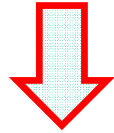


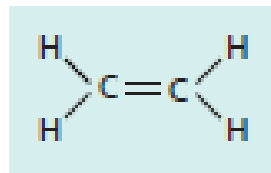
1800

alberi in prossimità dei lampioni stradali



perdita foglie
sviluppo alterato

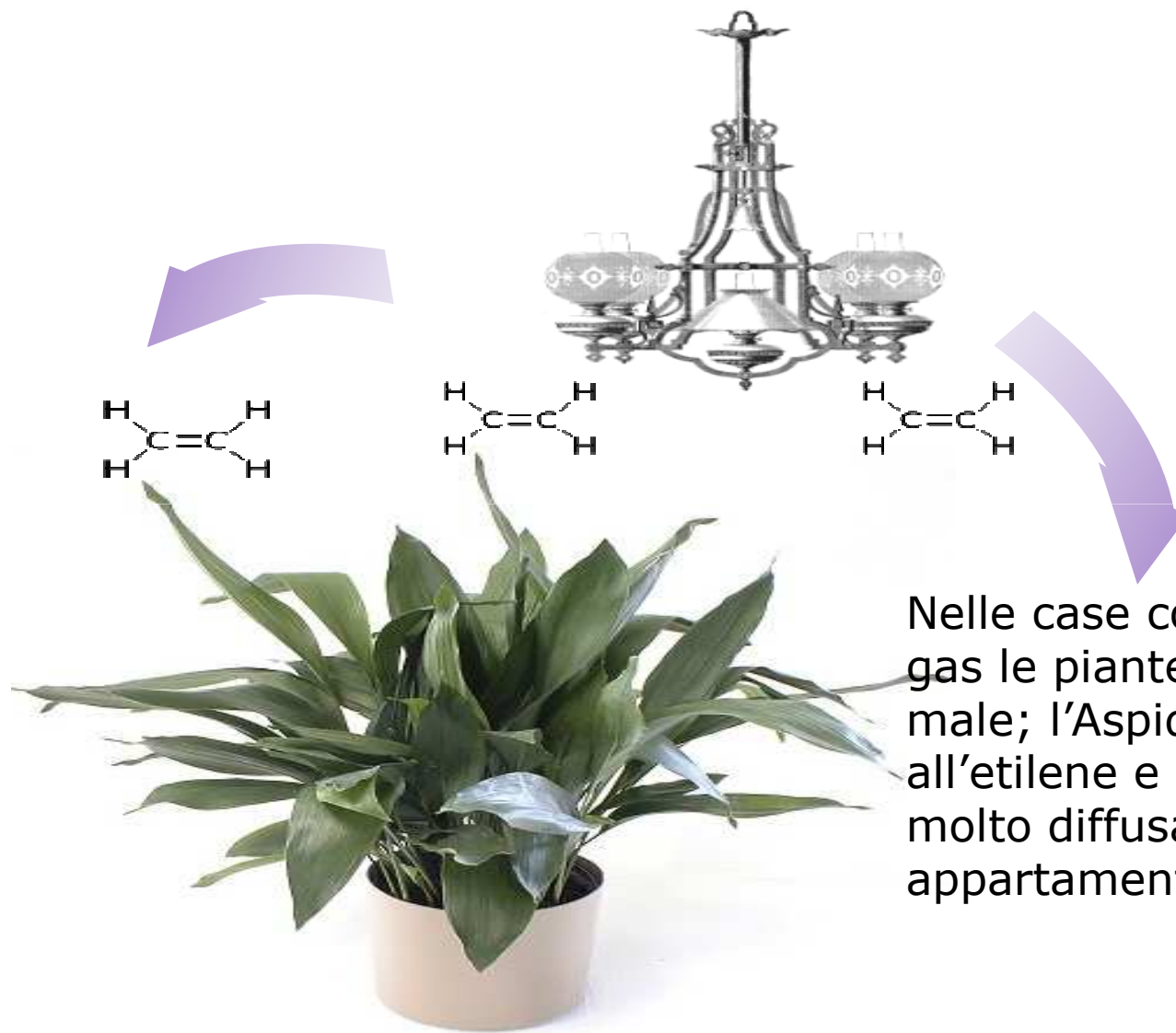
1901



Etilene

l'etilene è il gas
responsabile degli effetti





Nelle case con illuminazione a gas le piante crescevano male; l'Aspidistra è resistente all'etilene e così divenne molto diffusa come pianta da appartamento.



Il fumo è stato utilizzato a lungo per far maturare i frutti: maturazione delle pere al fumo di incenso; fumigazione di fichi non impollinati. L'etilene prodotto nelle ferite induce maturazione



1910

banane conservate insieme
ad arance



maturazione
banane

1934

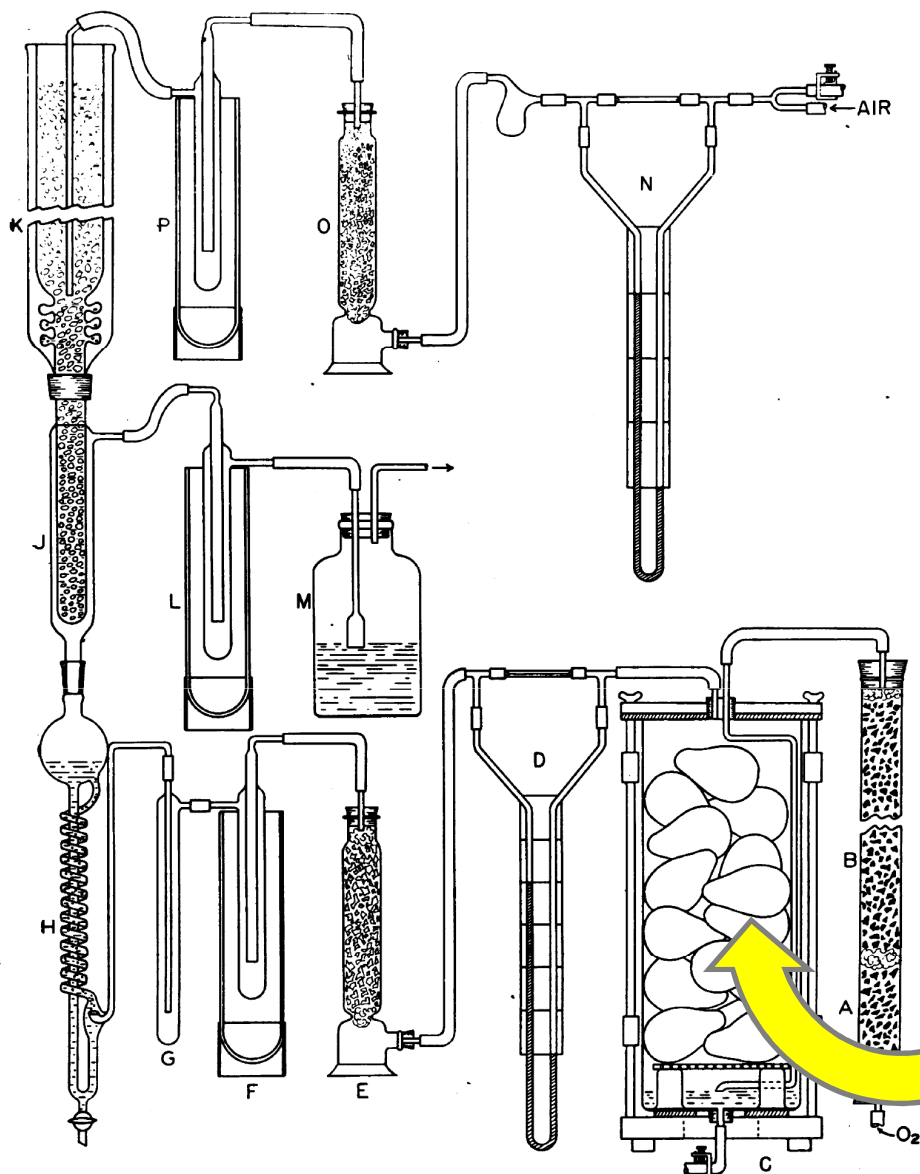
identificazione dell'etilene nelle piante

