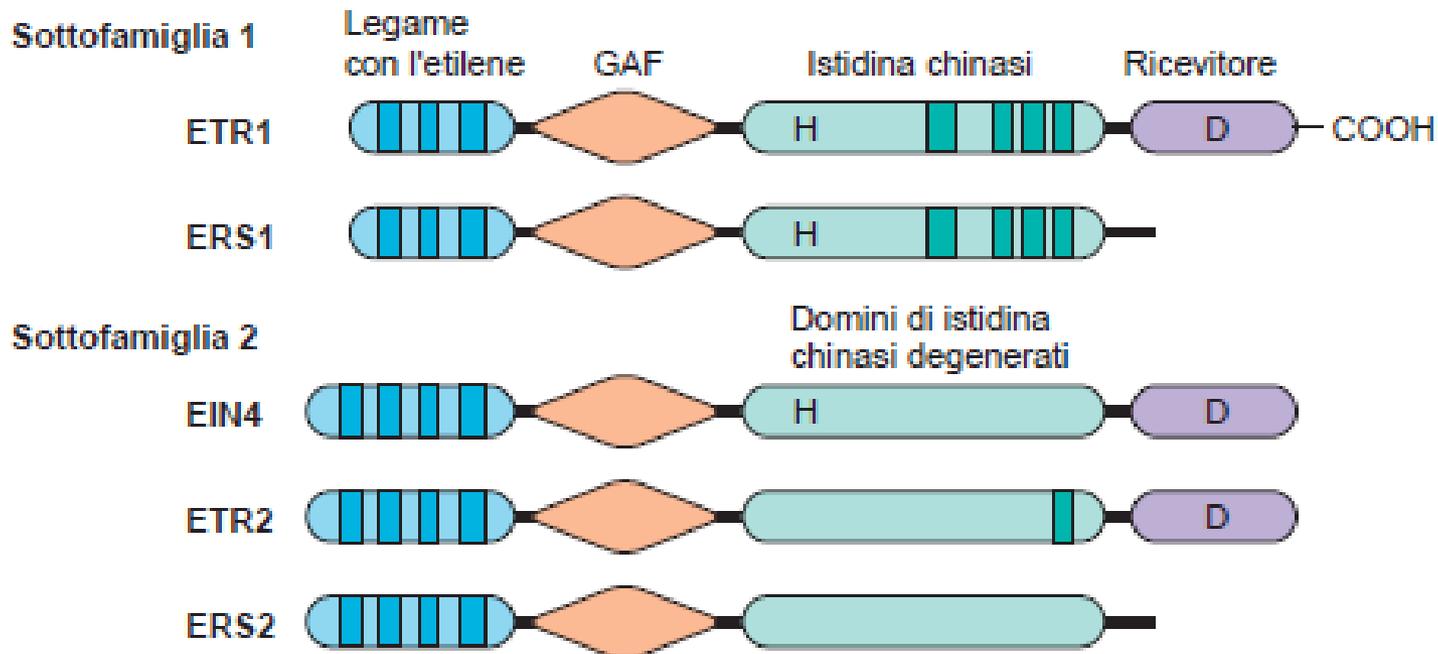
La risposta tripla è stata utilizzata come metodo di screening per la selezione di mutanti di *arabidopsis* con risposta alterata all'etilene

Mutante *etr1* insensibile a etilene

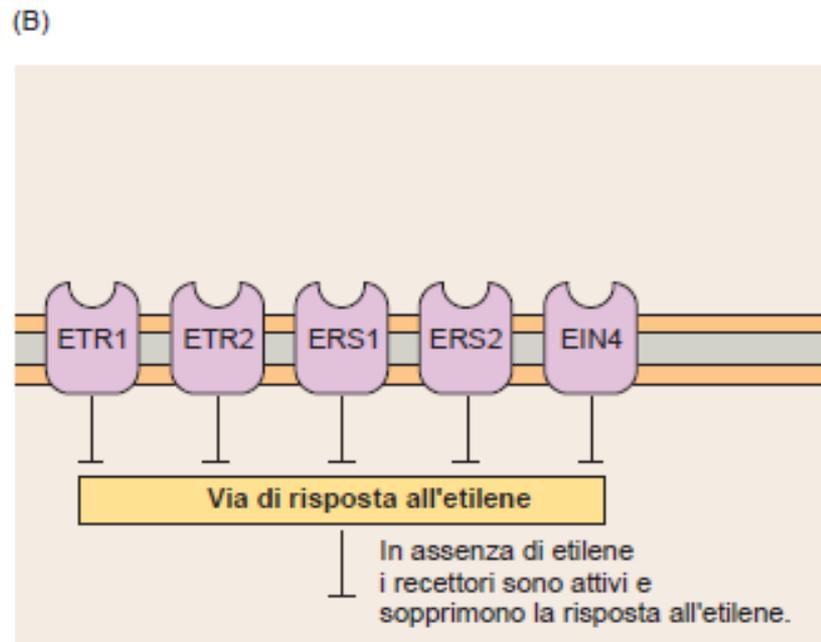
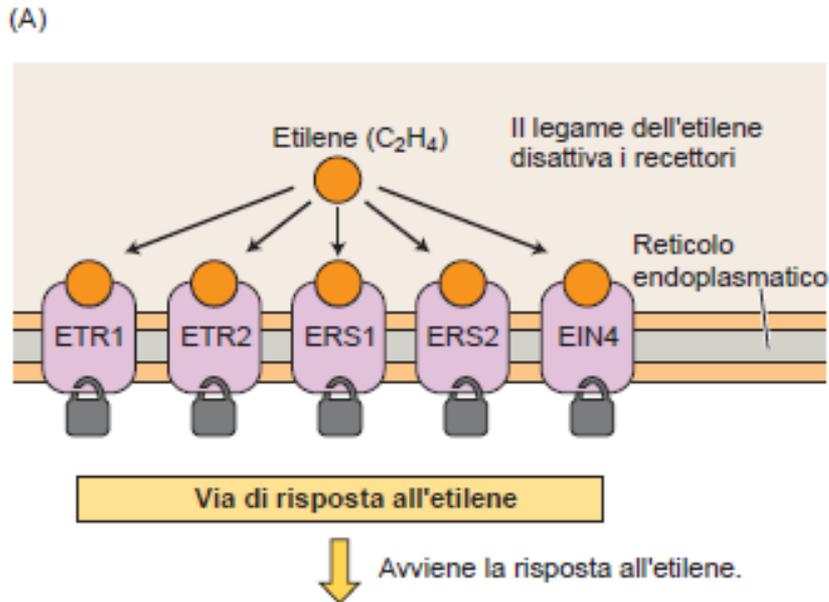


## In *Arabidopsis* famiglia di 5 recettori per l'etilene (nella membrane del RE)

Tutti hanno in comune un C-terminale con un dominio istidina-chinasi e un N-terminale con 3 domini transmembrana che definiscono il sito di legame dell'etilene

