

LA MICROSCOPIA E GLI STRESS AMBIENTALI NELLE PIANTE

Gabriella S. Scippa

Università Degli Studi del Molise
Facoltà di S.S.MM.FF.NN.
Dip. S.T.A.T.

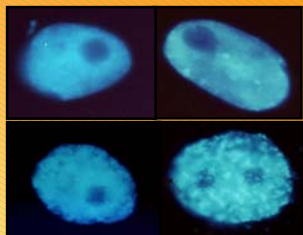
Le piante rispondono a condizioni ambientali sfavorevoli con complesse alterazioni a livello morfologico, fisiologico, biochimico e molecolare. Lo studio della risposta delle piante a condizioni ambientali sfavorevoli richiede l'integrazione di diversi strumenti di indagine che permettano di ottenere una visione complessiva dei meccanismi coinvolti e soprattutto il loro ruolo nella capacità adattativa. Nei lavori qui riportati, si evidenzia l'importanza della microscopia nello studio della risposta delle piante a diverse condizioni di stress abiotico.

1. Stress Idrico e Organizzazione della Cromatina

Microscopio ottico a fluorescenza

Variazioni del contenuto idrico nella cellula, comportano alterazioni della morfologia del nucleo e dell'organizzazione della cromatina.

Proteine nucleari con funzione protettiva dell'organizzazione del nucleo e della cromatina sono state individuate 1) nei tessuti meristemati dell'embrione di *Pisum sativum* durante la maturazione del seme 2) nei tessuti meristemati della radice 3) nelle cellule di *Solanum tuberosum* in coltura liquida.

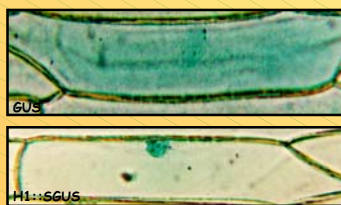


Nuclei isolati da cellule di patata in condizioni di stress idrico (in basso) e di controllo (in alto).

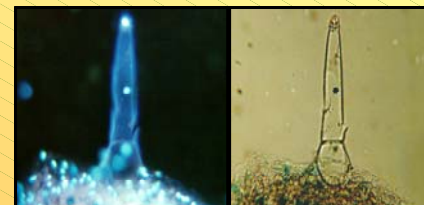
Chiatante, D., Onelli, E., Patrignani, G., Scippa, G.S. (1995). *Journal of Experimental Botany*, 46, 288: 815-821
Chiatante, D., Scippa, G.S., Onelli, E., Patrignani, G., and Maiuro, L. (1997) *Plant Biosystems*, 131, 1: 13-24
Chiatante D., Scippa G.S., Maiuro L., Onelli E., Patrignani G. (2002) *Plant Biosystems*, 136, 1: 35-48

Variazioni del contenuto idrico nella cellula alterano l'espressione di specifici geni con funzioni di protezione o di regolazione. Nel pomodoro (*Lycopersicon esculentum*), è stato identificato un gene che codifica per una proteina nucleare con probabile funzione di regolazione dell'espressione genica. Studi sulla localizzazione cellulare e sull'espressione del prodotto di questo gene hanno infatti messo in evidenza che si tratta di una variante dell'istone H1.

Scippa, G.S., Griffiths, A., Chiatante, D., Bray E.A. (2000) - *Planta*, 211, 2: 173-181.



Localizzazione dell'attività del costrutto H1-s::GUS nell'epidermide di cipolla transgenica. (Microscopio ottico).

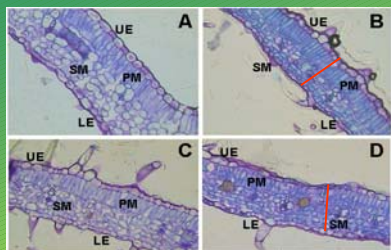


Localizzazione dell'attività del costrutto H1-s::GUS nell'epidermide di pomodoro transgenico. Microscopio ottico a fluorescenza