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

Nel 1934 l'etilene venne purificato da mele mature

L'etilene è un ormone naturale delle piante



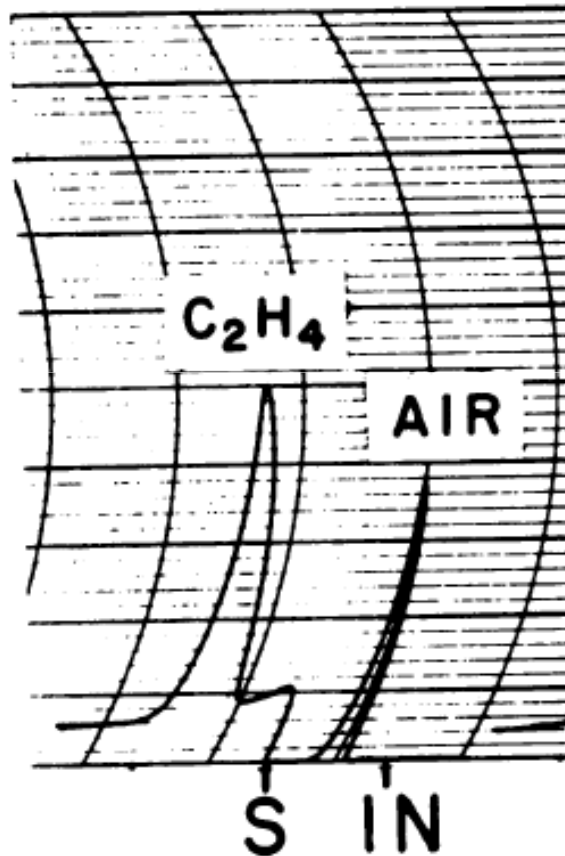


La scarsa sensibilità dei
metodi rendeva difficile
rilevare piccoli cambiamenti
nella produzione di etilene

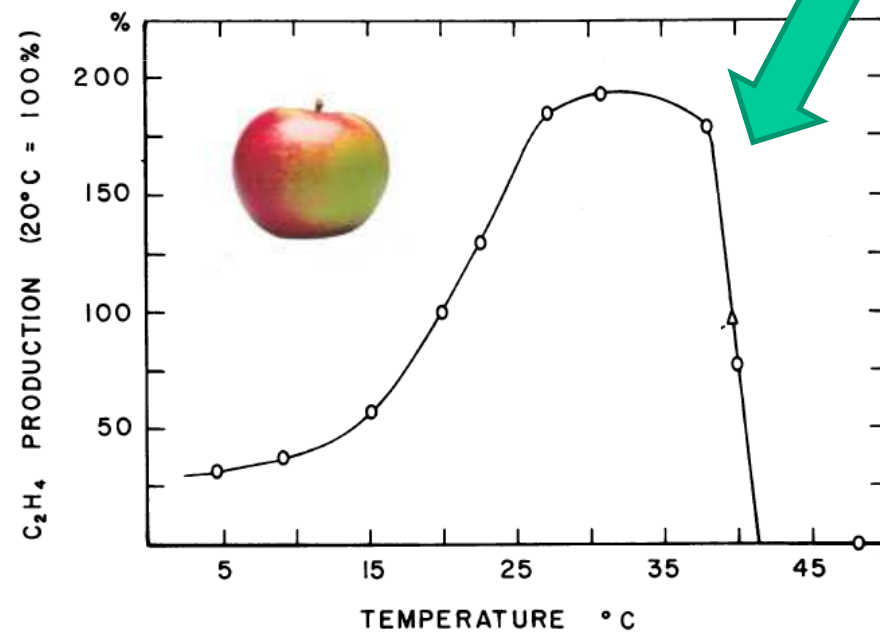
**Maturazione
dell'avocado**

FIG. 1. Absorption train for the collection of ethylene from avocados.

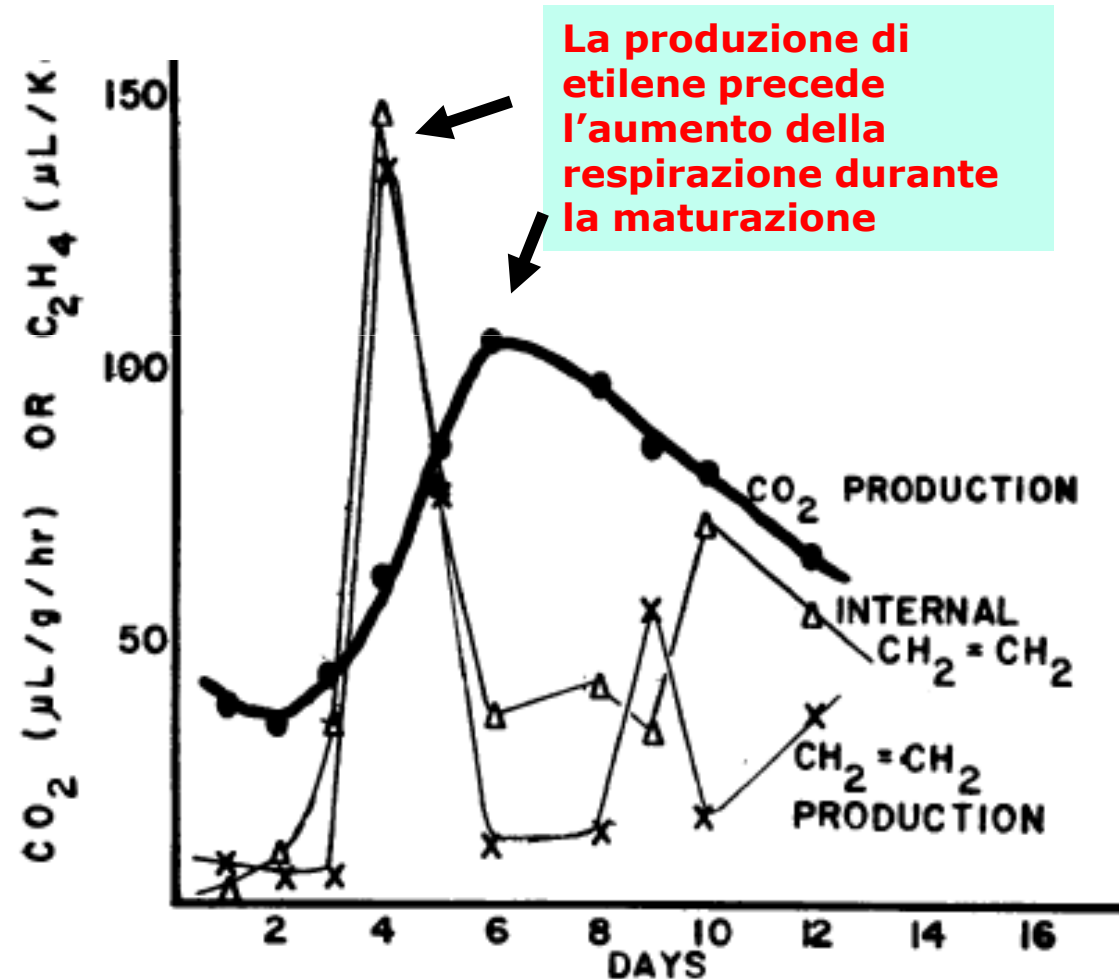
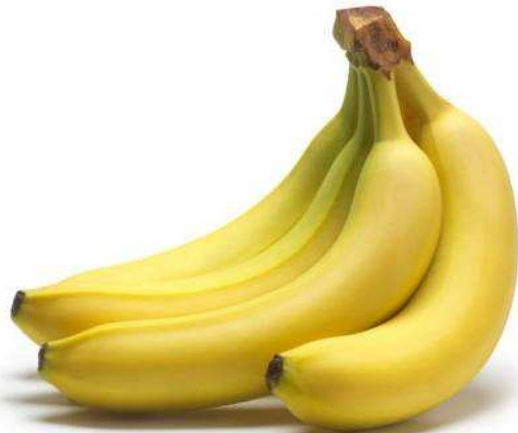
Nel 1959 fu introdotta la gas-cromatografia per la rilevazione dell'etilene



La gas cromatografia era un milione di volte più sensibile dei metodi precedenti: si poté dimostrare ad esempio che la produzione di etilene era temperatura dipendente



La GC ha rivelato che la produzione di etilene è la causa e non la conseguenza della maturazione dei frutti