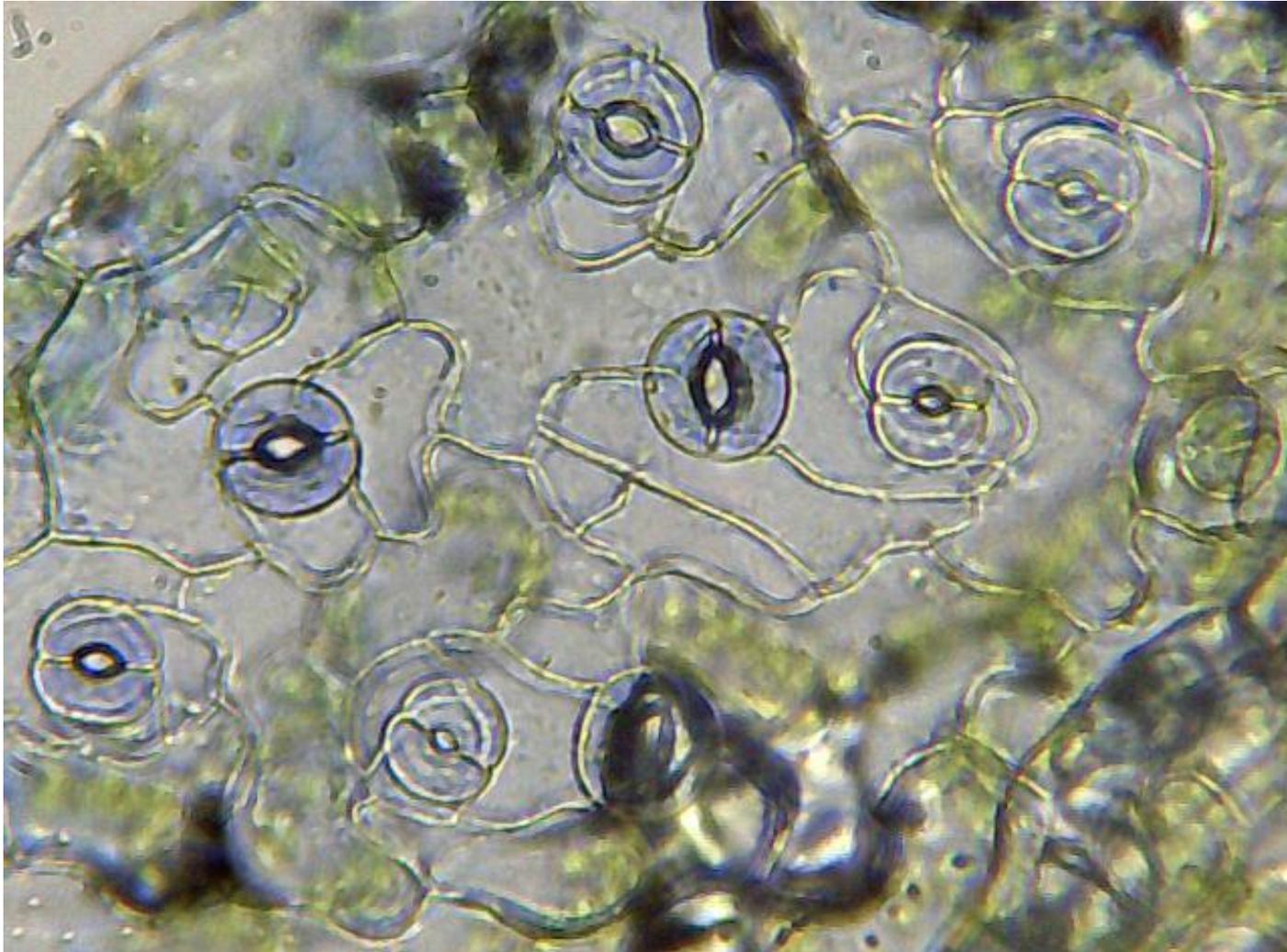


I recettori per l'etilene, quando non legano l'etilene, sono dei regolatori negativi della via di trasduzione



I recettori sono «normalmente» nello stato attivo, ma vengono inattivati dall'etilene  
Nello stato attivo (senza etilene) reprimono la trasduzione del segnale di risposta all'etilene

# ACIDO ABSCISSICO



## Studi sulla dormienza di semi e gemme

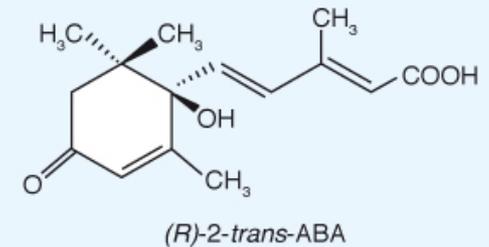
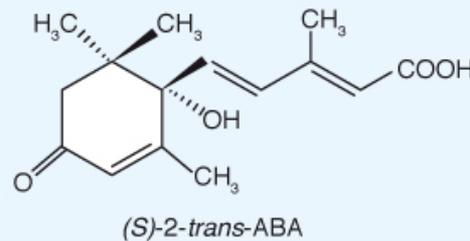
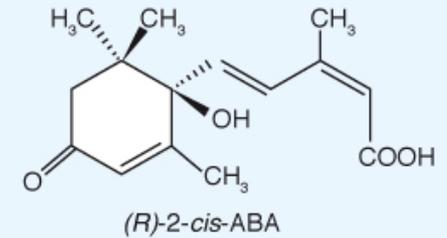
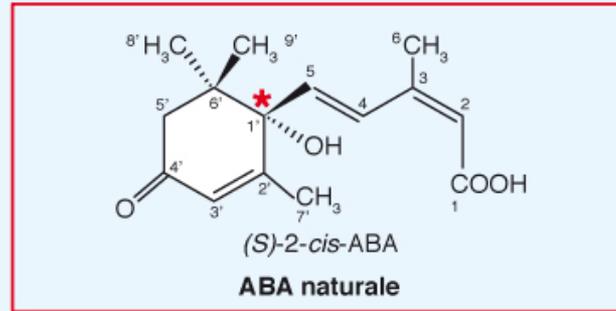
Causata da ormoni

**Dormina:** dormienza delle gemme. Isolata da foglie di *Acer pseudoplatanus* all'inizio dell'autunno

Chimicamente identica all'**abscissina II**, una sostanza che promuoveva l'abscissione dei frutti di cotone

La sostanza fu rinominata **ACIDO ABSCISSICO**

# Struttura



Composto a 15 C che deriva dai carotenoidi, presente in tutte le piante vascolari, ma anche in alghe, funghi, animali

Presente in natura come isomero *cis* e come enantiomero S

Enantiomero R non attivo nella chiusura degli stomi

## BIOSINTESI

Sintetizzato nei cloroplasti e plastidi (soprattutto nel parenchima di tessuti vascolari)

Via di biosintesi definita grazie alla generazione di mutanti biosintetici:

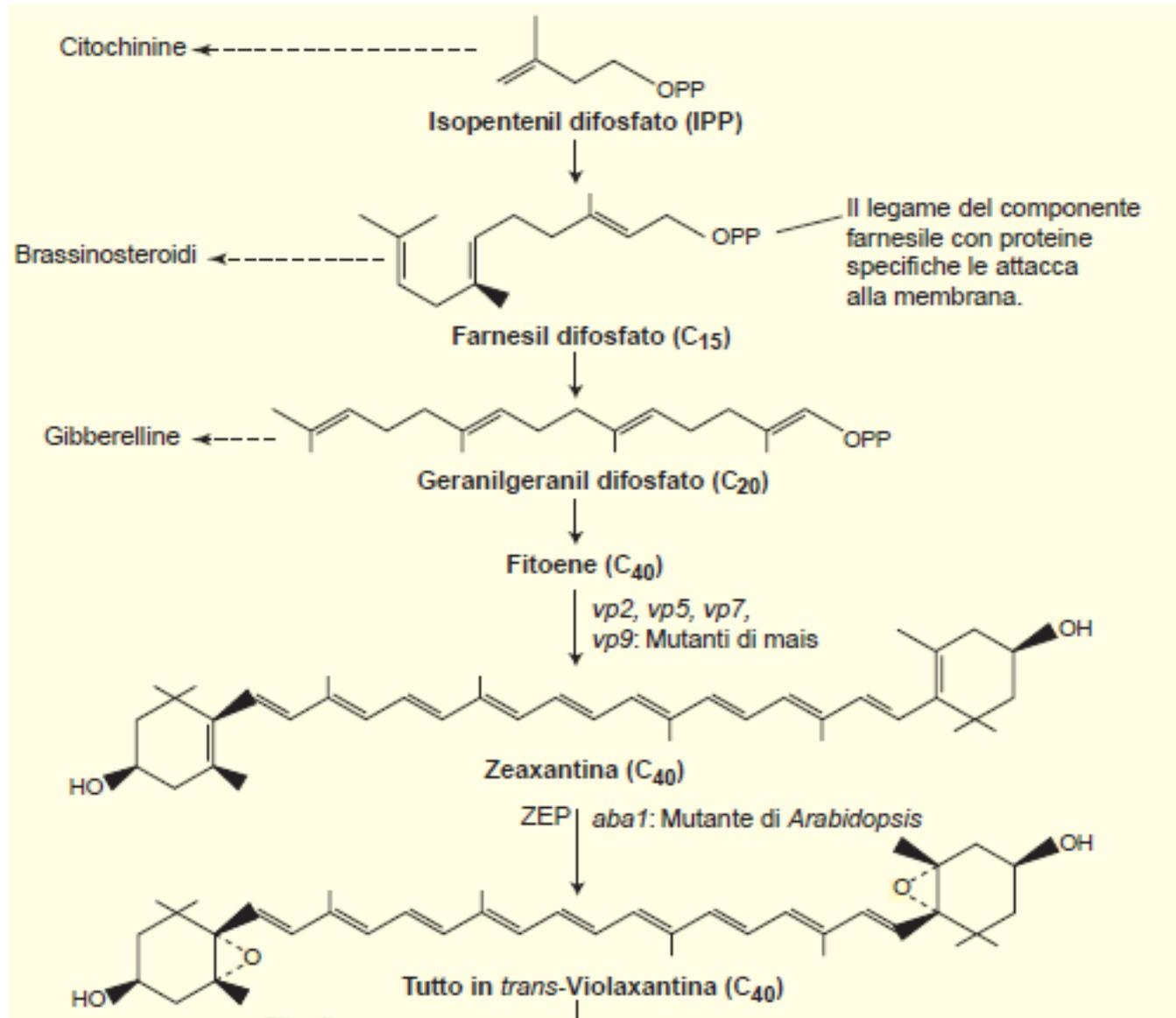
- Pomodoro: flacca (flc), sitiens (sit)
- Arabidopsis: aba

Questi mutanti appassiscono rapidamente in condizioni di stress idrico; applicando ABA esogeno si può evitare l'appassimento

L'ABA viene sintetizzato a partire dall'Isopentenil difosfato (IPP) nella via dei carotenoidi

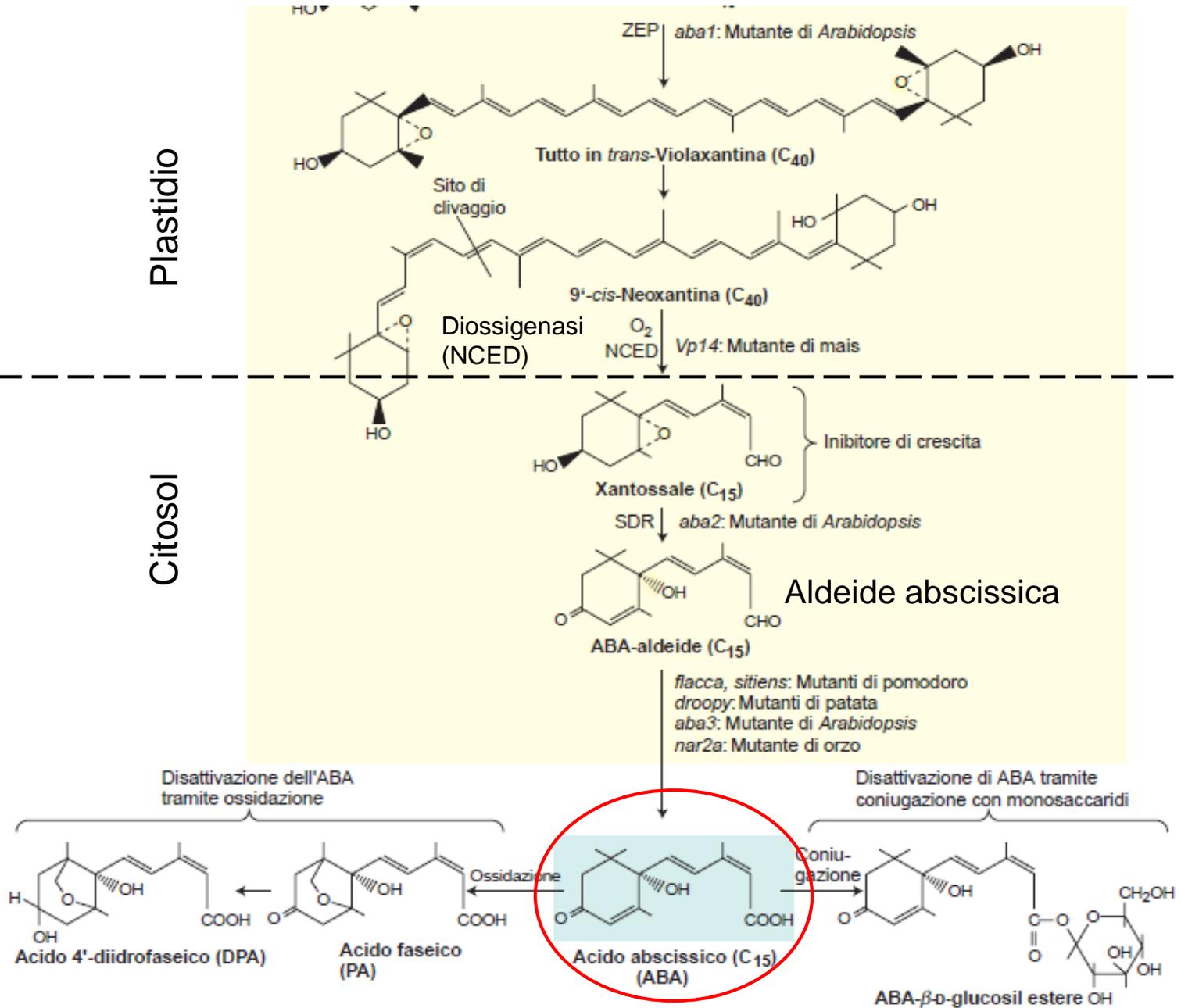
Si forma indirettamente, cioè come prodotto della scissione di una molecola di cis-neoxantina (carotenoide a 40 atomi di C)

