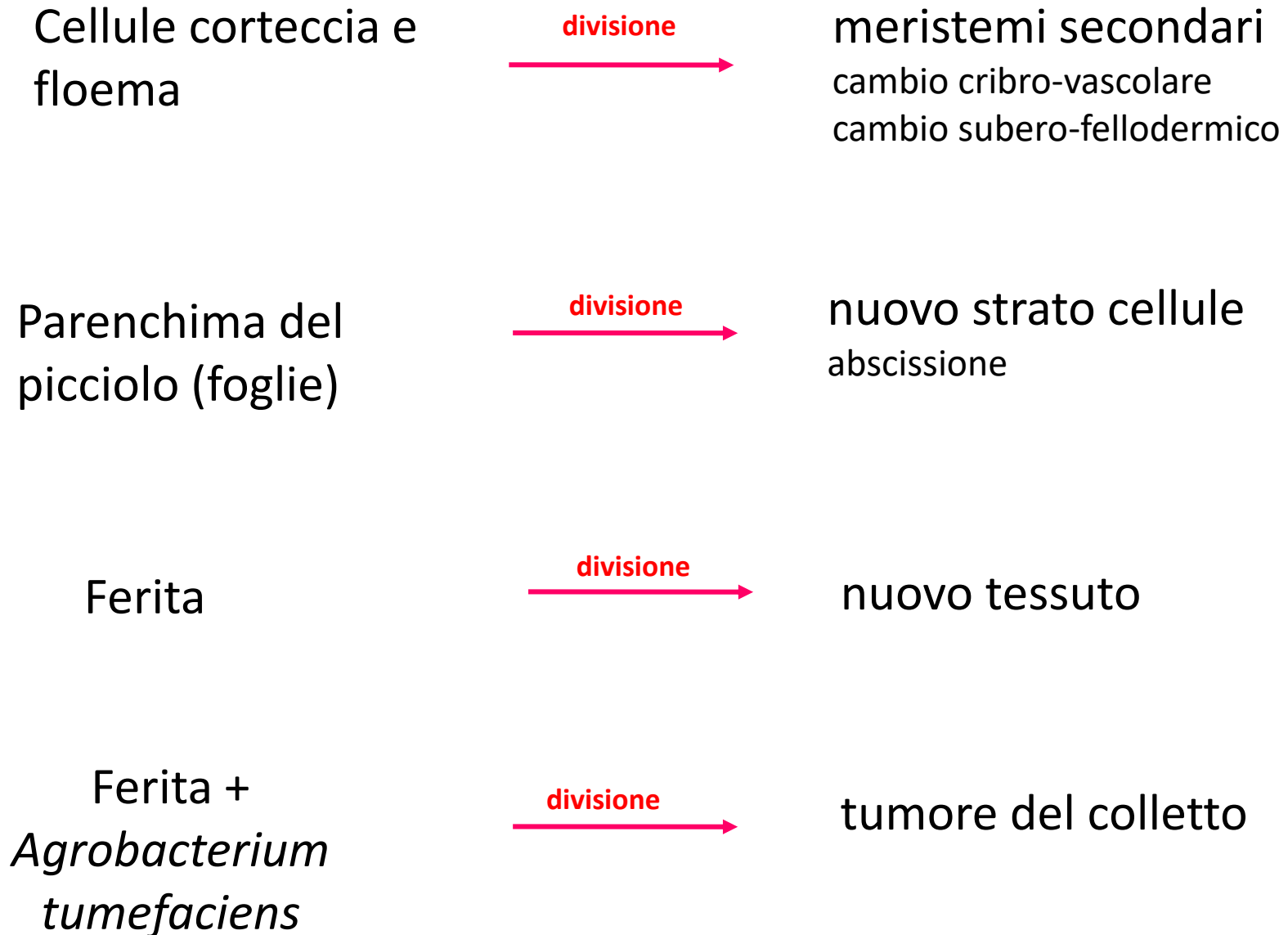
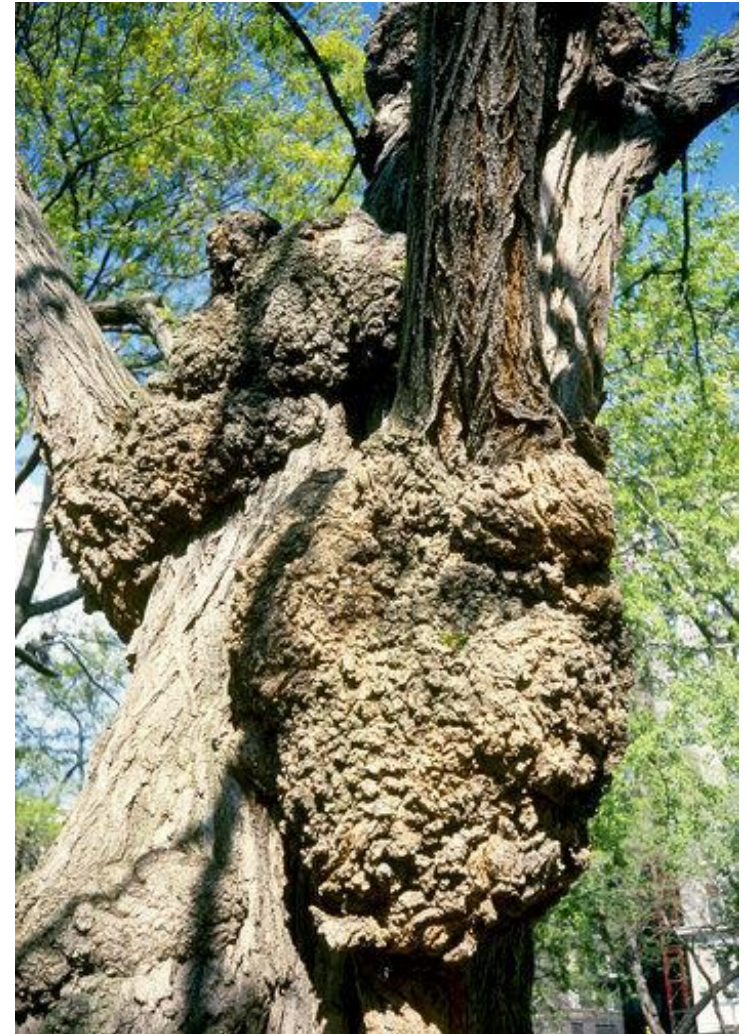


LE CITOCHININE

Scoperte nel corso di studi per identificare
sostanze in grado di stimolare le divisioni cellulari

Cellule già differenziate possono acquisire nuovamente la capacità di dividersi:





Esistenza di un segnale chimico (ormone) che induce le divisioni cellulari

Studi sulla coltivazione di organi e tessuti vegetali

1930 White

Tessuti da radici di pomodoro  crescono in terreno minimo (saccarosio + sali)

Tessuti da fusti  non crescono, anche in presenza di auxina

Quando un fusto radica  cresce anche il germoglio

Quindi...

un fattore prodotto dalla radice regola la crescita del fusto

Ricerca di sostanze in grado di stimolare la
proliferazione cellulare

Mezzo di White: auxina + 30% latte di cocco



Efficace su molti tessuti:
formazione di calli

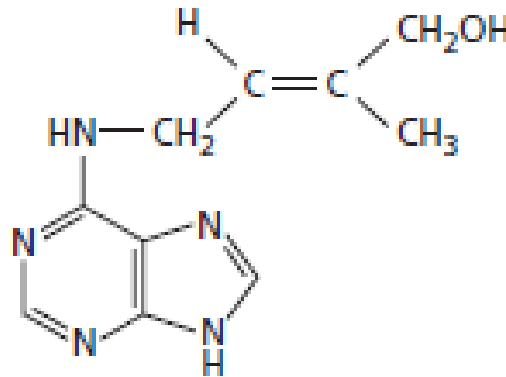
Scoperta nel 1974 la presenza di una citochinina (zeatina) nel latte di cocco
(endosperma liquido della noce di cocco)

Nel 1973 identificata nell'endosperma di mais (*Zea mays*) la prima citochinina naturale : **Zeatina** (derivato dell'adenina, con catena laterale isoprenica)

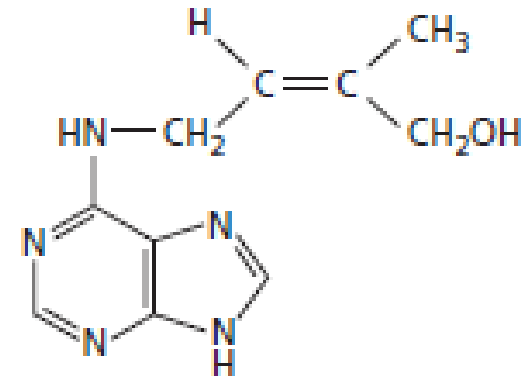
Configurazione
cis/trans

Inerconvertite
dalla Zeatina isomerasi

Ruolo biologico certo per
la forma trans



trans-zeatina

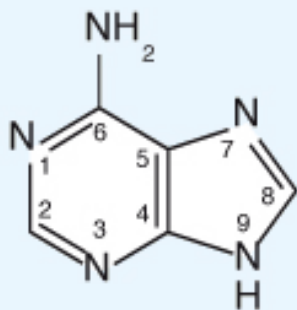


cis-zeatina

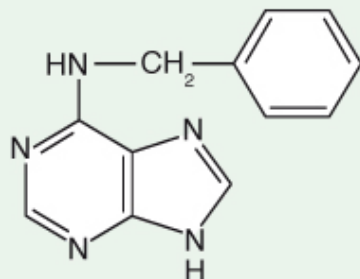
6-(4-Ildrossi-3-metilbut-2-enilammino)purina

La zeatina è la citochinina principale nelle piante superiori ma altre citochinine sono state isolate da piante e batteri

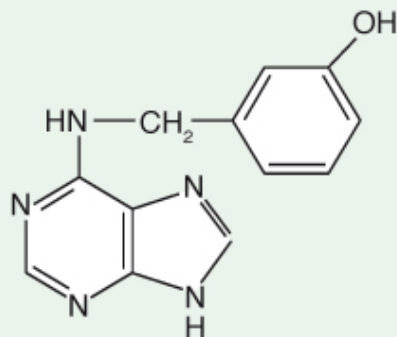
Adenina



Citochinine aromatiche

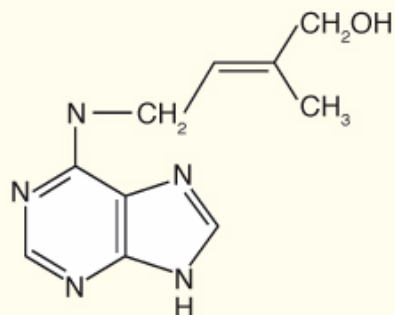


Benziladenina
(BA)

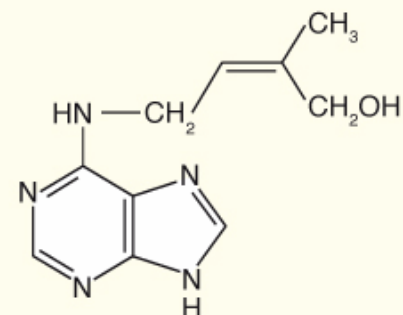


meta-topolina
(mT)