BIOSINTESI DELL'ETILENE

è prodotto da molti tessuti

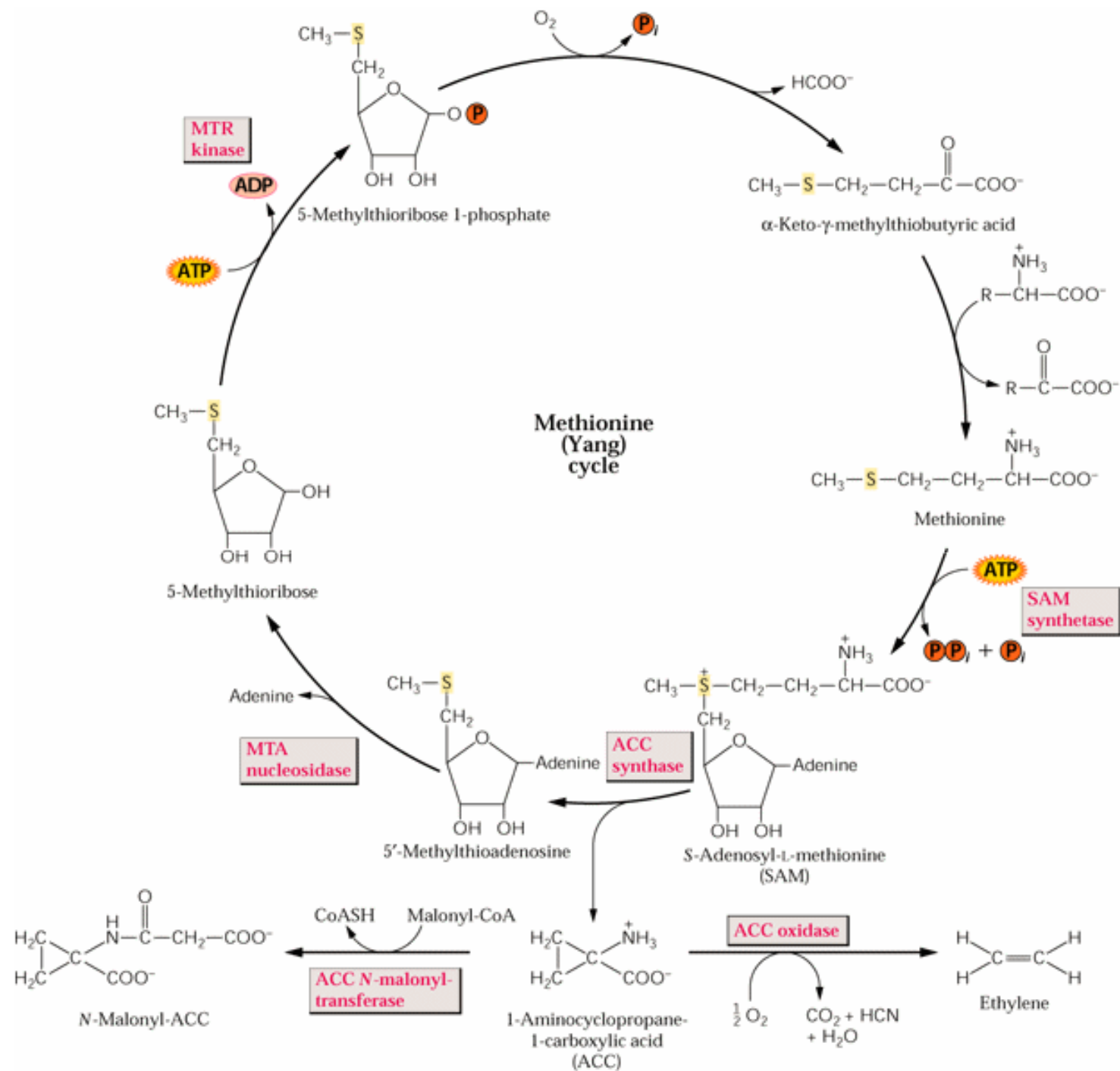
principali siti di sintesi

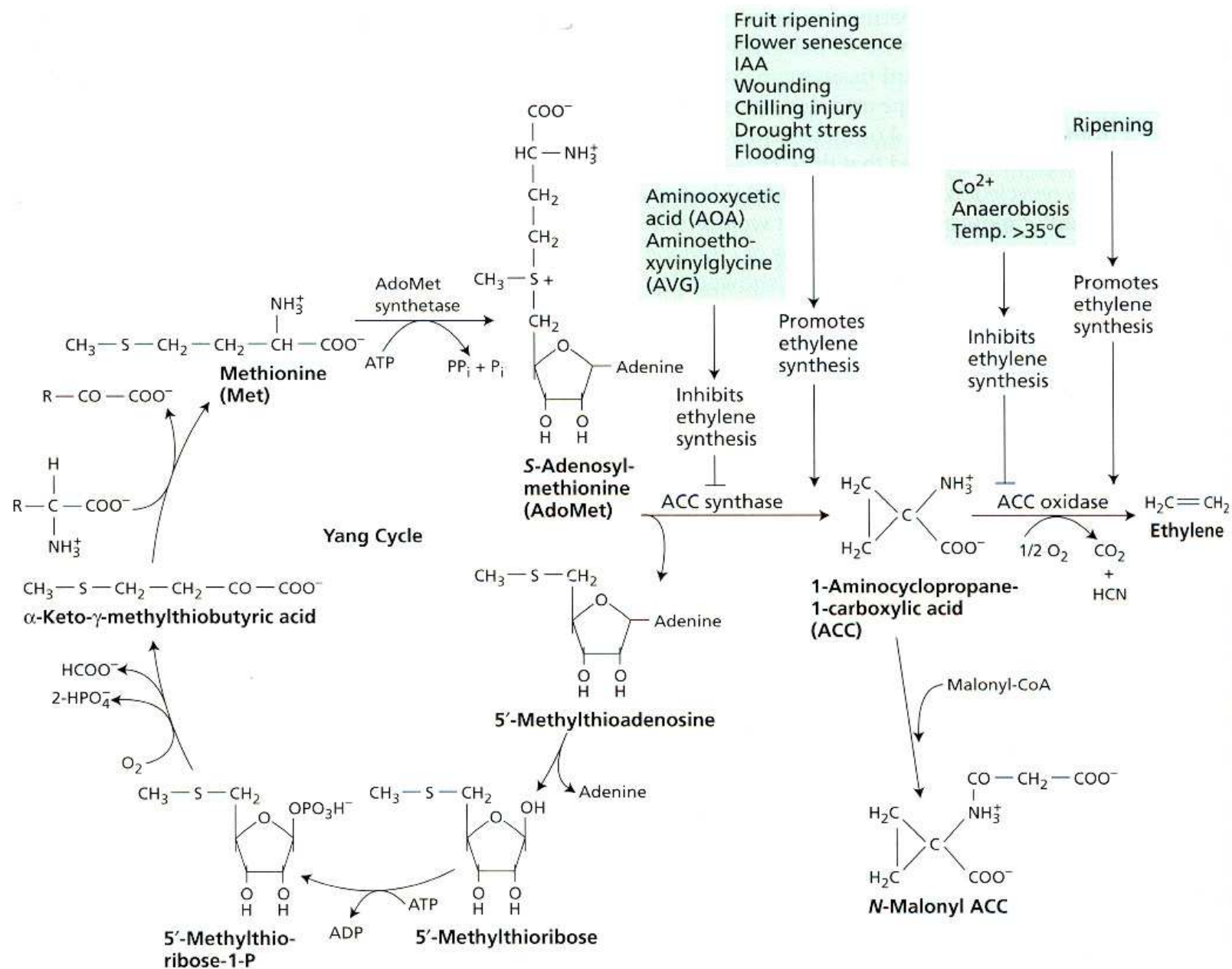
meristemi

regioni nodali



S-adenosil metionina





ACC SINTASI: Ado Met $\longrightarrow$ ACC passaggio limitante

- Enzima citosolico instabile
- Isolato da tessuti e piante diverse
- 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)

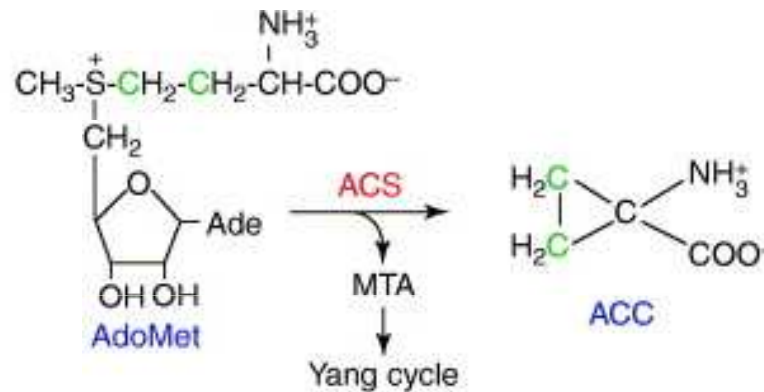
ACC ossidasi: ACC $\longrightarrow$ etilene (richiede O₂)

Famiglia multigenica regolata in maniera differenziale
appartiene alla superfamiglia delle Fe²⁺ / ascorbato ossidasi

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

- Stadio di sviluppo: (maturazione, senescenza)
- Ormoni: auxina
- Stress: ferita, patogeni, allagamento, siccità , gelo
- Ritmo circadiano: picco diurno