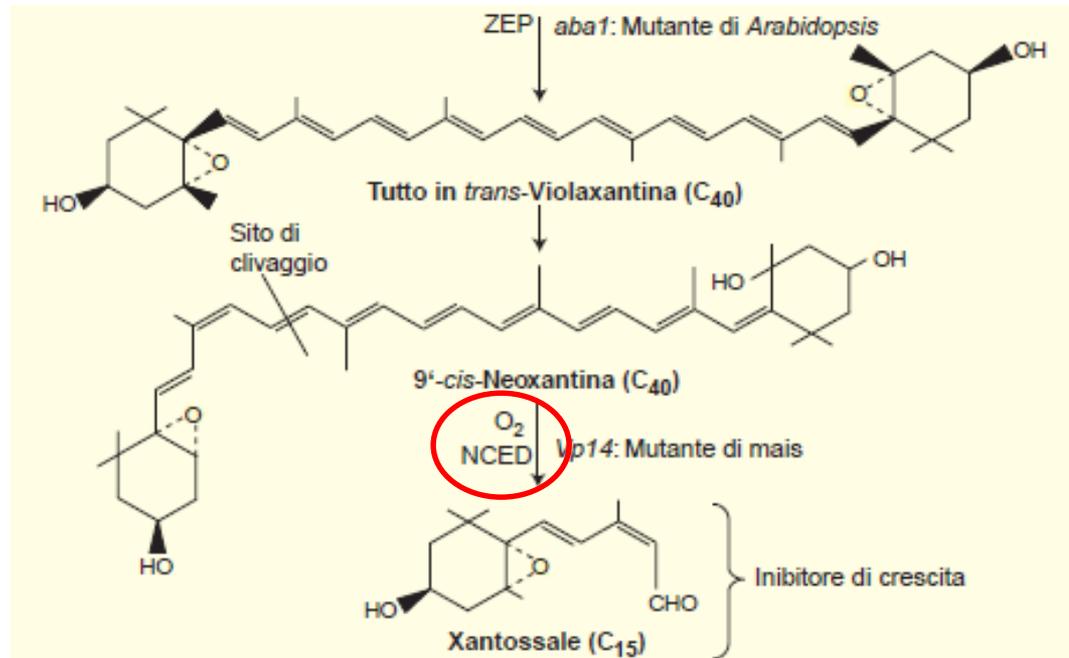
# Nel plastidio:



Plastidio

Citosol





## NCED: 9-cis-epossicarotenoide diossigenasi

Sintesi indotta da stress idrico

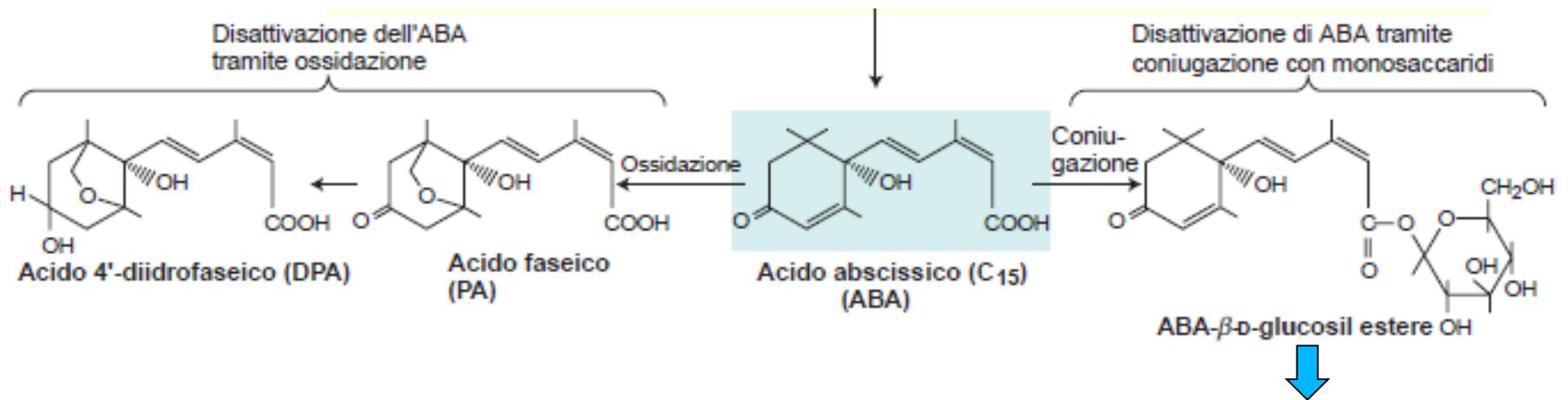
Famiglia multigenica regolata in maniera differenziale nello sviluppo e in risposta a stress

Localizzato nei tilacoidi

L'ABA è disattivato mediante:

Ossidazione ad acido 4'-diidrofaseico

Coniugazione es. ABA  $\beta$ -D-glucosil estere



Immagazzinato (RE, vacuolo);  
Trasportato verso siti bersaglio;  
idrolizzato da specifiche  
 $\beta$ -glucosidasi

## L'ABA è trasportato nel floema e nello xilema

ABA sintetizzato nelle foglie traslocato alle radici nel floema

ABA sintetizzato nelle radici traslocato al germoglio nello xilema

Le concentrazioni di ABA variano di molto durante lo sviluppo o in risposta a stress

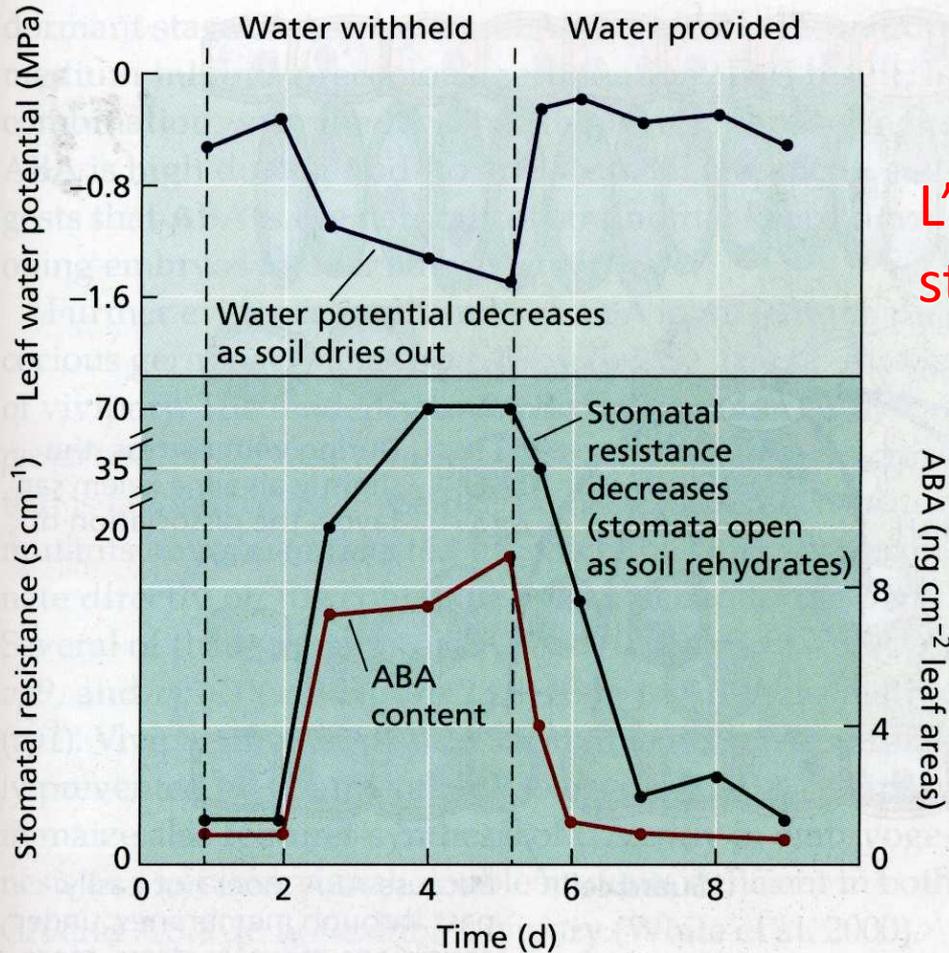
Semi in sviluppo: variazione di 100 volte