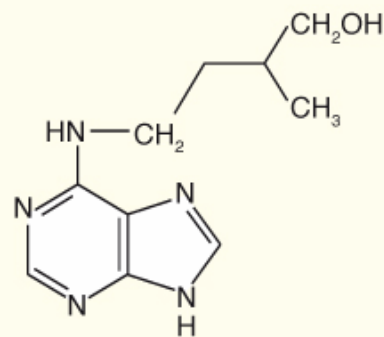
Citochinine isoprenoidi



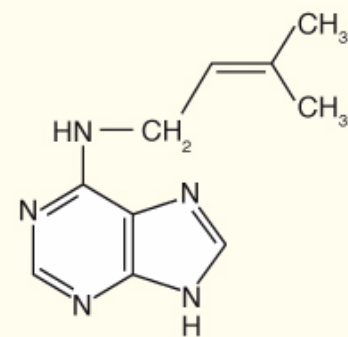
Trans-zeatina
(tZ)



Cis-zeatina
(cZ)



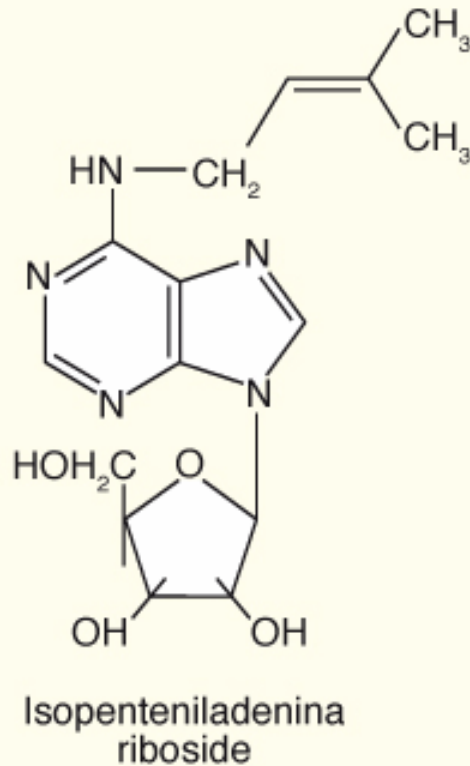
Diidrozeatina
(DZ)



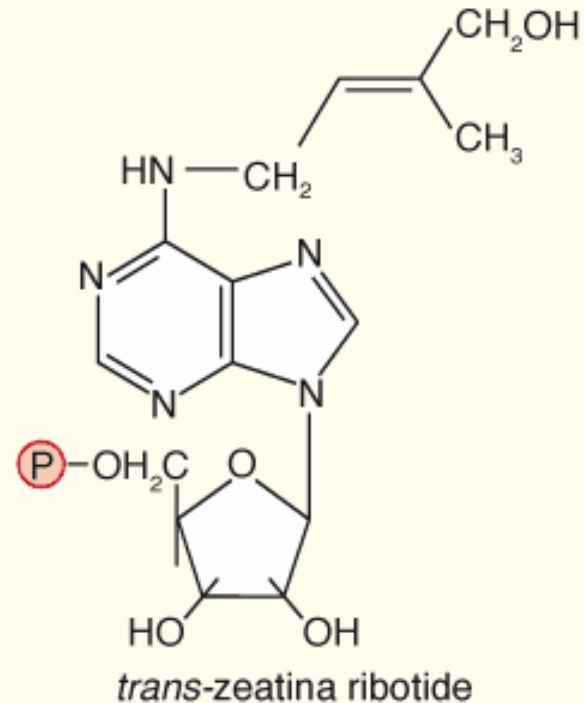
Isopenteniladenina
(iP)

Le citochinine esistono anche in forma coniugata (inattive)

Ribosidi

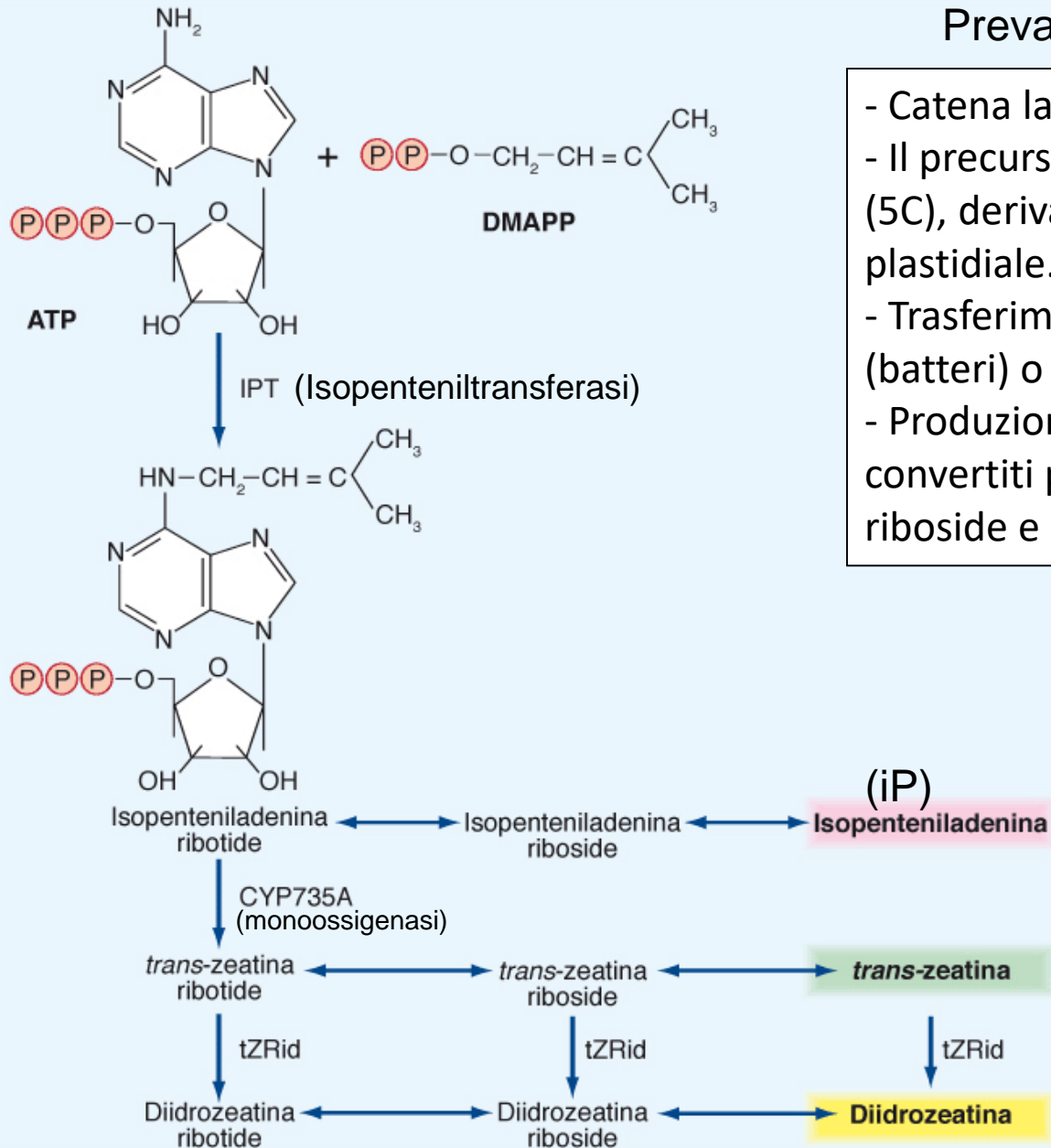


Ribotidi



Sono forme di riserva/trasporto dell'ormone,
ma le forme biologicamente attive sono le basi libere

BIOSINTESI DELLE CITOCHININE ISOPRENOIDI



Prevalentemente nei plastidi

- Catena laterale derivata da isoprene
- Il precursore è il dimetil-allil-difosfato (5C), derivato da via biosintetica plastidiale.
- Trasferimento unità isoprenica su AMP (batteri) o ATP/ADP (piante)
- Produzione di isopentenil-ribotidi, convertiti poi a zeatina-ribotide, zeatina riboside e infine nella forma libera

Il passaggio chiave della via biosintetica è catalizzato da

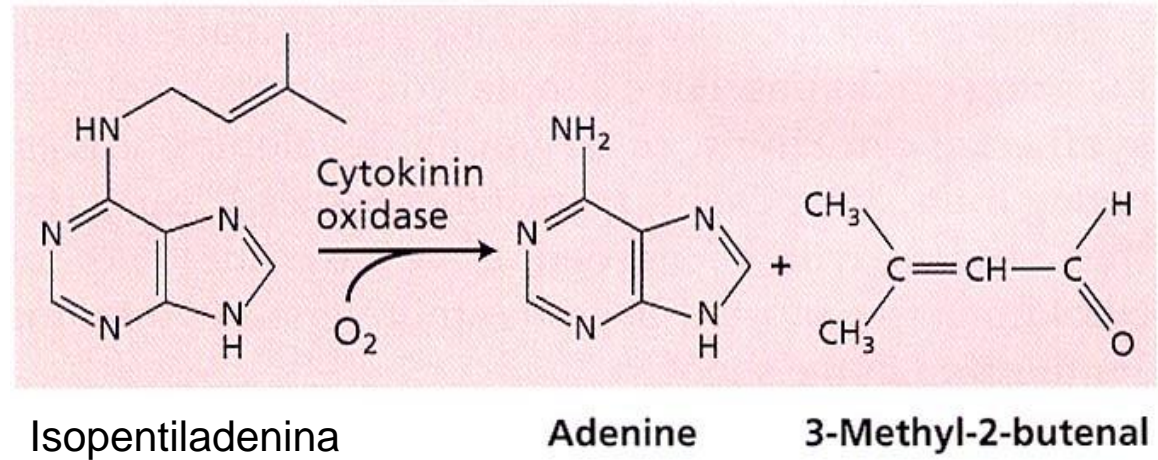
IPT: Isopentenil transferasi
(citochinina sintasi)



La sintesi delle citochinine avviene principalmente nella radice

Inattivazione delle citochinine

Irreversibile
(catabolismo):

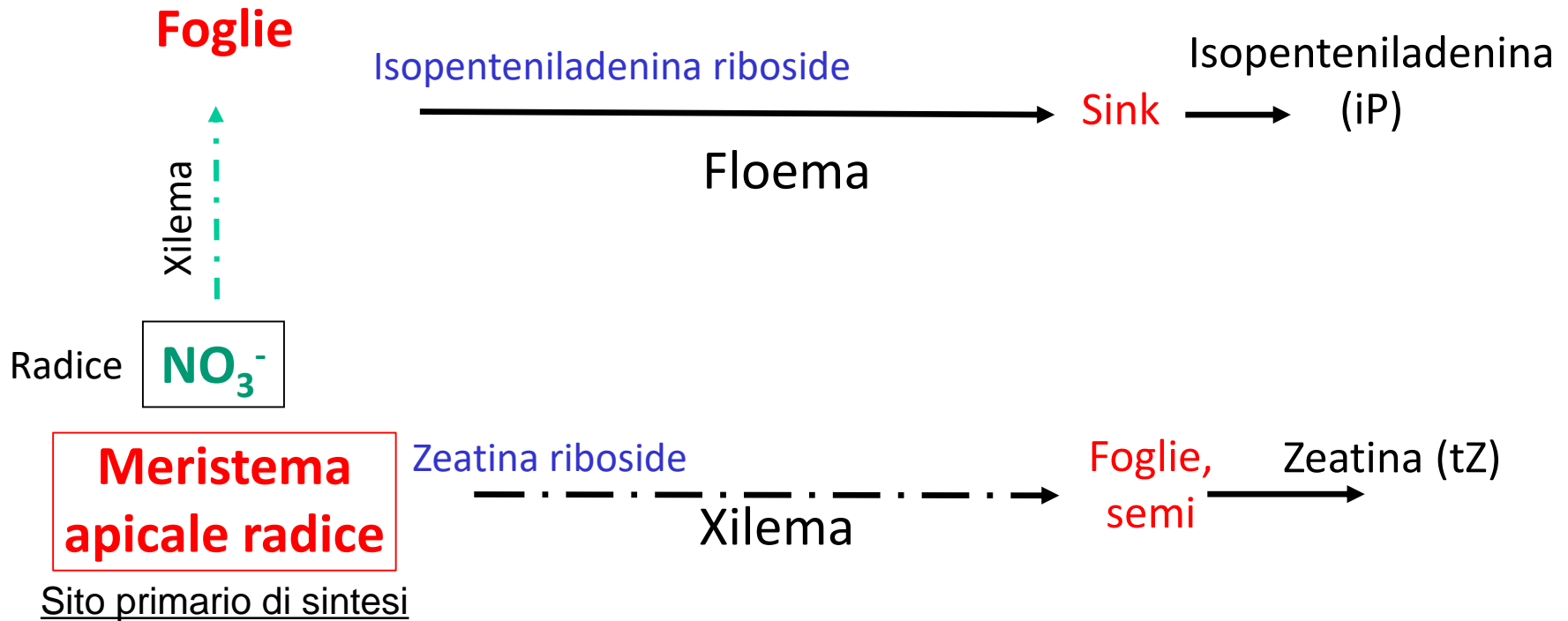


Reversibile:

Per glucosilazione (coniugazione con zuccheri) su N³ o su OH della catena laterale

Enzima: Glicosiltransferasi

Trasporto delle citochinine: sono caricate e trasportate nello xilema (tZ) e nel floema (iP)



NO₃⁻ :

nelle radici stimola sintesi di tZ-riboside -> caricamento nello xilema

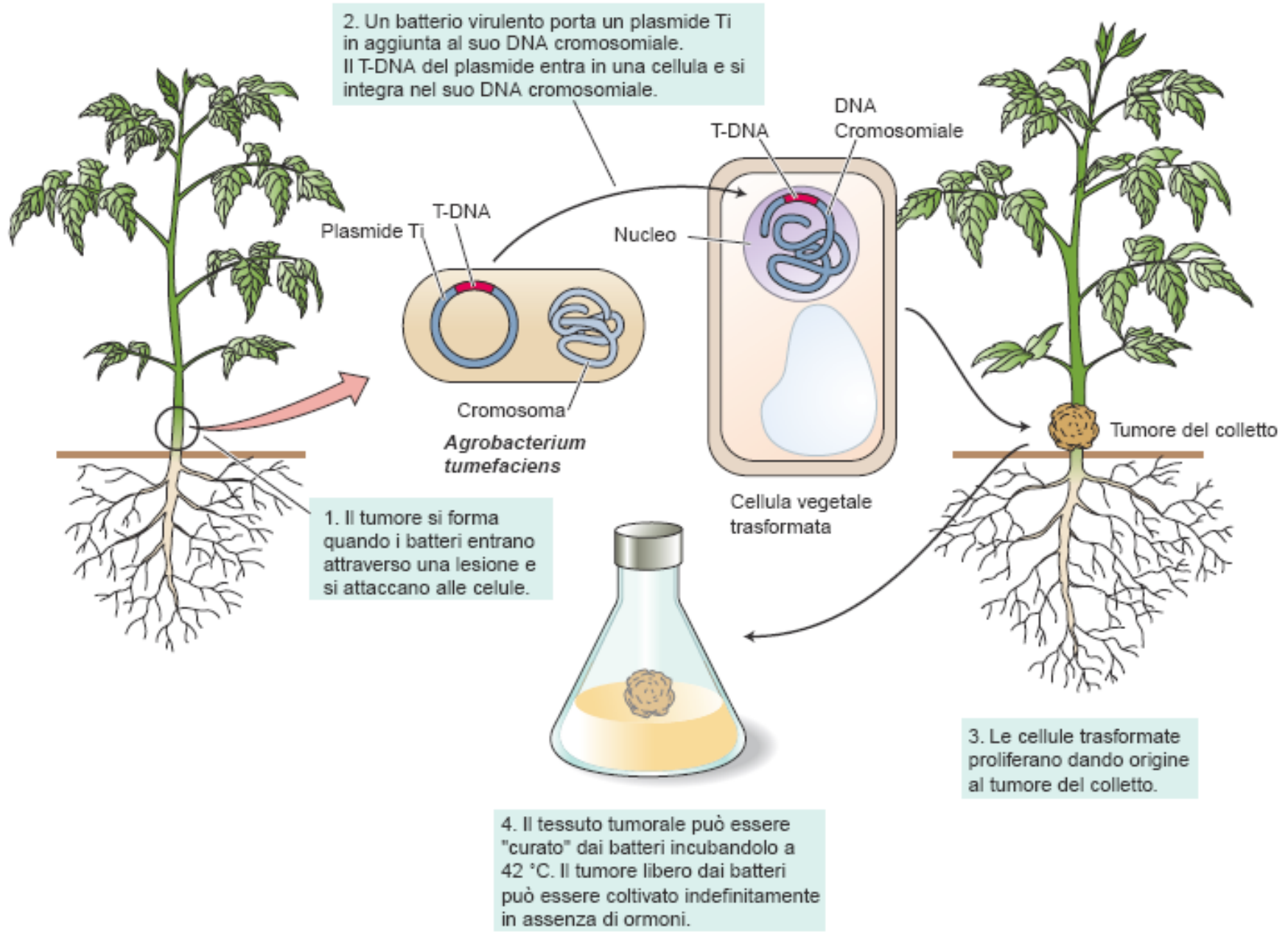
Nelle foglie stimola sintesi di iP-riboside -> caricamento nel floema

Citochinine -> Regolazione della crescita e sviluppo della pianta tramite segnalazione a lunga distanza dello **stato di nutrizione azotata**

Tumore del colletto: causato da infezioni di *Agrobacterium tumefaciens*

Il tessuto infettato prolifera e produce una massa di cellule indifferenziate (callo)





2. Un batterio virulento porta un plasmide Ti in aggiunta al suo DNA cromosomiale. Il T-DNA del plasmide entra in una cellula e si integra nel suo DNA cromosomiale.

1. Il tumore si forma quando i batteri entrano attraverso una lesione e si attaccano alle cellule.

3. Le cellule trasformate proliferano dando origine al tumore del colletto.

4. Il tessuto tumorale può essere "curato" dai batteri incubandolo a 42 °C. Il tumore libero dai batteri può essere coltivato indefinitamente in assenza di ormoni.

Espianti di tessuto tumorale in coltura proliferano senza aggiunta di ormoni al mezzo di coltura

Nel mezzo si ritrovano notevoli quantità di auxine e citochinine

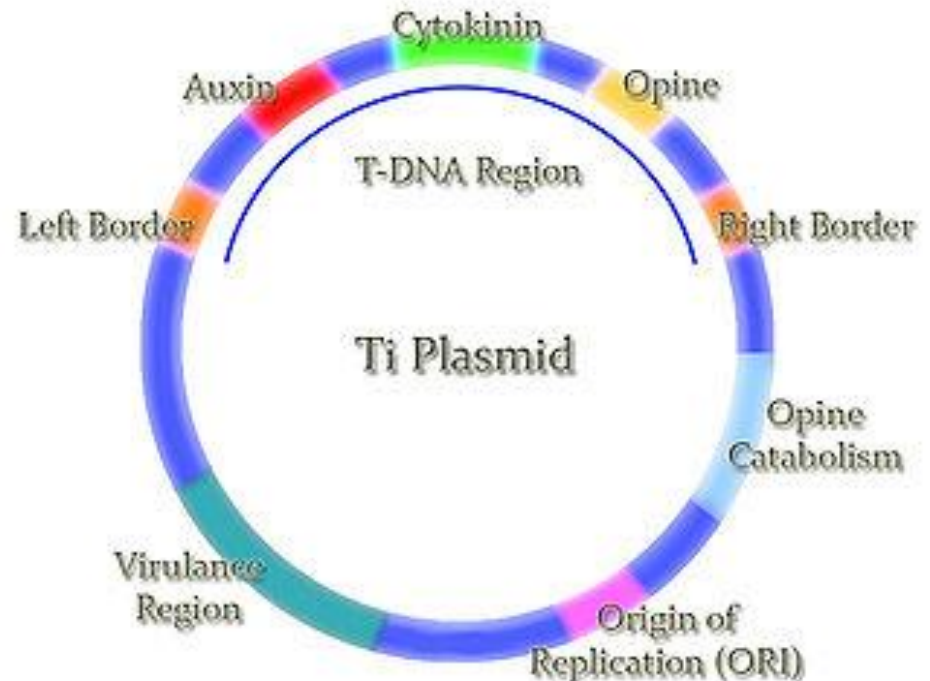
Agrobacterium trasferisce nel genoma della pianta il **T-DNA** contenuto nel **plasmide Ti**

T-DNA:

**Gene Ipt (Isopenteniltransferasi)
batterico**

2 geni sintesi IAA

Gene sintesi opina



Effetti delle citochinine su accrescimento e sviluppo

1- Regolano la divisione cellulare

2- Regolano la dominanza apicale

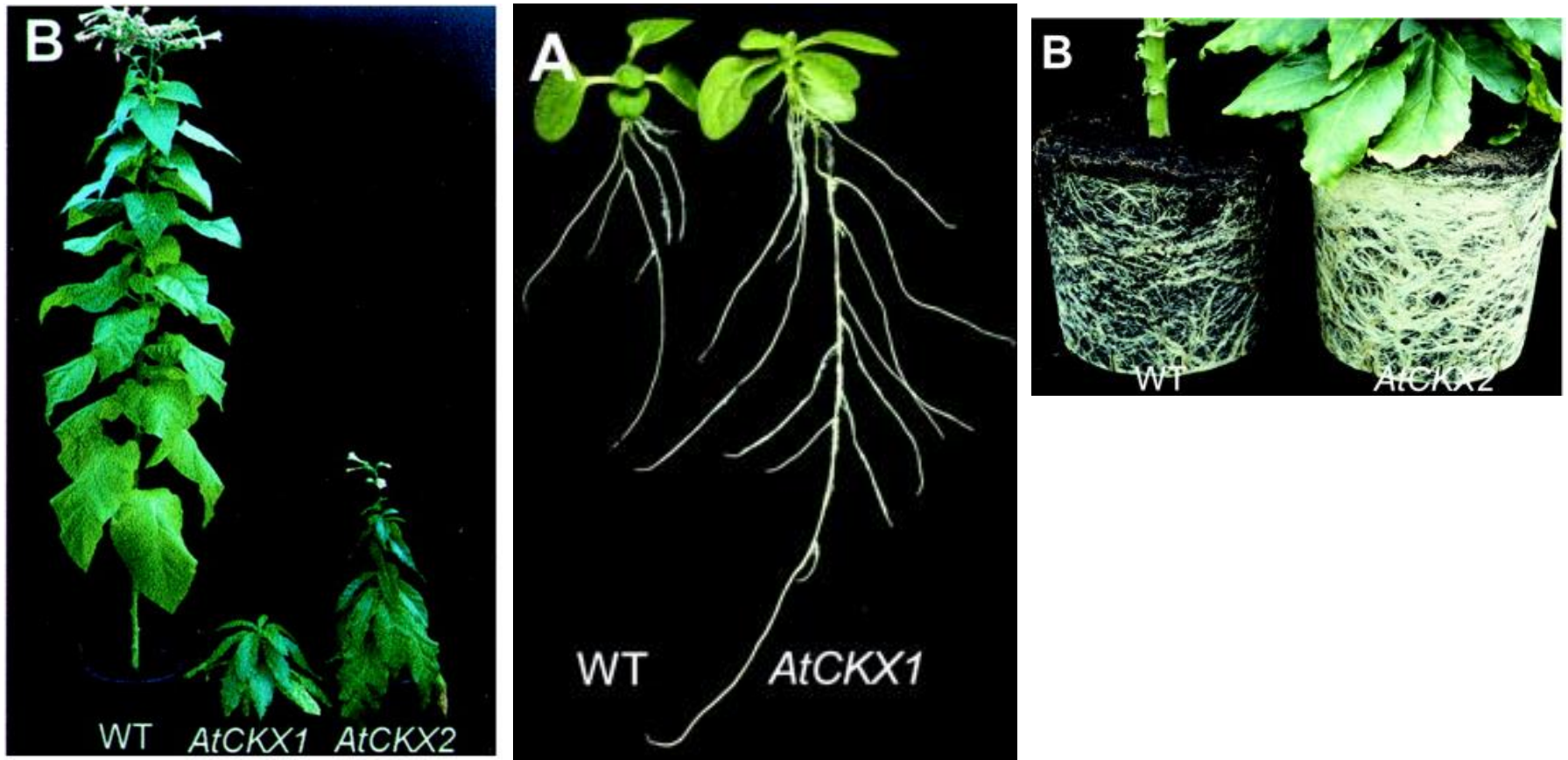
3- Ritardano la senescenza fogliare

4- Promuovono il movimento di nutrienti

5- Promuovono la differenziazione dei cloroplasti

1- Regolazione della divisione cellulare

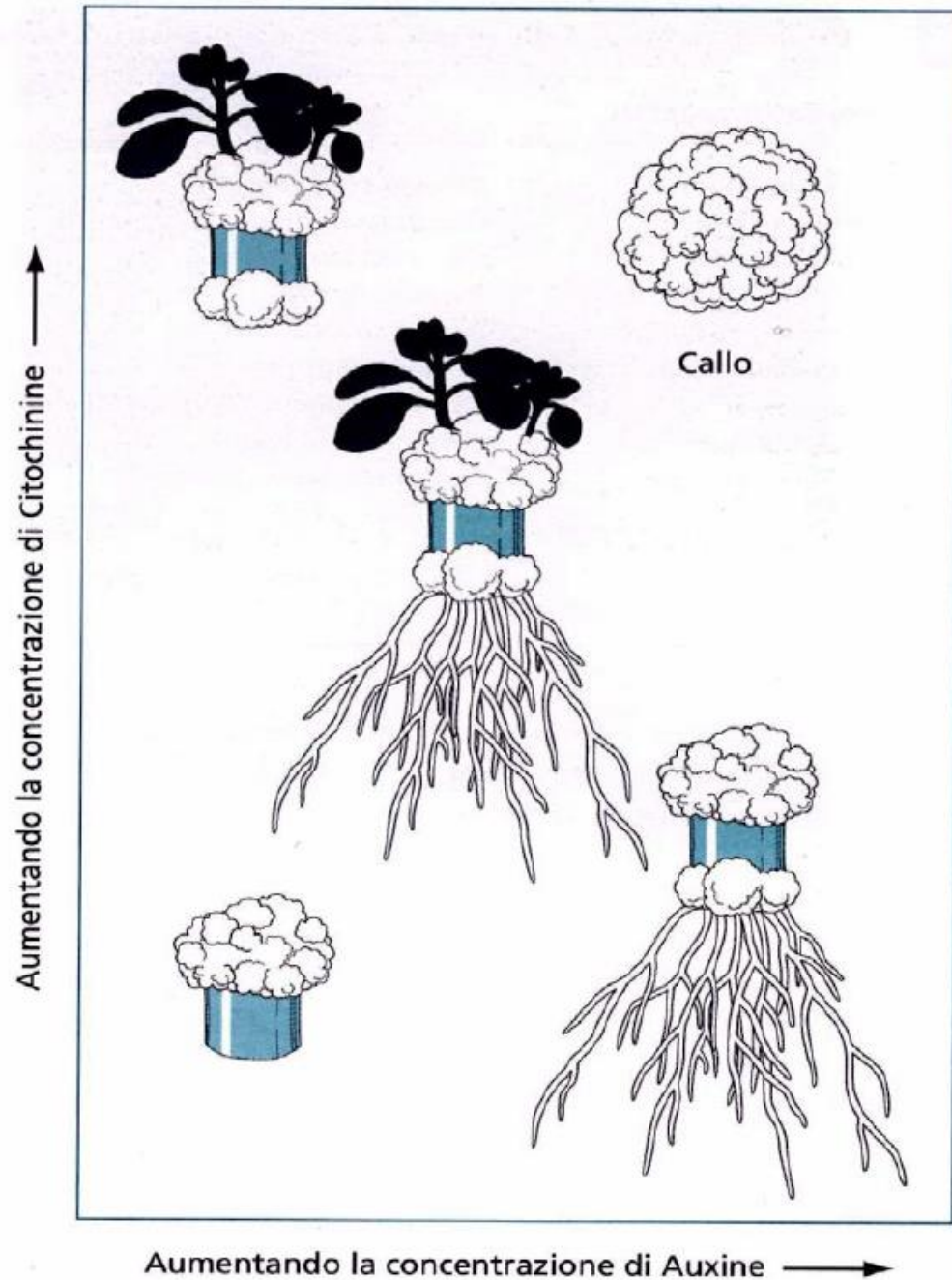
Piante che sovraesprimono il gene della Citochinina ossidasi hanno uno sviluppo ridotto del germoglio e un'aumentata crescita delle radici laterali



Le citochinine stimolano la crescita del germoglio (stimolazione divisioni cellulari meristema apicale) ma **reprimono la crescita della radice** (stimolazione differenziamento tessuto vascolare e riduzione dimensioni meristema, meno radici).

Il rapporto auxina/citochinina regola la morfogenesi di tessuti in coltura

(anche lo stato nutritivo di una pianta regola i livelli di citochinine: il rapporto auxina:citochinina regola anche il tasso di crescita relativo di radice e germoglio)



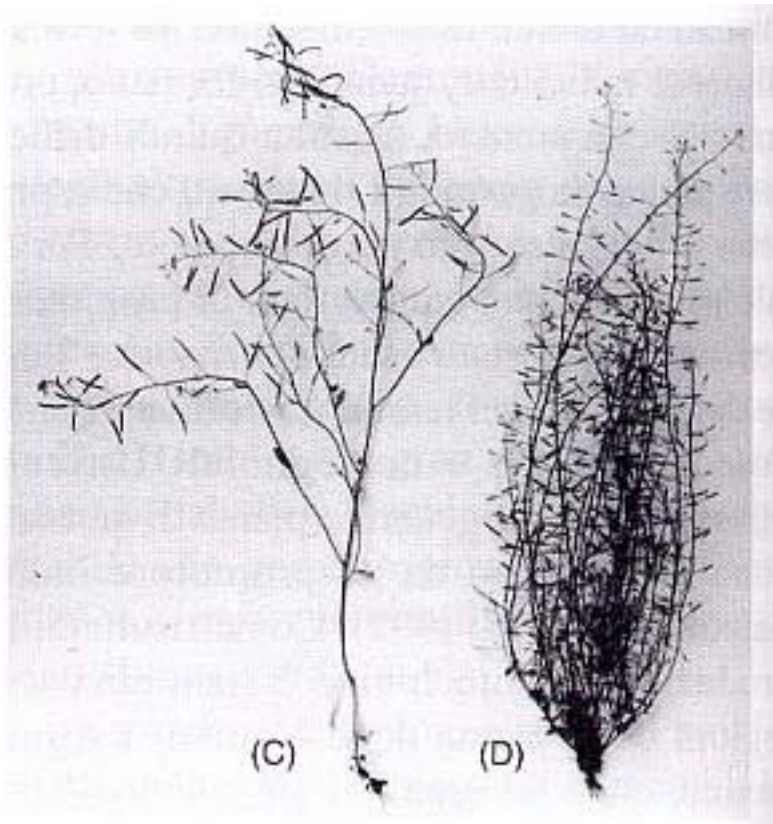
Pianta trasformata con isopenteniltransferasi (ipt) batterica

- gli apici generano più foglie
- più clorofilla
- ritardata senescenza
- ridotta capacità di produrre radici avventizie da fusti recisi
- **ridotta dominanza apicale**

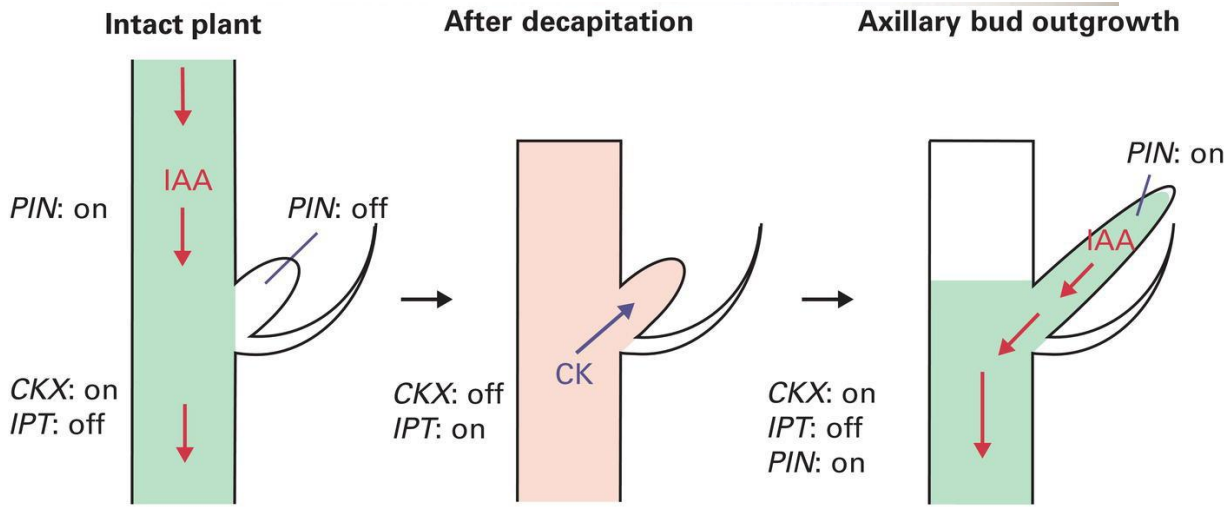
2- Ridotta dominanza apicale:

le citochinine promuovono la crescita delle gemme laterali,
in antagonismo all'auxina

Piante che sovraproducono citochinine
hanno una ridotta dominanza apicale



Abete infettato da *Rhodococcus fascians*

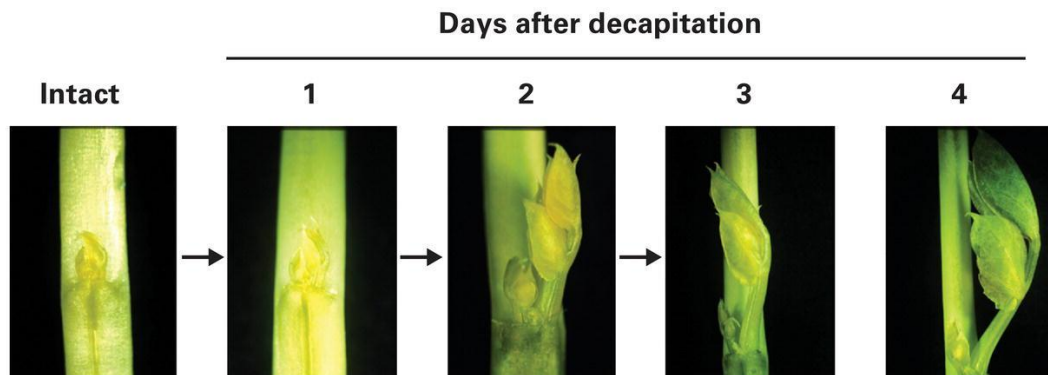


IAA prodotta da germoglio apicale

A livello del nodo reprime espressione di IPT e stimola espressione di CKX

IAA mantiene bassi i livelli di citochinine nelle gemme laterali

Rimozione germoglio, meno auxina nelle regioni nodali, aumento produzione citochinine, crescita gemma laterale



Removal of the apical meristem cuts off supply of auxin. *IPT* genes are activated and *CKX* (cytokinin oxidase) genes are turned off. Cytokinin moves into the adjacent bud.