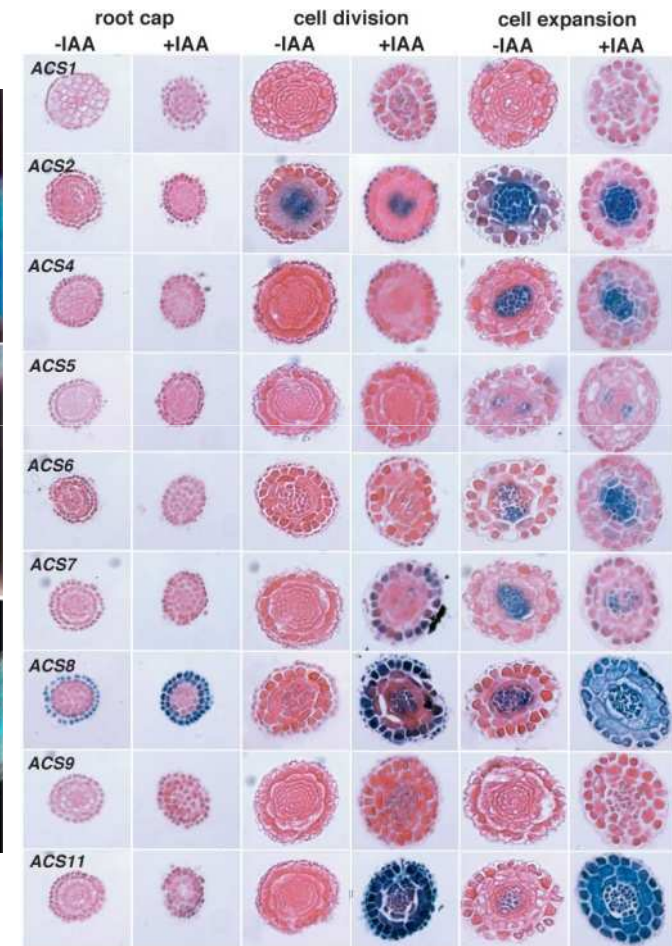
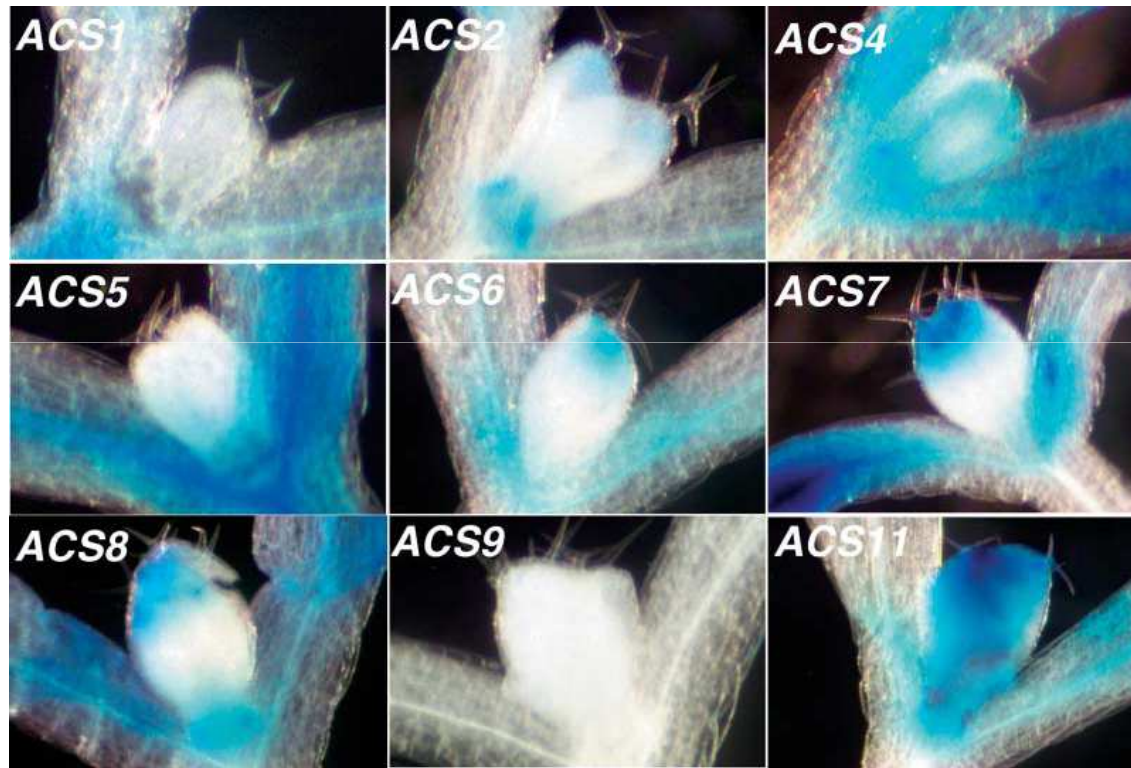
La produzione di etilene è regolata principalmente dai livelli di ACC sintasi



L'ACC sintasi è codificata da 9 geni con differenti profili di espressione

Le ACC sintasi sono soggette a regolazione post traduzionale

I geni delle ACC sintasi sono espressi e regolati in maniera differenziale



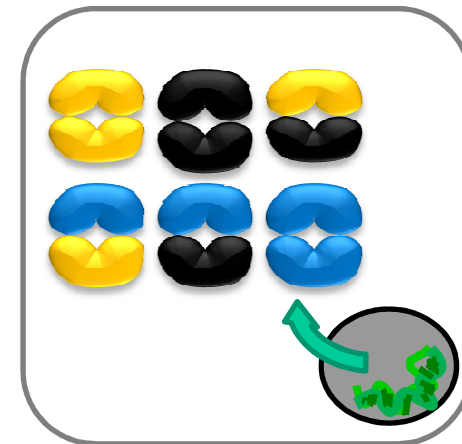
L'ACCS è codificata da 9 geni appartenenti a 3 sottofamiglie



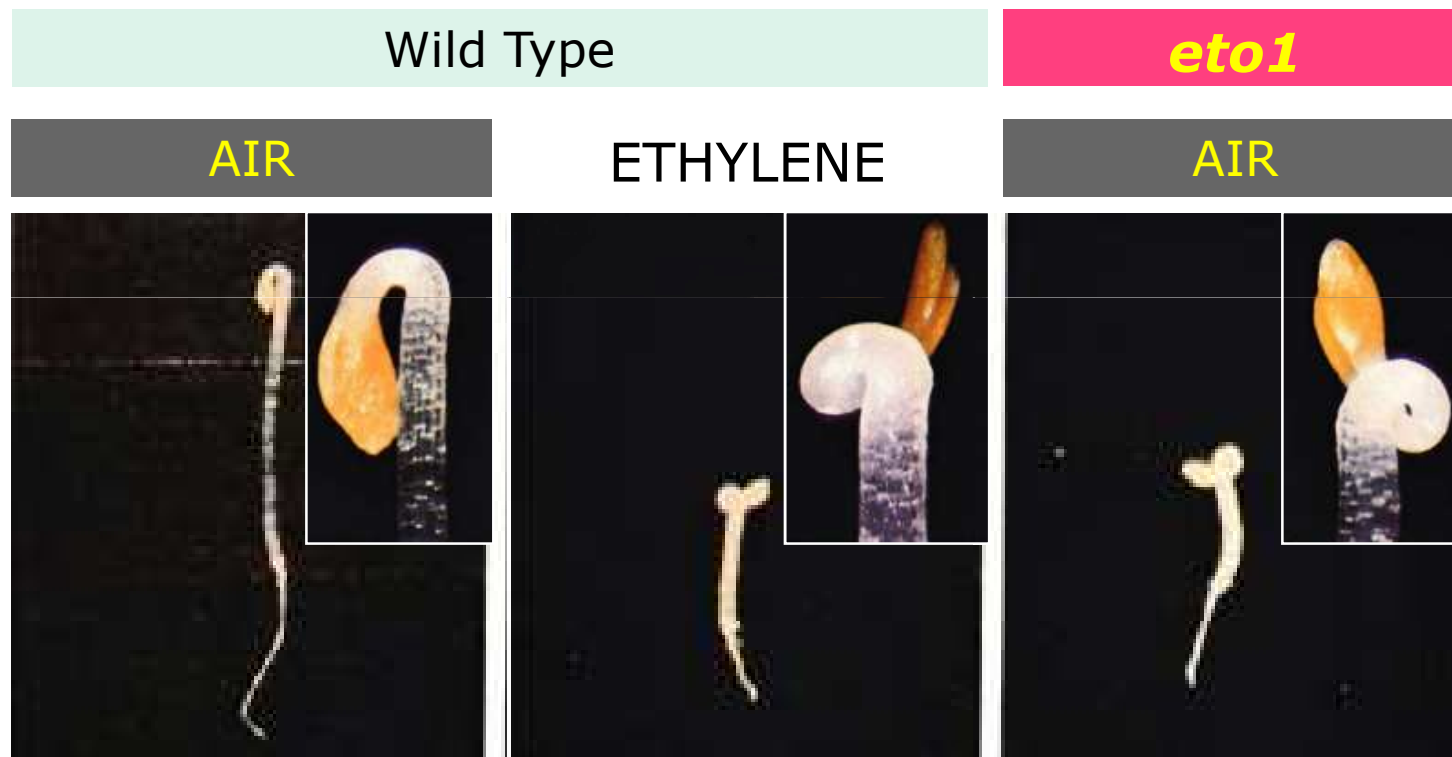
Si possono formare 45 eterodimeri di cui 25 funzionali e con proprietà catalitiche diverse