Foglie in stress idrico: aumento di 50 volte in poche ore

Aumenti dovuti a biosintesi e a trasporto

## Effetti fisiologici dell'ABA

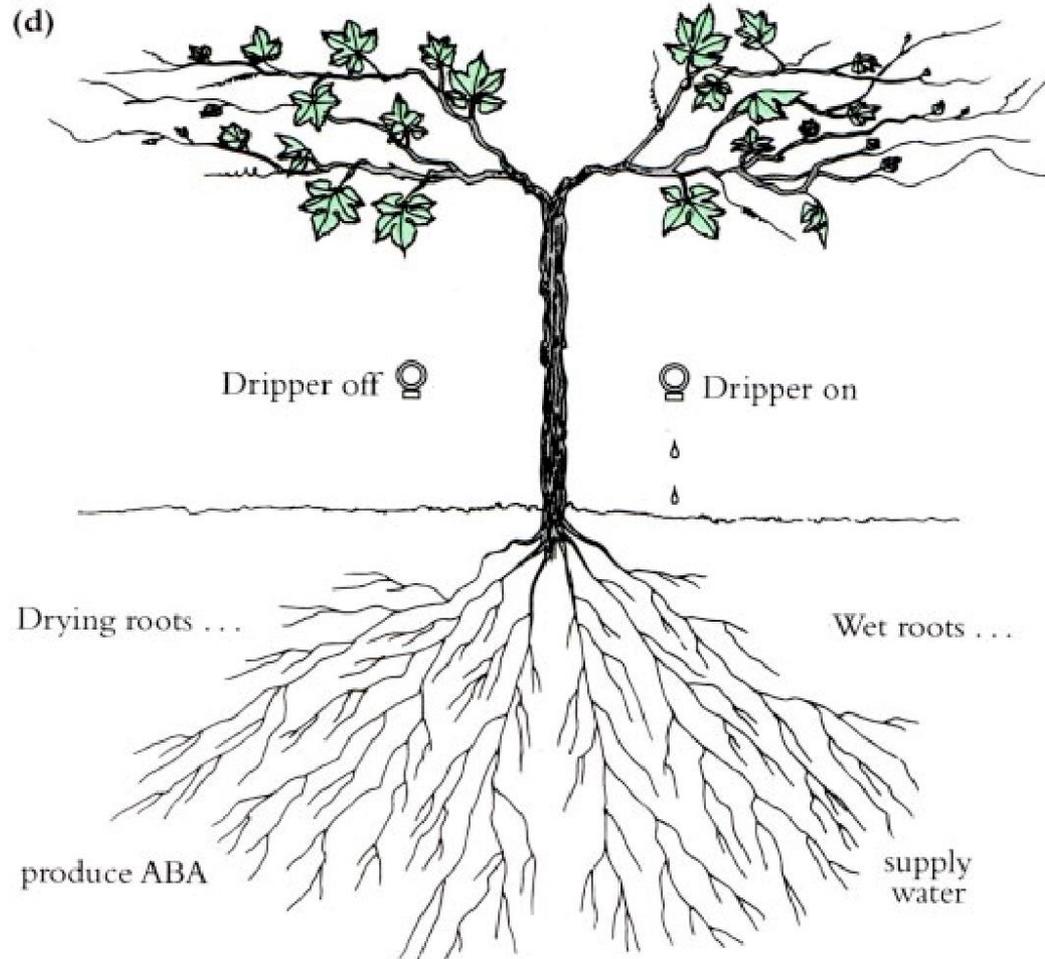
- Induzione della chiusura stomatica in condizioni di stress idrico
- Regolazione della maturazione e germinazione del seme
- Regolazione differenziale dell'accrescimento di fusti e radici in condizioni di stress idrico
- Regolazione della senescenza fogliare
- Regolazione della dormienza delle gemme

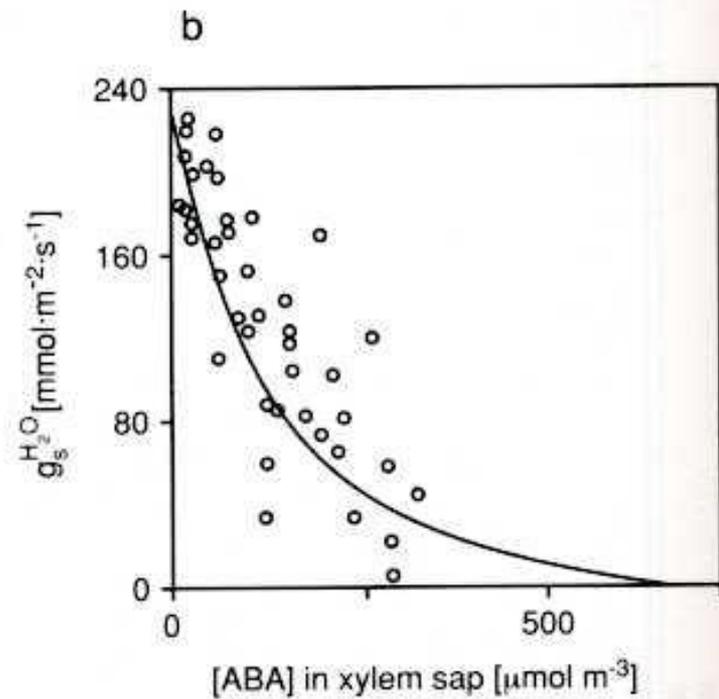
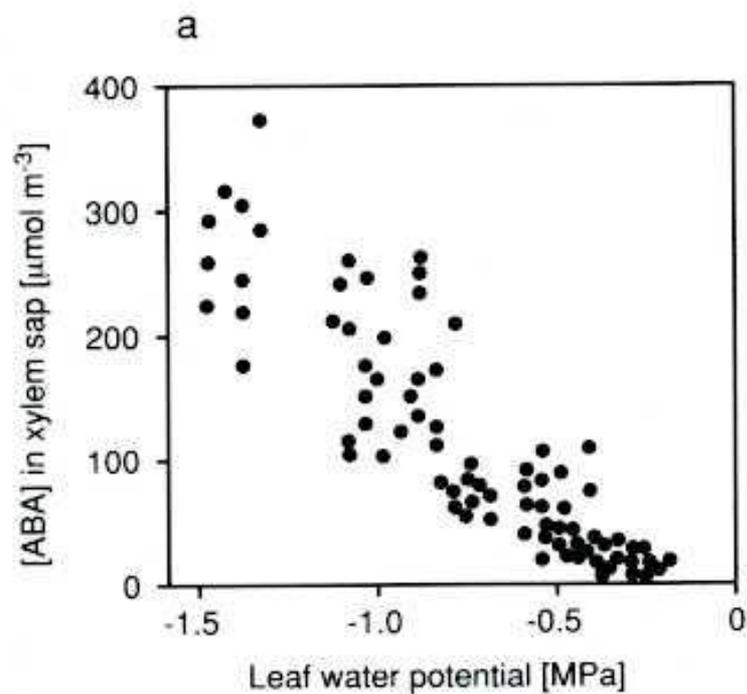