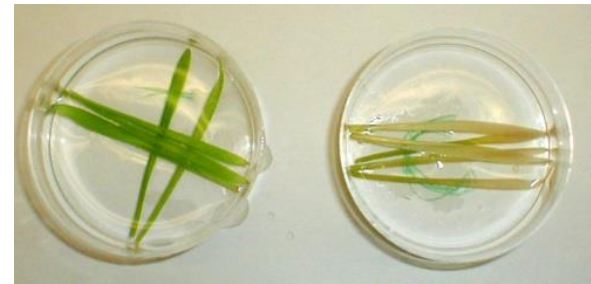
Cytokinin activates bud growth. The branch meristem starts producing auxin.

Nota: nei primi modelli si ipotizzava che l'auxina bloccasse la sintesi di citochinine solo a livello radicale; recente dimostrazione della sintesi di citochinine anche nelle regioni nodali.

3- Le citochinine ritardano la senescenza fogliare

Applicazione citochinine \longrightarrow ritardo senescenza:

- Aumento attività di enzimi antiossidanti (catalasi, perossidasi)
- Aumento influsso di nutrienti e fotosintati nella foglia e funzionalità dei cloroplasti



ipt C

\longleftarrow Piante trasformate con un «gene chimerico» (Gene ipt + gene promotore senescenza-specifico):
Blocco della senescenza

«Isole verdi»:



Prolungata durata delle colture

Gene promotore della senescenza (SAG12) + gene IPT

Sintesi di citochinine blocca la senescenza

Piante di lattuga che esprimono il gene *ipt* al momento della senescenza

Piante di lattuga di controllo



Figura 21.25 La senescenza fogliare è ritardata in piante transgeniche di lattuga che esprimono il gene per la biosintesi della citochinina *ipt* al tempo della senescenza. Le piante azigotiche (le cinque piante in alto) mancano del transgene; le piante *SAG12-IPT* (le cinque piante di sotto) utilizzano un gene promotore "associato alla senescenza" (*SAG12*) per guidare l'espressione di *ipt* all'inizio della senescenza. (Da McCabe *et al.* 2001).

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

➤ **1950** (USA, GB) Struttura chimica del
principio attivo: acido gibberellico (GA_3)

➤ **1950** (Giappone): isolate e
caratterizzate GA_1 , GA_2 , GA_3

➤ **1958** Identificazione e purificazione
nelle piante (GA_1) (in semi di fagiolo
immaturi)



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

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

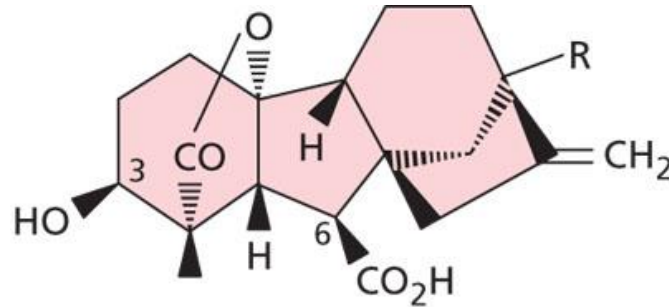
NOMENCLATURA: GA_x, a seconda dell'ordine cronologico della scoperta

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

STRUTTURA BASE DELLE GIBBERELLINE

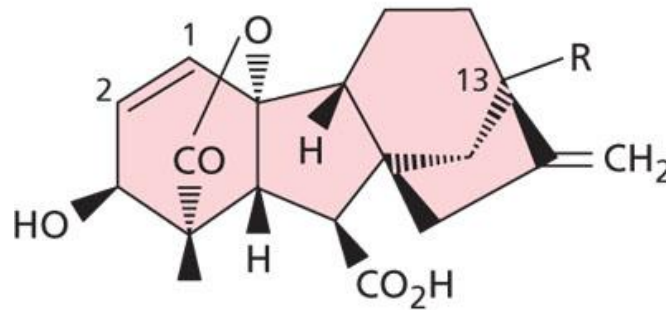
Diterpeni tetraciclici, 4 unità isoprenoidi, 20 o 19 C



Firme bioattive (> affinità per il recettore):

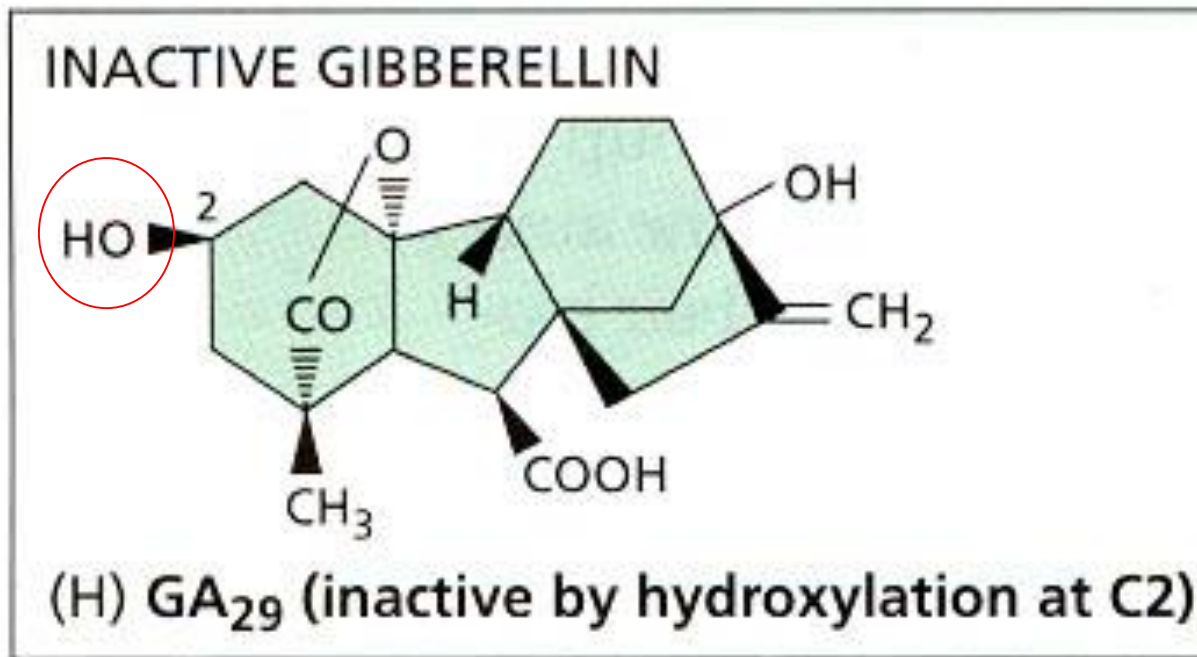
- COOH sul C6
- OH sul C3

DIFFERENZE NEL NUMERO E NELLA POSIZIONE DI -OH



Le più attive (v. figura) contengono 19 C

**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 GA₁ e GA₄

Altre GA attive:

GA₃, GA₇, GA₉

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

Es. semi in sviluppo, giovani tessuti di germoglio e radice

Precursore è GGPP (prime tappe nel plastidio: formazione di ent-kaurene)

Forme inattive (riserva): forme coniugate con glucosio

Effetti delle gibberelline su accrescimento e sviluppo

- 1- **Stimolano l'accrescimento in lunghezza della pianta**
(allungamento internodi= *bolting*)
- 2- **Regolano la transizione dalla fase giovanile alla fase adulta**
- 3- **Promuovono fruttificazione e partenocarpia**
- 4- **Promuovono lo sviluppo e la germinazione del seme**
- 5 - Sostituiscono il segnale fotoperiodico (giorno lungo) nelle specie longidiurne (Es.: induzione della fioritura, dormienza..)
- 6- **Influiscono sulla formazione dei fiori**

Effetto GA_3 sulla crescita dello stelo florale del cavolo



1- Stimolano l'accrescimento in lunghezza della pianta

Effetto di GA₁ esogena su mais nano



Mutante nano

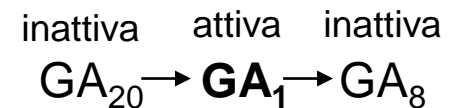
normale

Effetto della GA attiva (GA₁) endogena (es. su piante di pisello):

La lunghezza del fusto è direttamente correlata alla quantità di GA attiva (es. GA₁) endogena

Le piante wild tipe possiedono **gli enzimi di degradazione (idrossilasi) delle GA₁**

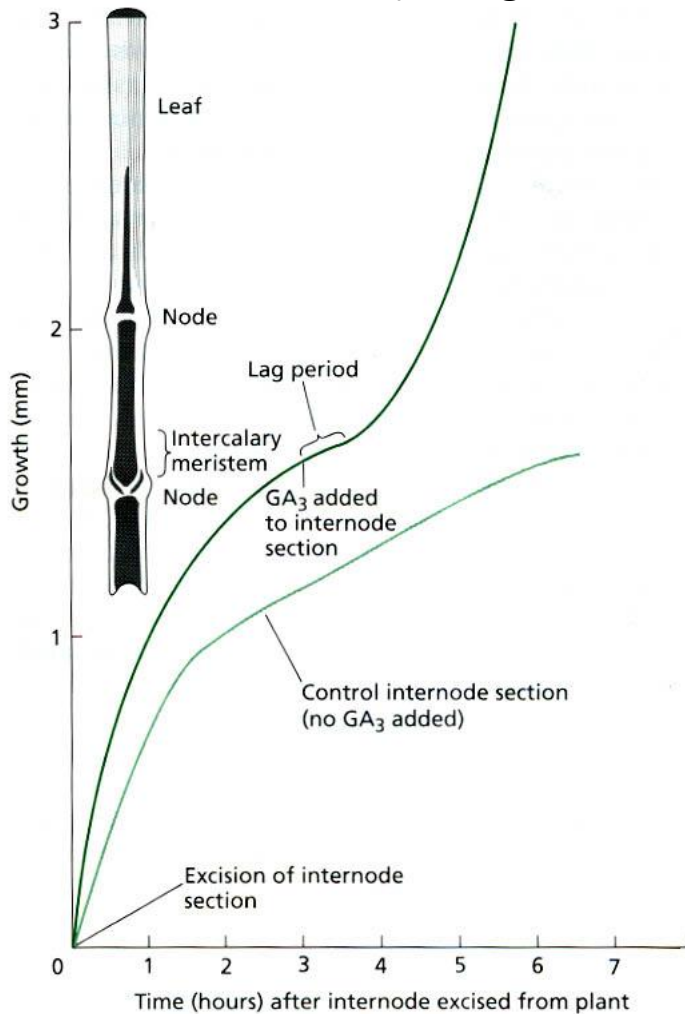
Crescita eccessiva se mancano gli enzimi di degradazione delle GA₁ (esperimento su mutanti *slender*)



GA₂₀ è precursore inattivo di GA₁

PROMOZIONE CRESCITA DEL FUSTO

(allungamento internodo superiore del riso)



Meristema intercalare del riso

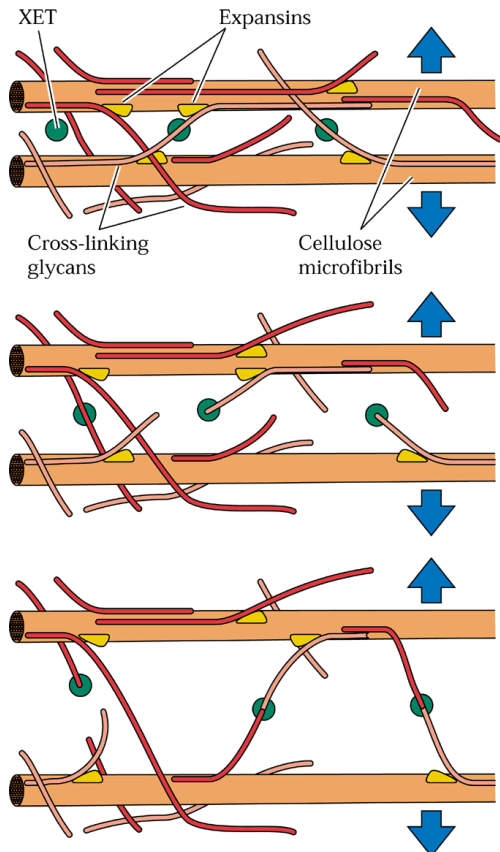
- Aumento estensibilità parete cellulare
- No acidificazione apoplasto
- Lag time da 40 min a 3 ore
- Effetto additivo con IAA (e nessun effetto se manca IAA)

=> meccanismo d'azione diverso da quello di IAA!