Il tipo di geni espressi
in ogni cellula determina
Il dimero che si forma e
l'attività catalitica

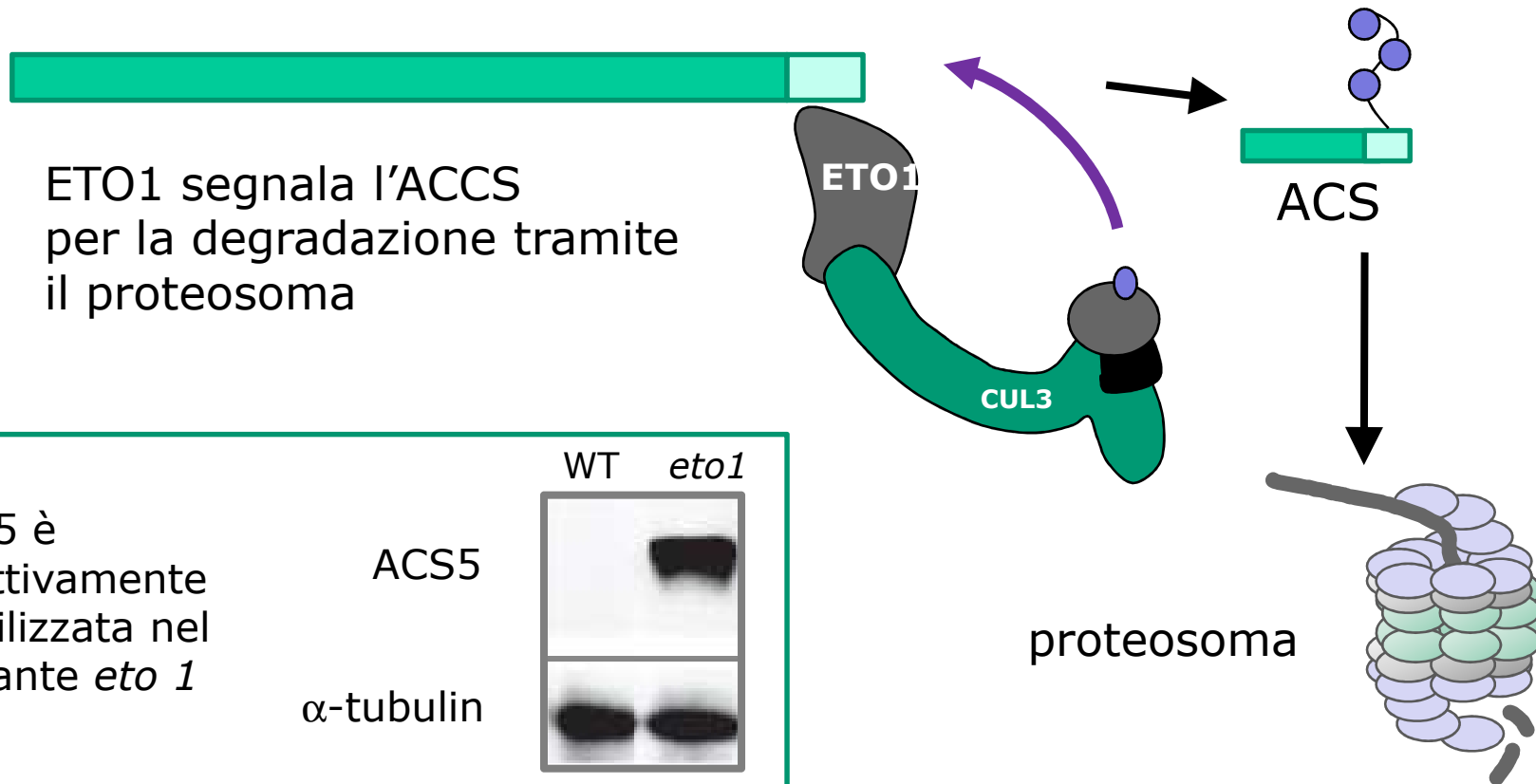


Il mutante *eto1* è un superproduttore di etilene

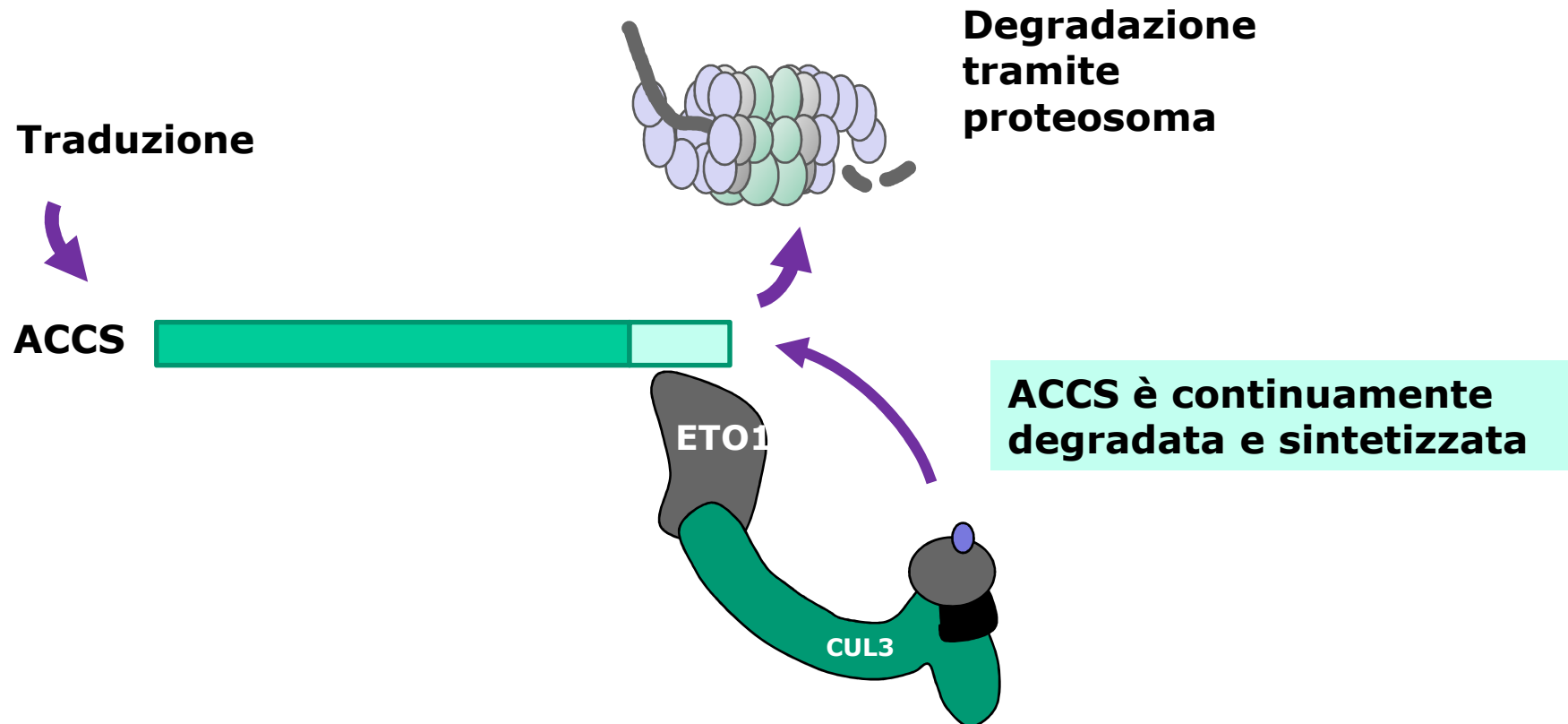


I mutanti *eto* sovraproducono etilene e danno risposta tripla in aria

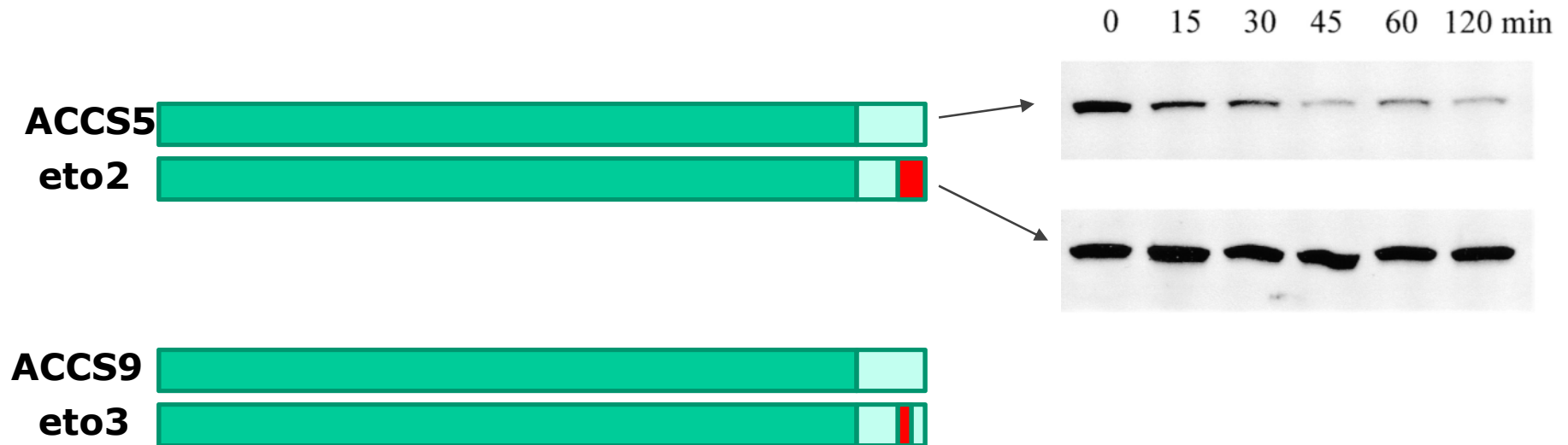
ETO1 è un componente del complesso dell'ubiquitina ligasi