L'ABA induce la chiusura degli stomi in risposta allo stress idrico

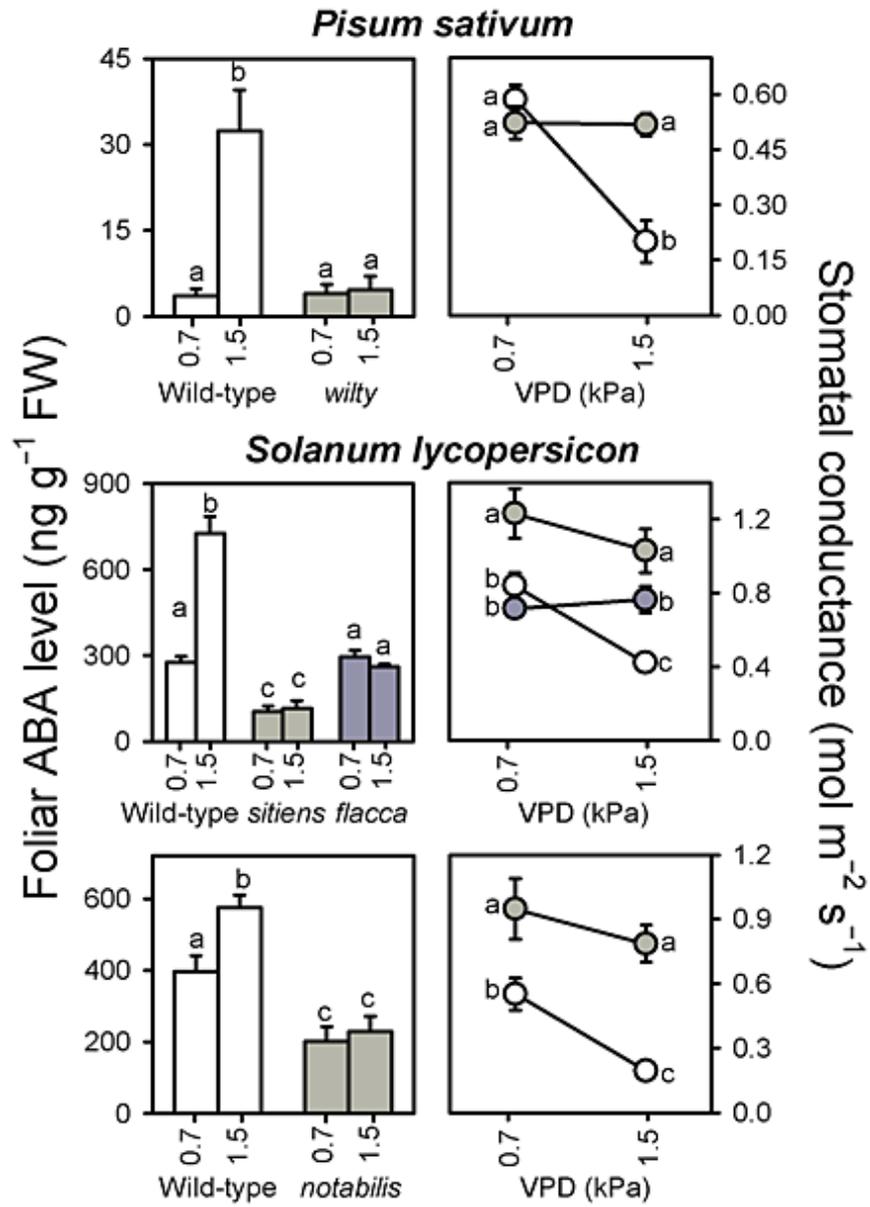
**FIGURE 23.4** Changes in water potential, stomatal resistance (the inverse of stomatal conductance), and ABA content in maize in response to water stress. As the soil dried out, the water potential of the leaf decreased, and the ABA content and stomatal resistance increased. The process was reversed by rewatering. (After Beardsell and Cohen 1975.)

Esperimento 'split-root': gli stomi si chiudono quando una porzione dell'apparato radicale percepisce la disidratazione del suolo, anche se l'altra porzione continua ad essere irrigata e il potenziale dell'acqua della foglia non cambia