Le GA stimolano sia l'espansione che la divisione cellulare

Azione delle GA sulla distensione cellulare (diversa da quella dell'auxina):

- aumento dei livelli di XET (xiloglucano endotransglicosidasi)
- aumento dei livelli di espansine



= aumento dell'estensibilità della parete cellulare

2- 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*

3 - 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 (es. In specie dove le auxine non hanno effetto, es. *Vitis*).

Uva Thompson senza semi

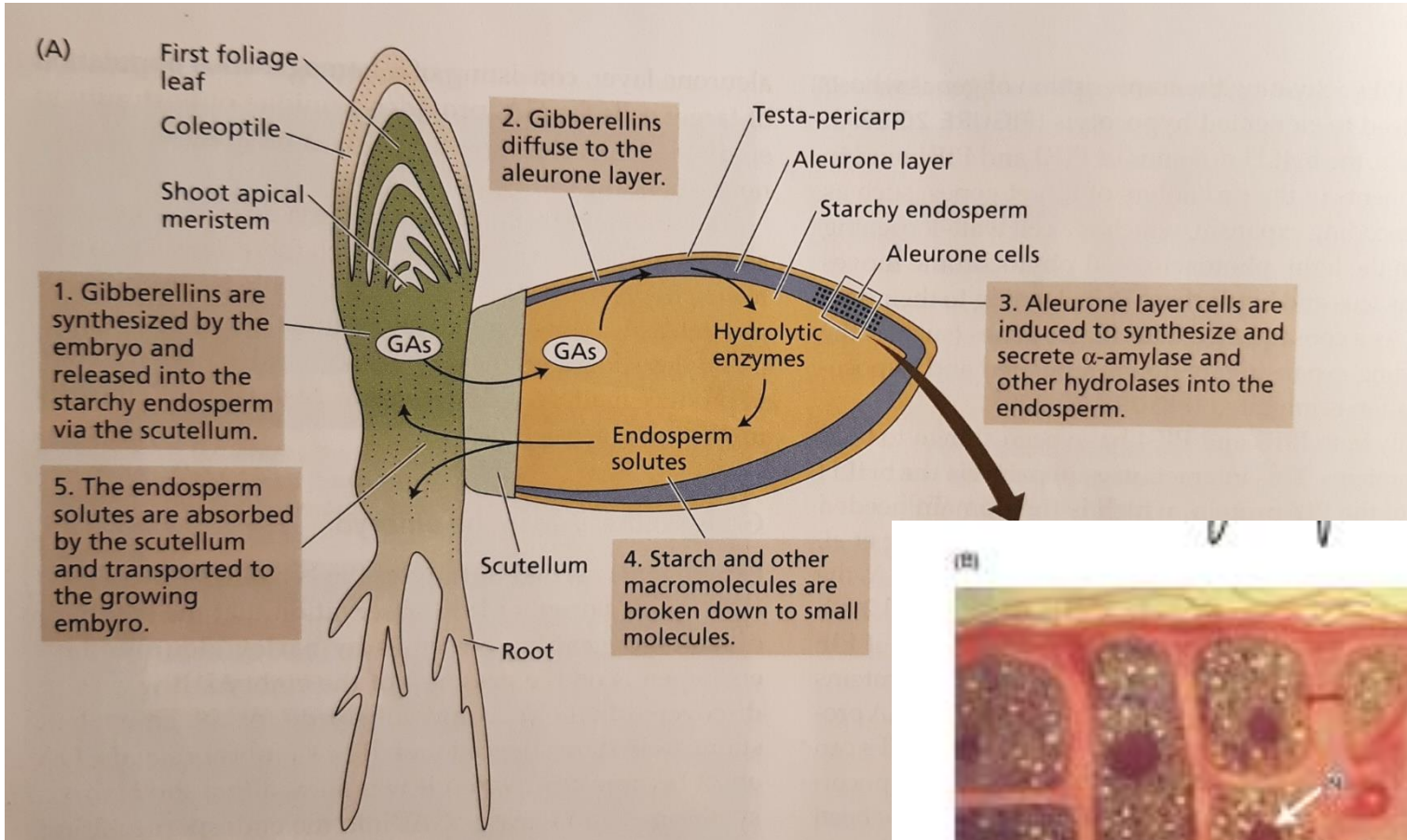
4- Promuovono lo sviluppo e la germinazione dei semi (interruzione della dormienza)

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 sintesi *de novo* di **α -amilasi**, e l'attivazione delle **β -amilasi** per la degradazione dell'amido dell'endosperma

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



APPLICAZIONI COMMERCIALI delle GA

GA₃:

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

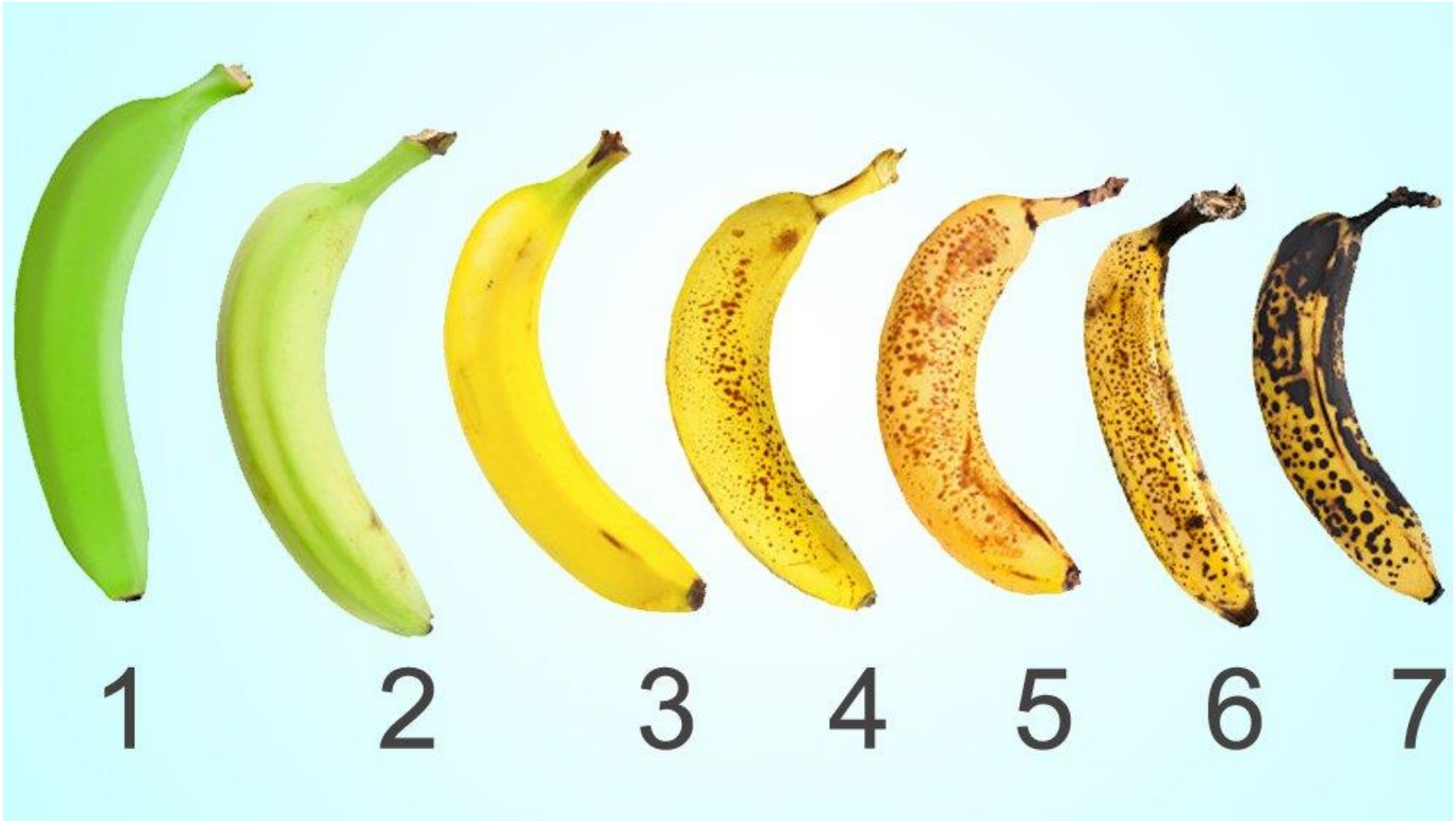


Ritardanti della crescita (antigibberelline)

- Allevamento piante ornamentali (conifere, chiome più compatte)
- Cereali : minori allettamento e crescita vegetativa (>produttività, rese)

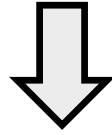


ETILENE



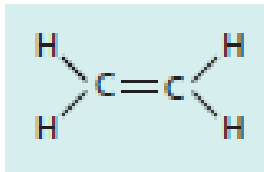
1800

Alberi in prossimità dei lampioni stradali



perdita foglie
sviluppo alterato

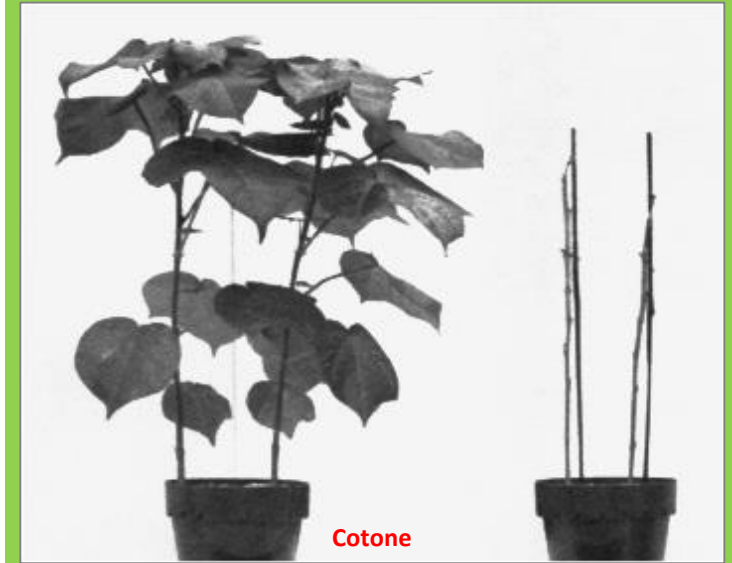
1901



Etilene

L'etilene è il gas
responsabile degli effetti

(risposta tripla)