Le proteine ACCS sono soggette a rapida proteolisi

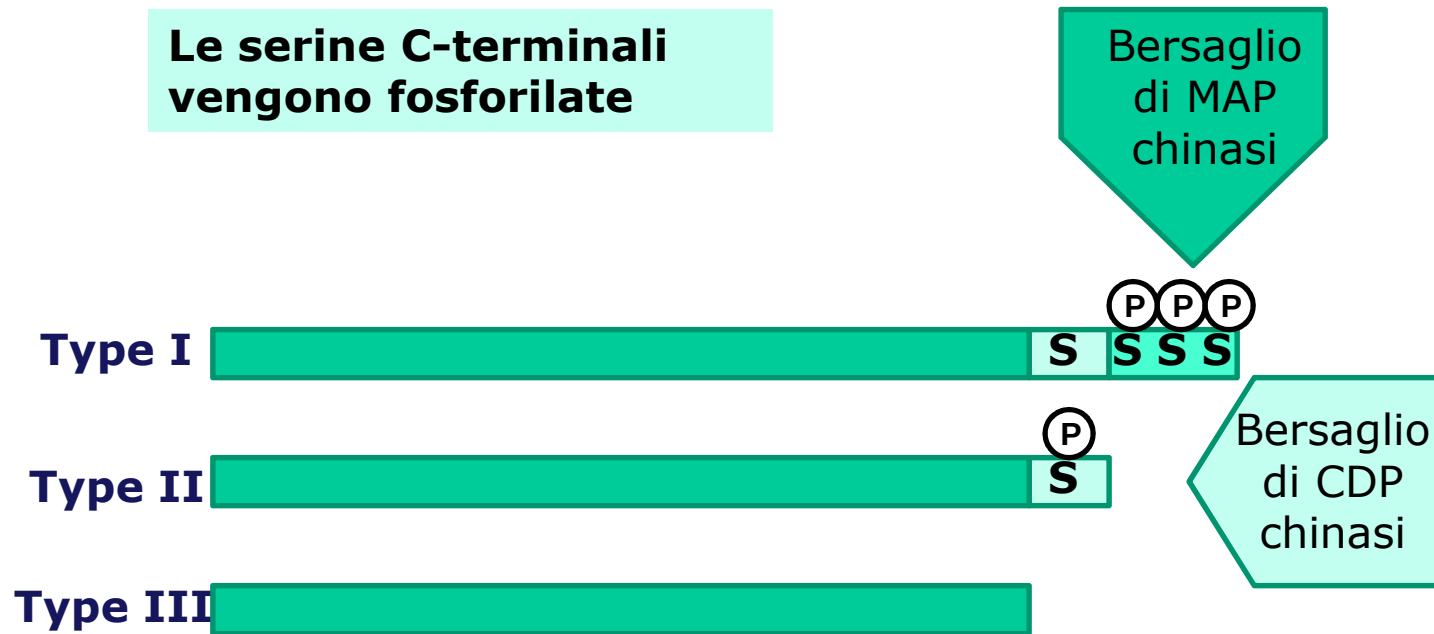


Le mutazioni *eto2* e *eto3* incrementano la stabilità delle ACCS

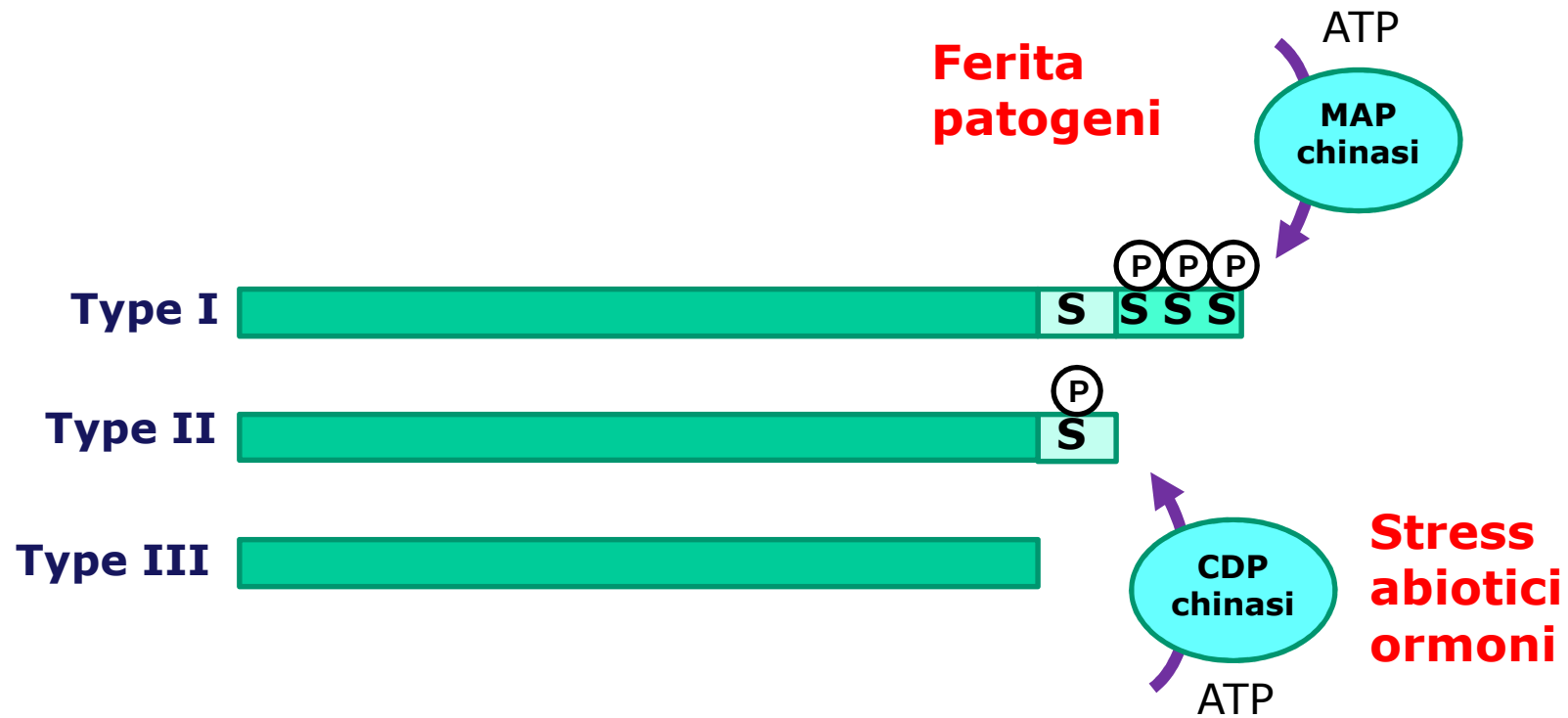


Le mutazioni *eto2* and *eto3* sono dovute a cambiamenti nella regione C-terminale di ACCS5 or ACCS9. le proteine mutate sono stabilizzate e la produzione di etilene è aumentata.