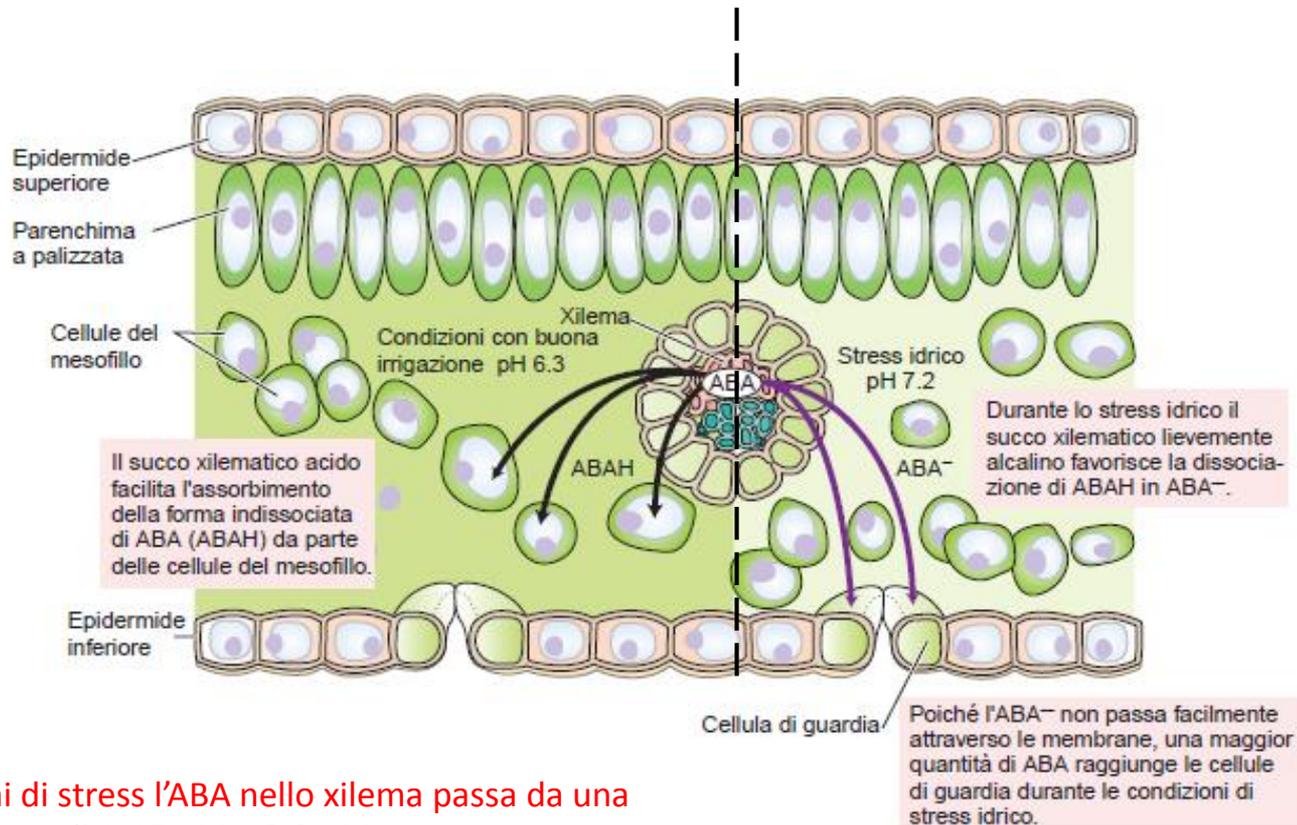


**Fig. 4.32a,b.** Increase of abscisic acid concentration [ABA] in the xylem sap in *Helianthus annuus* **a** as the soil is drying out (reduction in leaf water potential) and **b** decrease of stomatal conductance for water vapor ( $g_s^{\text{H}_2\text{O}}$ ) at higher  $[\text{ABA}]_{\text{xyl}}$ . (After Tardieu and Simonneau 1998)



Risposta all'aumento del VPD

## In condizioni di stress idrico l'ABA nella foglia viene redistribuito



In condizioni di stress l'ABA nello xilema passa da una concentrazione di 1-15 nM a 3.0  $\mu$ M

Meccanismo a trappola di anioni dovuto all'aumento di pH della linfa xilematica in condizioni di stress

**ABA**



Attivazione canali di uscita del  $K^+$



Diminuzione della pressione di turgore  
nelle cellule di guardia



**Chiusura degli stomi**

1. L'ABA si lega ai suoi recettori. (Per chiarezza sono mostrati solo i recettori extracellulari).

2. Il legame dell'ABA induce la formazione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) che attivano i canali del  $\text{Ca}^{2+}$  sulla membrana plasmatica. La produzione di acido fosfatidico (PA) mediata dalla fosfolipasi D (PLD) contribuisce alla produzione delle ROS.

3. L'influsso di calcio dà inizio a transienti intracellulari di calcio e promuove l'ulteriore rilascio di calcio dai vacuoli.

4. L'ABA stimola la produzione di NO, che a sua volta aumenta la concentrazione di cADPR.

5. L'ABA aumenta la concentrazione di  $\text{IP}_3$  tramite una via di segnale che comprende S1P, proteine eterotrimeri G e fosfolipasi C e D (PLC e PLD).

6. L'aumento in cADPR e  $\text{IP}_3$  attiva ulteriori canali del calcio sul tonoplasto, liberando più  $\text{Ca}^{2+}$  dai vacuoli.

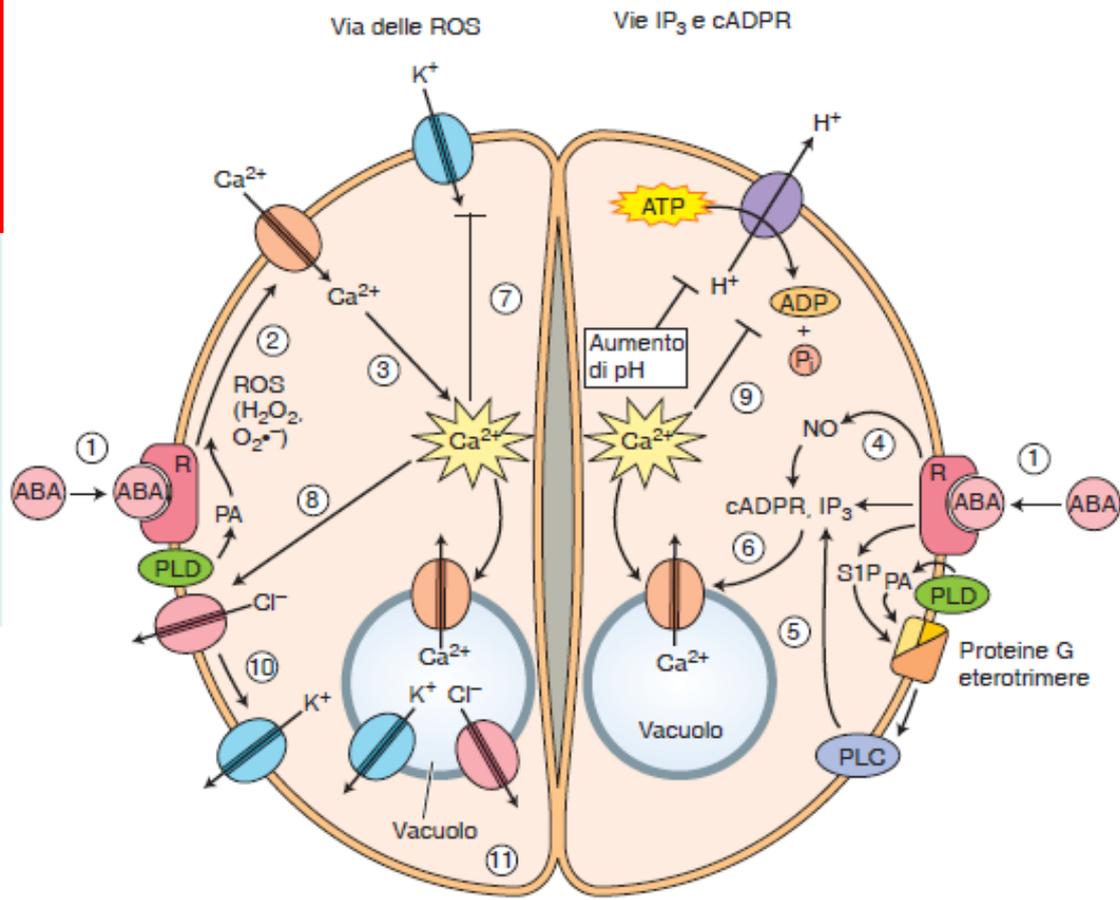
7. L'aumento del calcio intracellulare blocca i canali del  $\text{K}^+_{\text{in}}$  della membrana plasmatica.

8. L'aumento del calcio intracellulare promuove l'apertura dei canali (anionici) del  $\text{Cl}^-_{\text{out}}$  della membrana plasmatica, causando la depolarizzazione.