Risposta tripla:

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

1910

Banane conservate insieme ad arance



maturazione
banane

1934

Riconoscimento dell'etilene come ormone vegetale

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

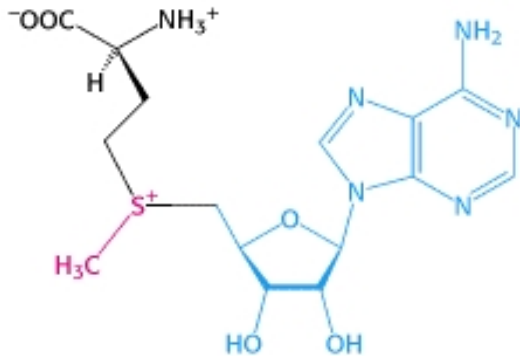
BIOSINTESI DELL'ETILENE

è prodotto da molti tessuti

Principali siti di sintesi

meristemi

regioni nodali



S-adenosil metionina (SAM)

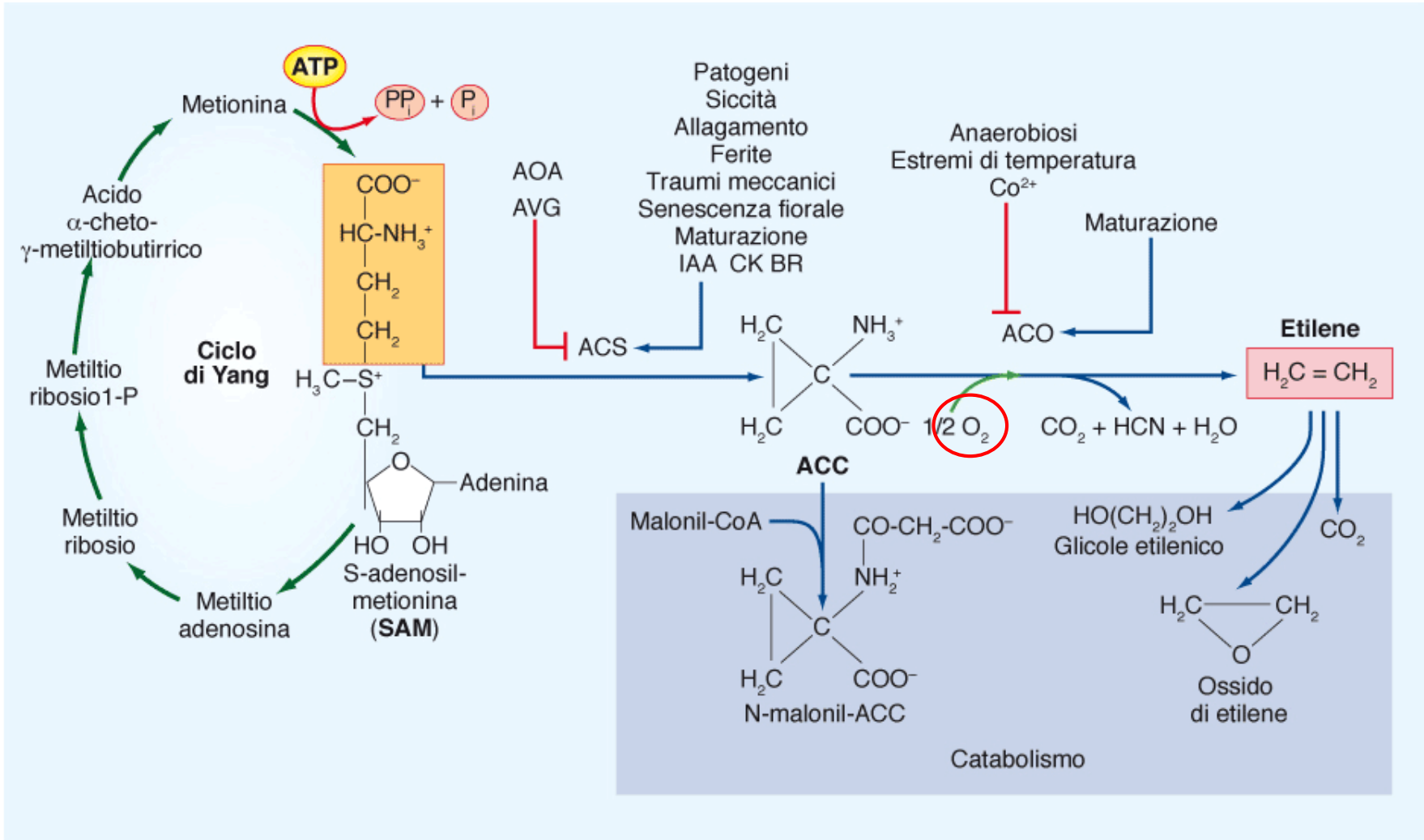


Figura 8.29 • Biosintesi e catabolismo dell'etilene. Nelle due reazioni della via di sintesi, che parte dalla SAM fornita dal ciclo di Yang (di cui si riportano solo i nomi dei metaboliti che lo compongono), sono indicati alcuni fattori che stimolano la sintesi di etilene (freccie) o che la inibiscono (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-malonyl-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

ACC ossidasi: ACC \longrightarrow etilene (richiede O₂)

Famiglia multigenica appartenente alla superfamiglia delle Fe²⁺ / ascorbato perossidasi

- incremento espressione durante maturazione dei frutti, senescenza dei fiori

**Traslocazione a distanza del segnale ormonale via xilema:
tramite ACC, ossidato poi ad etilene nel tessuto target**

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

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



Agente Orange

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

Effetti fisiologici dell'etilene

1- Regolazione della maturazione dei frutti

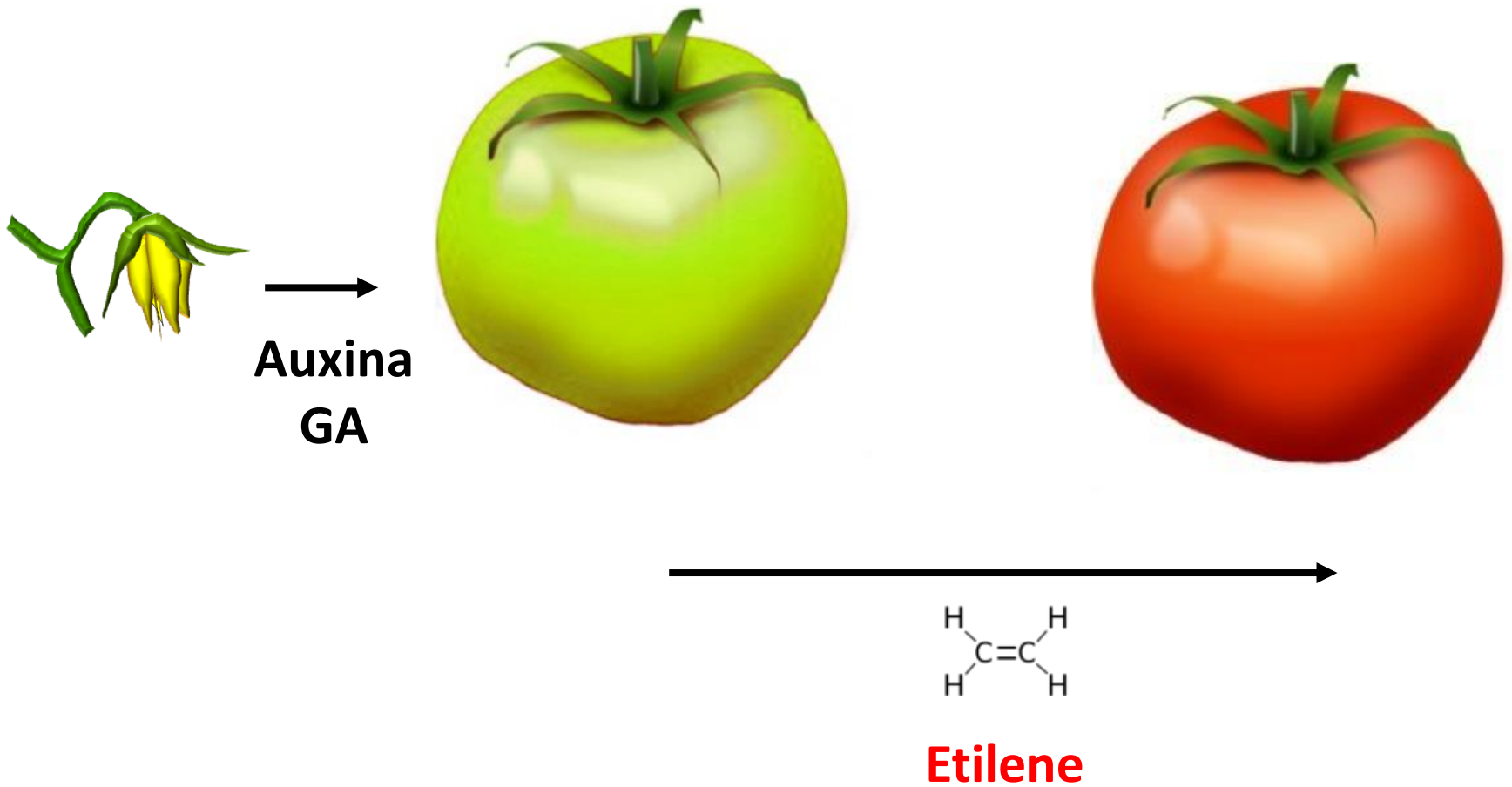
2- Induzione della risposta tripla

3- Regolazione della senescenza fiorale

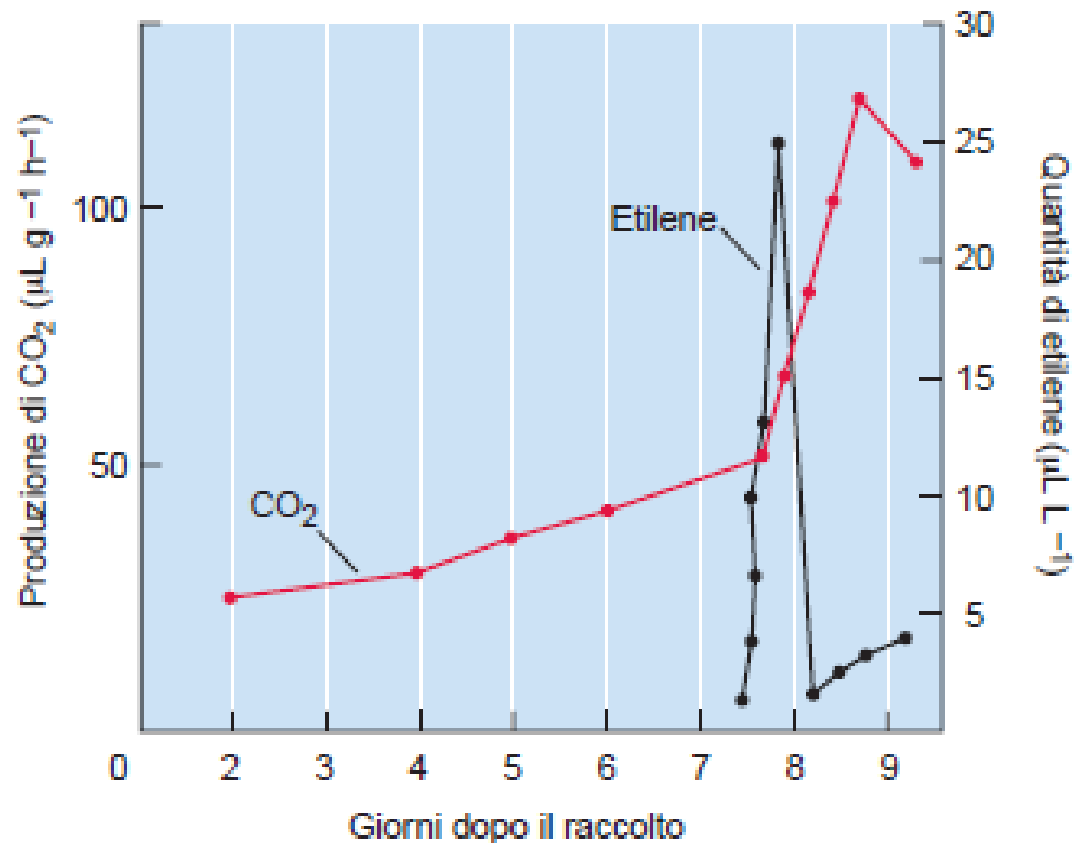
4- Regolazione della senescenza fogliare e abscissione