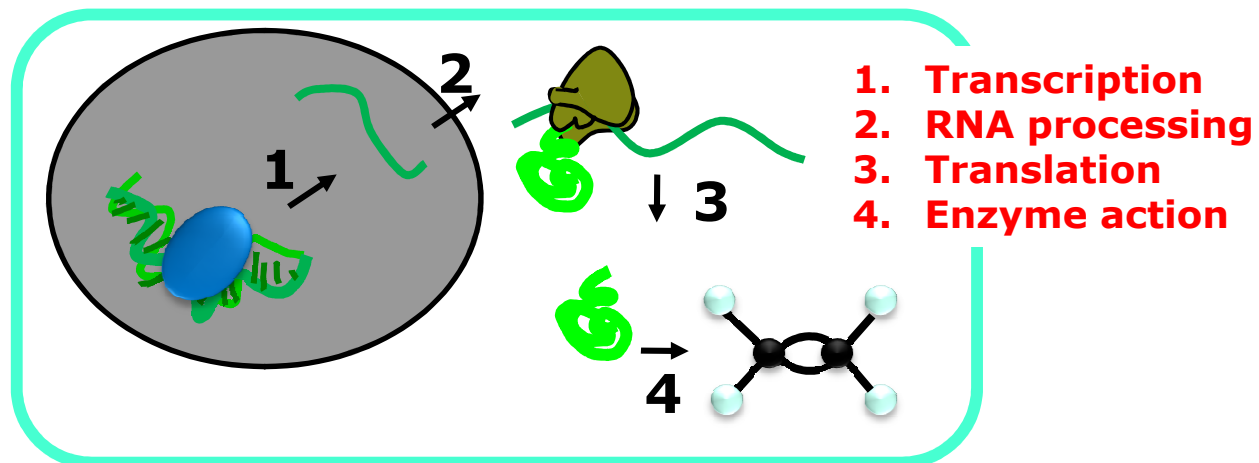
La fosforilazione C-terminale stabilizza le ACCS interferendo con l'azione di ETO1



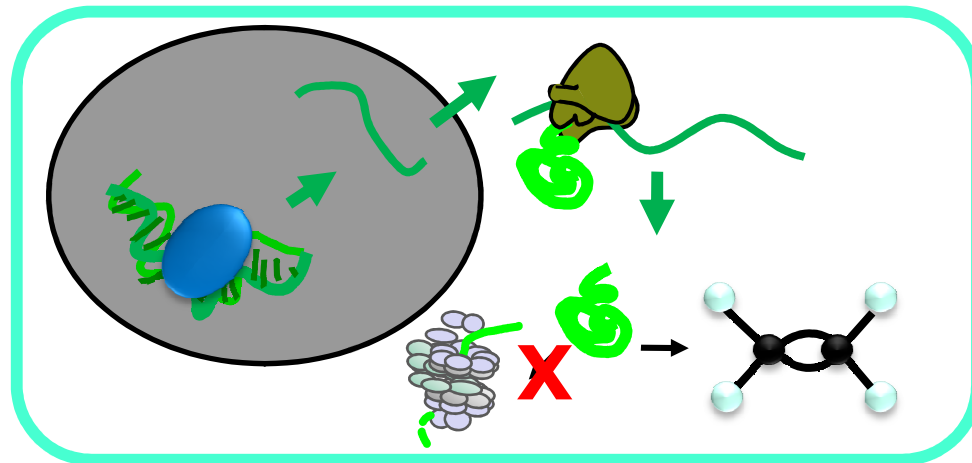
Le chinasi sono regolate da stress e da ormoni



La regolazione tramite proteolisi consente risposte rapide

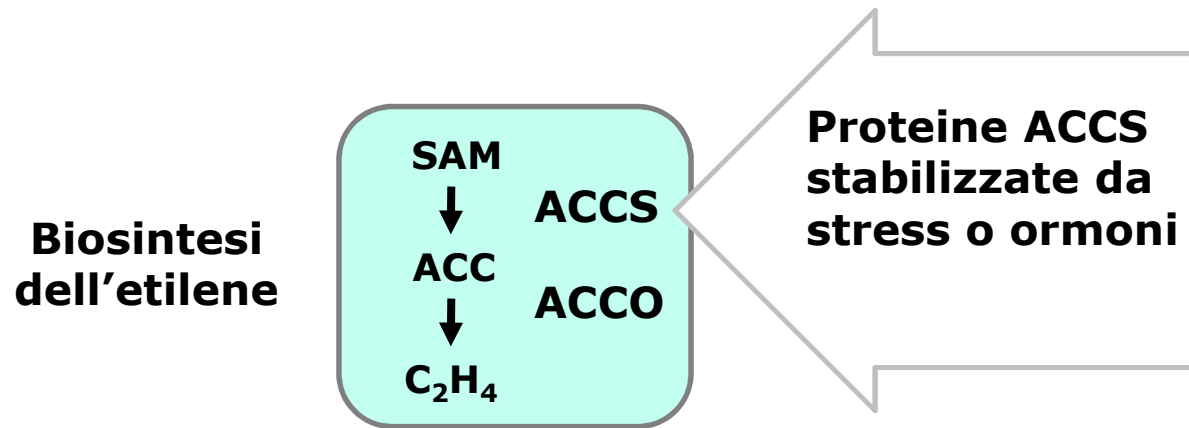


La regolazione trascrizionale ha un tempo di latenza lungo



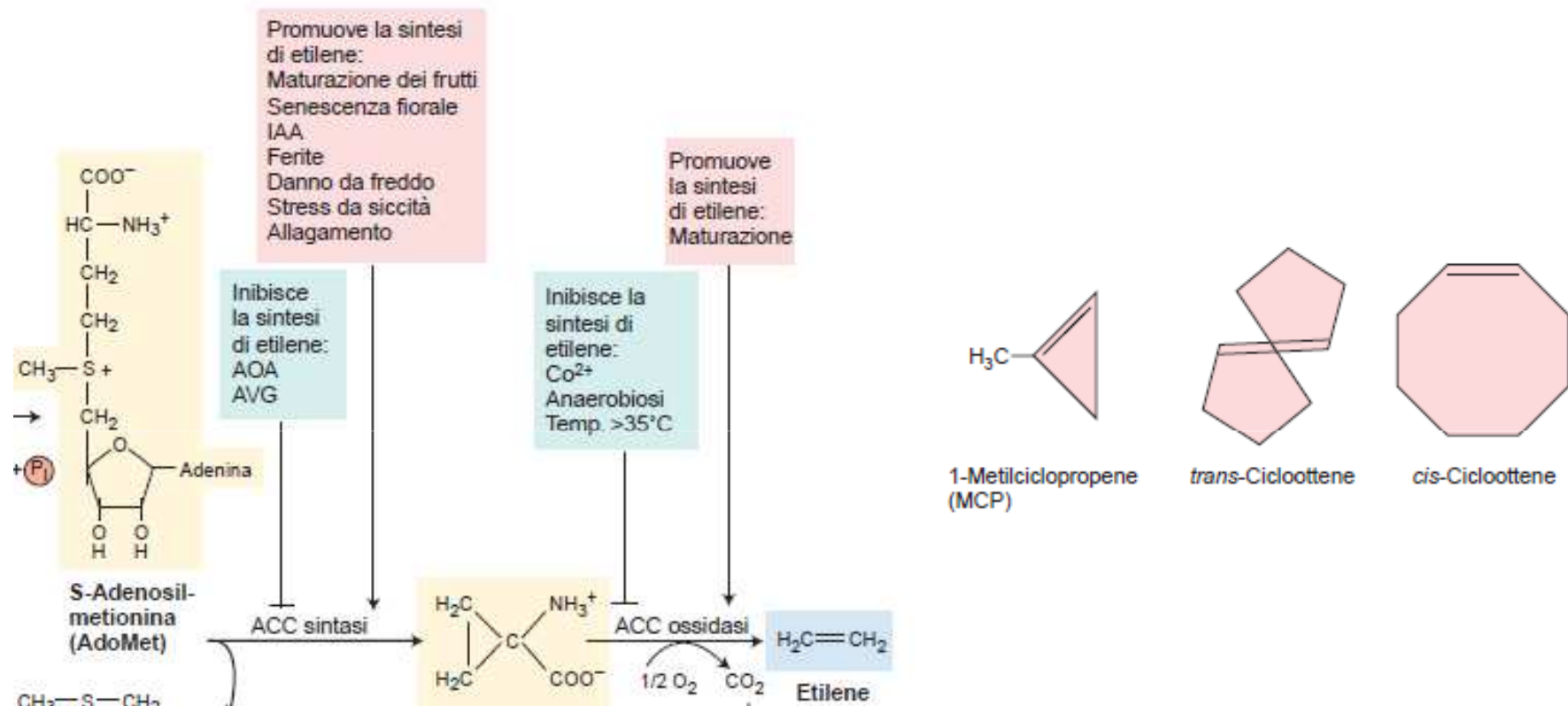
La regolazione mediante proteolisi è rapida ma richiede un flusso costante di spesa energetica per la sintesi delle proteine