Le biotecnologie vegetali, quali la manipolazione del DNA, la trasformazione mediata dall'*Agrobacterium t.* e la rigenerazione in vitro, sono state utilizzate per l'ottenimento di mutanti incapaci di accumulare una variante dell'istone H1 in condizioni di stress idrico. Le piante transgeniche ottenute da questi esperimenti sono attualmente utilizzate come sistema di analisi per la comprensione della funzione della variante istonica H1-S e dei fattori genetici che questa proteina potrebbe regolare. Infatti i risultati ottenuti dall'analisi fisiologica e morfologica di questi mutanti a condizioni di deficit idrico sembrano sostenere il ruolo multifunzionale che una variante istonica potrebbe svolgere mediante la modulazione dell'espressione genica

G. S. Scippa, M. Di Michele, E. Onelli, G. Patrignani, D. Chiatante and E. A. Bray (2004). *Journal Experimental Botany* ; 55: 99 - 109.

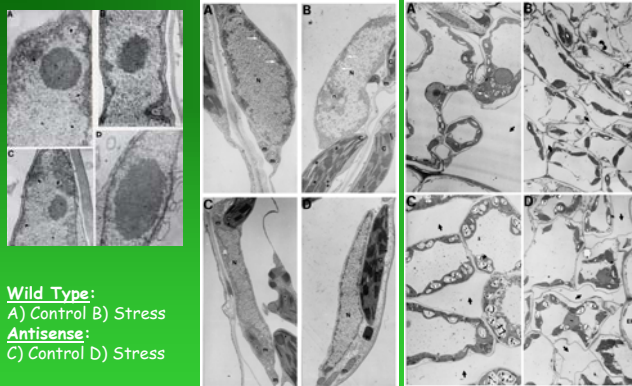
a) Sezione di foglia di pomodoro transgenico antisense al Microscopio ottico



Wild Type: A) Control B) Stress
Antisense: C) Control D) Stress

	Wild Type			Transgenic Anti H1-S		
	Non stress	Stress	% reduction	Non stress	Stress	% reduction
Leaf blade (µm)	41.7±2.0	21.5±2.3	48.4	33.5±4.0	24.2±2.1	27.6
Palisade (µm)	12.7±1.2	8.8±12.1	30.6	10.1±1.0	7.6±0.9	23.7
Spongy mesophyll (µm)	21.5±2.1	8.8±1.3	58.9	16.2±1.6	11.3±0.5	30.3

b) Sezioni di foglia di pomodoro transgenico (Antisense) e controllo (Wild Type) al Microscopio Elettronico



Wild Type:
A) Control B) Stress
Antisense:
C) Control D) Stress

2. Stress Meccanico e alterazioni anatomiche

Osservazioni in campo della morfologia e dell'architettura degli apparati radicali di specie autoctone (*Spartium junceum* L., *Fraxinus ornus* L., *Quercus cerris* L.) sottoposte a condizioni di stress meccanico, hanno evidenziato un particolare tipo di apparato radicale che meglio distribuisce i carichi imposti dalla condizione di pendenza. Sulla base di questi risultati le indagini sono state estese alle caratteristiche anatomiche e biomeccaniche al fine di comprendere se la risposta allo stress meccanico coinvolge alterazioni delle proprietà meccaniche delle radici e se le radici svolgono un ruolo diverso in base alla loro topologia. I risultati ottenuti, hanno evidenziato una netta asimmetria sia della distribuzione spaziale delle radici laterali che delle loro proprietà biomeccaniche, legate a differenze anatomiche nella distribuzione dei tessuti meccanici.



Analisi al microscopio ottico della distribuzione delle fibre e dello spessore delle pareti, in radici di ginestra (*Spartium junceum*) in condizioni di stress meccanico

Chiatante D., G.S. Scippa, A. Di Iorio, and M. Sarnataro (2003). *Journal of Plant Growth Regulation* (online 17 aprile 2003)

Chiatante D., Sarnataro M., Fusco S., Di Iorio A., Scippa, G.S. (2003)- *Plant Biosystems* 137, 1: 47-56

Chiatante, A. Baraldi, A. Di Iorio, M. Sarnataro and G. S. Scippa (2003) *Plant and Soil* (in press)

Scippa G.S., Di Michele M., Di Iorio A., Costa A., Chiatante D. (2004) *Journal experimental botany* (submitted)