5- Induzione dell'accrescimento dei peli radicali

1- Regolazione della maturazione dei frutti



L'etilene promuove la maturazione dei frutti climaterici



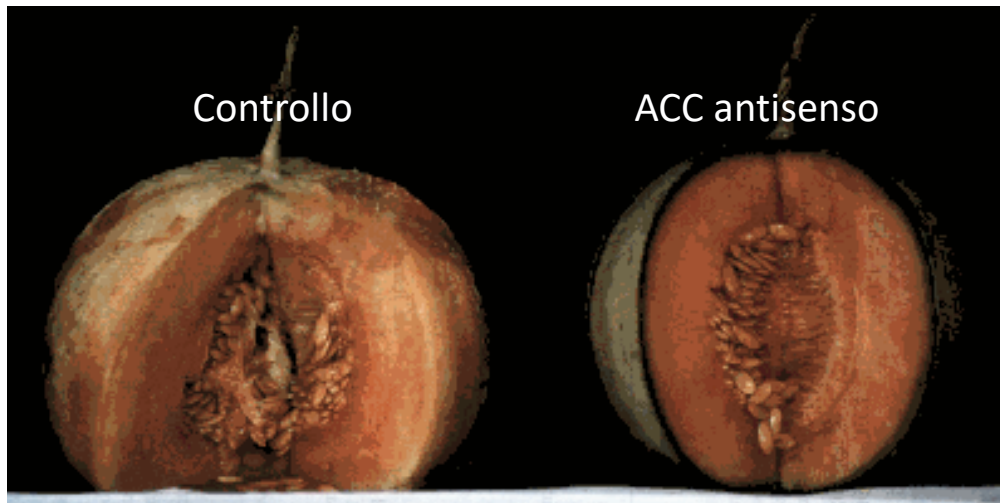
Banana: picco respiratorio (climaterio) che precede la maturazione
Sintesi di etilene precede il climaterio ed è stimolata per autocatalisi

TABELLA 22.1
Frutti climaterici e non climaterici

Climaterico	Non climaterico
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 (azione autocatalitica)

Il controllo molecolare della biosintesi dell'etilene può essere sfruttato a scopi commerciali (+ riduzione sprechi alimentari)

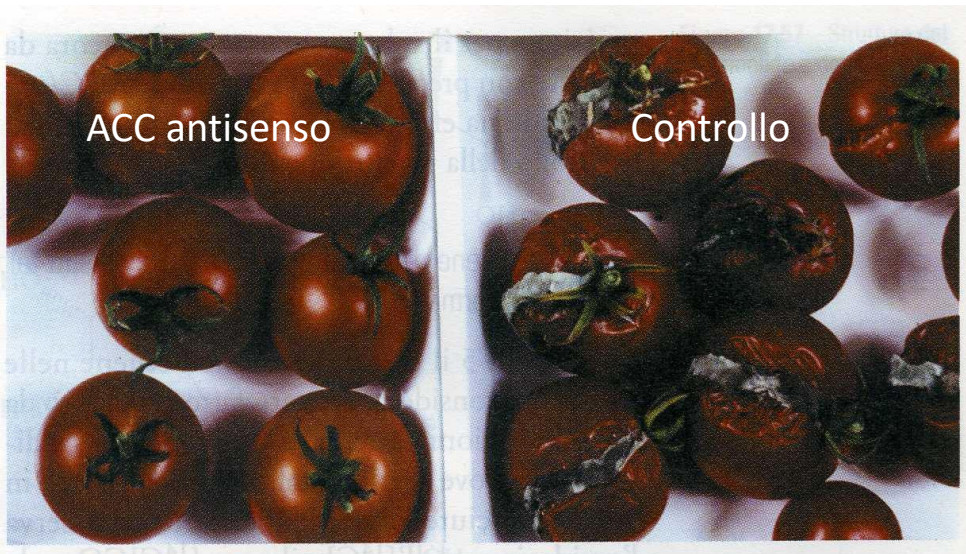


Melone e pomodoro

Costrutto antisenso per ACC sintasi

Ridotta produzione di etilene

Ipermaturazione bloccata o rallentata



3- 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, depigmentazione)
- Citochinine esogene ritardano la senescenza

4 - Senescenza fogliare, abscissione



Cotone

**Cotone
+ etilene**



Betulla wt

Betulla etr1

Recettori
non legano l'etilene

Formazione dello strato di abscissione

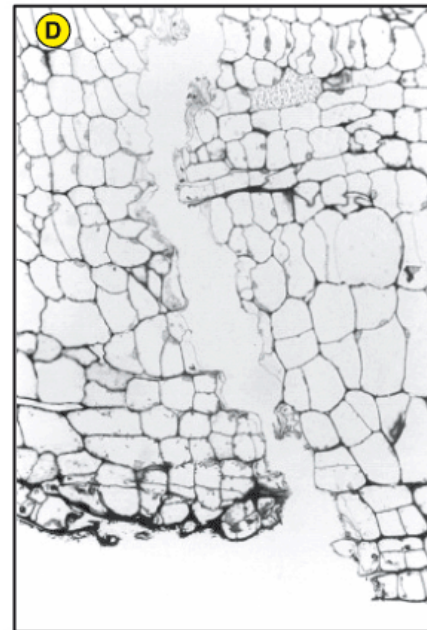
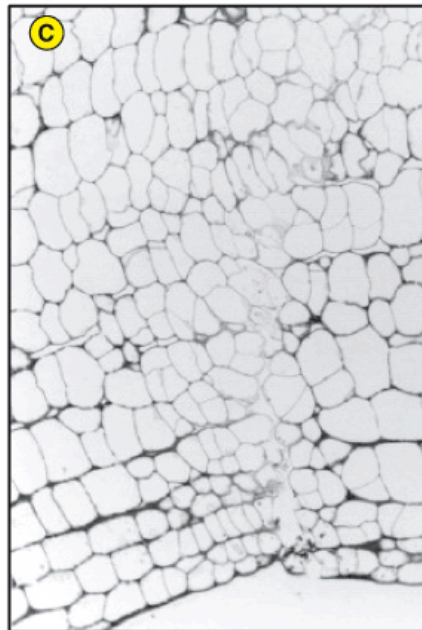
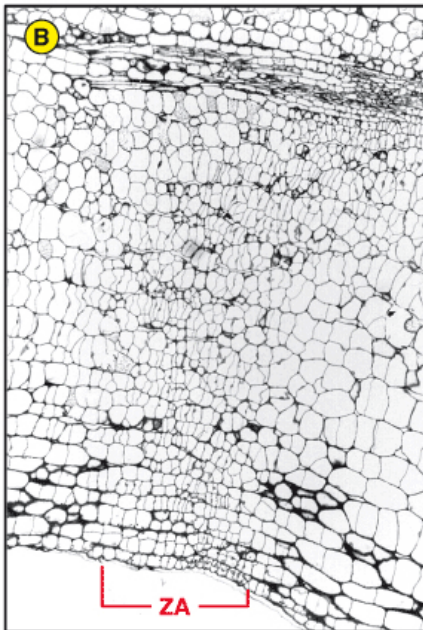
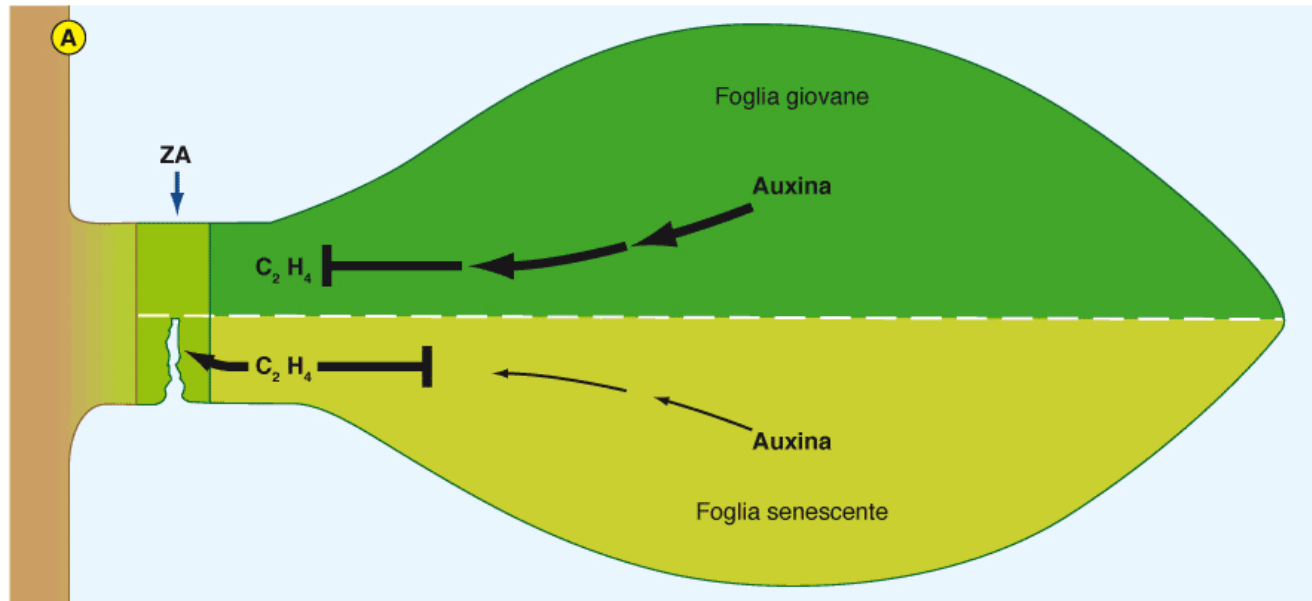
(A)



(B)



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



5 - Formazione di peli radicali

(D) Formazione di peli radicali



Indotta es.
da carenza
di nutrienti
(fosfato)

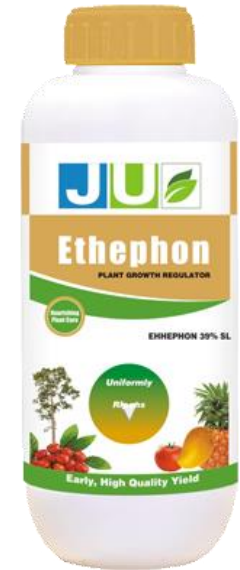
Induzione espressione di geni che codificano per
espansine, xiloglucano endotransglucosidasi (XET), etc.

Applicazioni commerciali dell'etilene

Ethephon (acido 2-cloroetilfosfonico):

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