9. La pompa protonica della membrana plasmatica è inibita dall'aumento di calcio citosolico indotto dal calcio e dall'aumento del pH intracellulare, depolarizzando ulteriormente la membrana.

10. La depolarizzazione della membrana attiva i canali del  $\text{K}^+_{\text{out}}$  della membrana plasmatica.

11. Il  $\text{K}^+$  e gli anioni che attraversano la membrana plasmatica sono prima liberati dai vacuoli nel citosol.

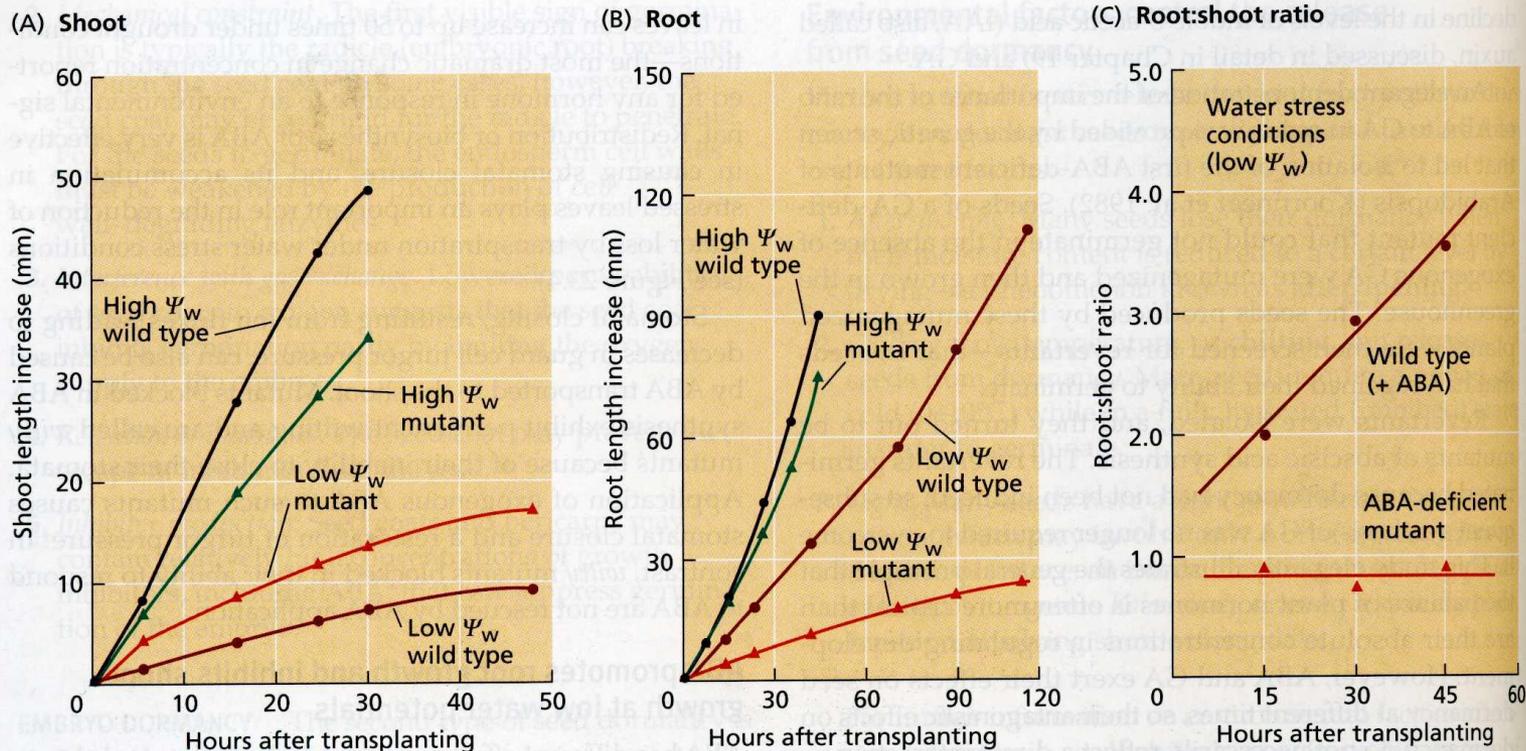


**Figura 23.14** Modello semplificato per la via di segnale dell'ABA nelle cellule di guardia degli stomi. L'effetto netto è la perdita di potassio e del suo anione ( $\text{Cl}^-$  o malato $^{2-}$ ) dalla cellula. cADPR = ADP-ribosio ciclico;  $\text{IP}_3$  = inositolo 1,4,5 trifosfato; NO = ossido nitrico; PA = acido fosfatidico; PLC = fosfolipasi C; PLD = fosfolipasi D; R = recettore; ROS = specie reattive dell'ossigeno; S1P = sfingosina-1-fosfato.

# Stimolo della crescita delle radici e inibizione della crescita del germoglio in risposta a stress idrico

A  $\Psi$  elevato, ABA stimola crescita fusto, foglie e radici (effetto debole)

A  $\Psi$  basso, ABA inibisce crescita fusto e foglie, stimola crescita radici



**FIGURE 23.6** Comparison of the growth of the shoots (A) and roots (B) of normal versus ABA-deficient (*viviparous* [*vp*]) maize plants growing in vermiculite maintained either at high water potential ( $\Psi_w = -0.03$  MPa) or at low water potential ( $\Psi_w = -0.3$  MPa in A and  $-1.6$  MPa in B). Water stress (low  $\Psi_w$ ) depresses the growth of both shoots and

roots compared to the controls. (C) Under water stress conditions (low  $\Psi_w$ , defined slightly differently for shoot and root), the ratio of root growth to shoot growth is much higher when ABA is present (i.e., in the wild type) than when it is absent (in the mutant). (From Saab et al. 1990.)

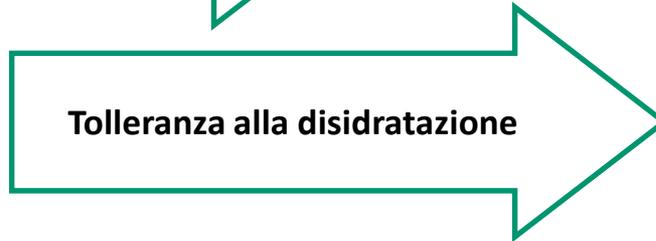
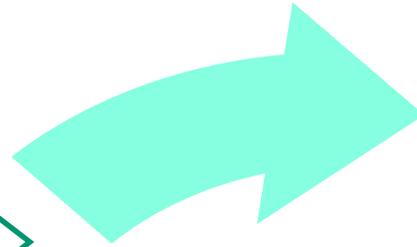
# Regolazione della maturazione dei semi



**Sviluppo embrionale**

**Accumulo di riserve**

**Tolleranza alla disidratazione**



## L'ABA promuove l'accumulo di sostanze di riserva e la tolleranza alla disidratazione

I livelli di ABA si innalzano nella parte finale dell'embriogenesi, sono alti durante la maturazione e l'acquisizione della tolleranza alla disidratazione (e nella quiescenza ed eventuale dormienza) per poi abbassarsi nel seme maturo