Sintesi di etilene e omeostasi



- La via biosintetica è regolata dalla espressione e dalla stabilità di ACCS e ACCO
- Le attività di ACCS e ACCO sono strettamente regolate trascrizionalmente e post-traduzionalmente e sono sensibili a stress ambientali, stadio di sviluppo e patogeni.

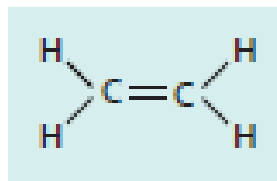
Esistono inibitori della biosintesi e dell'azione dell'etilene



Biosintesi: Amminoetossivinilglicina (AVG)
Acido amminoossiacetico (AOA)

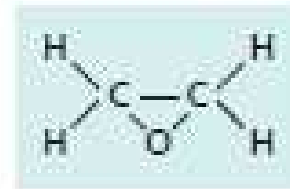
Azione: ioni argento, anidride carbonica, trans cicloottene
1-metilciclopropene (MCP: EthylBloc)

Catabolismo dell'etilene



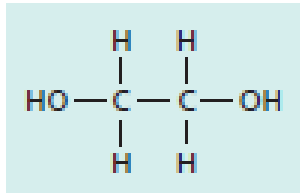
Etilene

ox



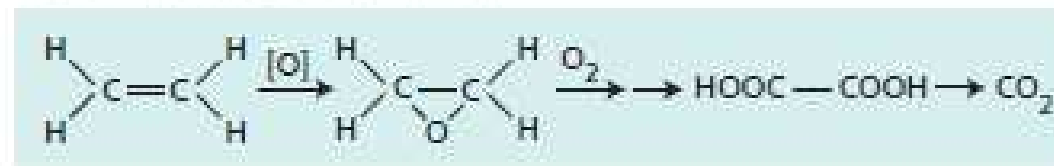
Ossido di
etilene

idrolisi



Glicole etilenico

Ossidazione completa dell'etilene



Etilene

Ossido di
etilene

Acido
ossalico

Biossido di
carbonio

EFFETTI FISIOLOGICI

Risposte all'etilene

➤ Sviluppo vegetativo

- Espansione e allungamento di organi (foglie, radice, germoglio)
- Senescenza fogliare

➤ Sviluppo riproduttivo

- Maturazione dei frutti
- Senescenza dei petali
- Determinazione del sesso

➤ Risposte all'allagamento

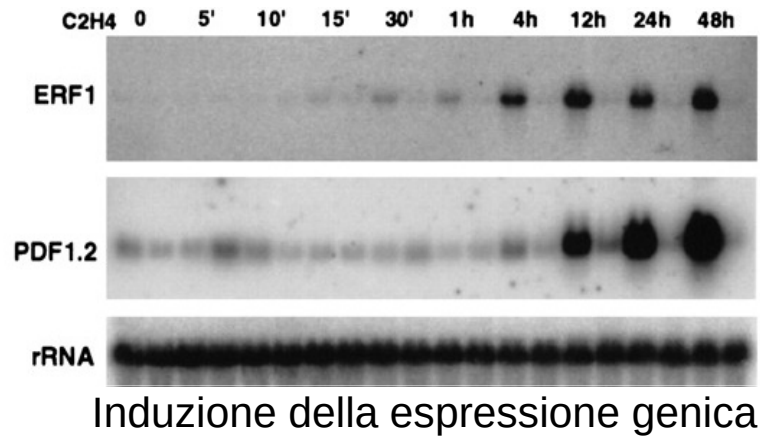
- Formazione di aerenchimi
- Epinastia fogliare

➤ Risposte ai patogeni

risposte all'etilene in arabidopsids



Inibizione dell'espansione fogliare

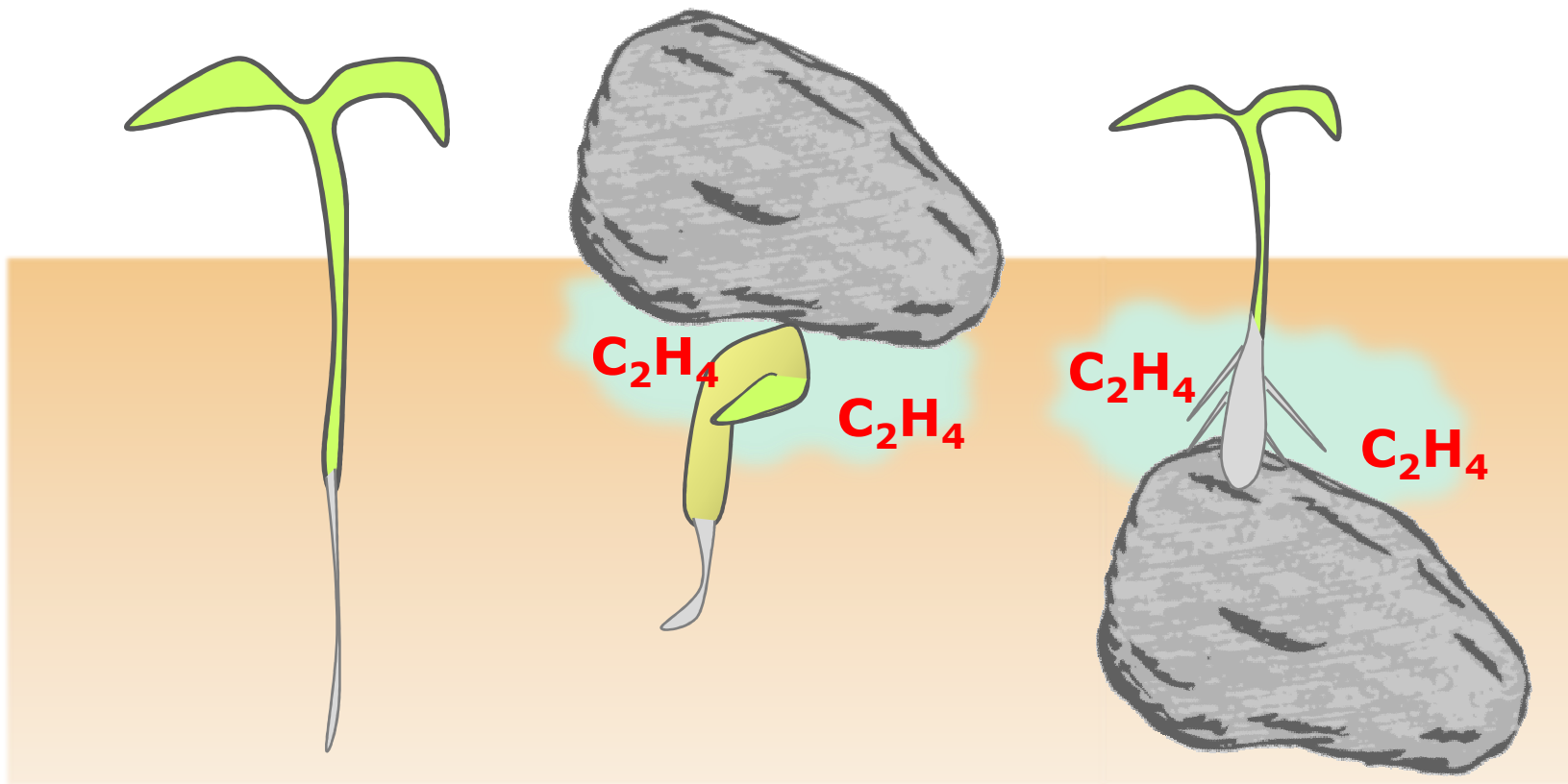


Accelerazione della senescenza

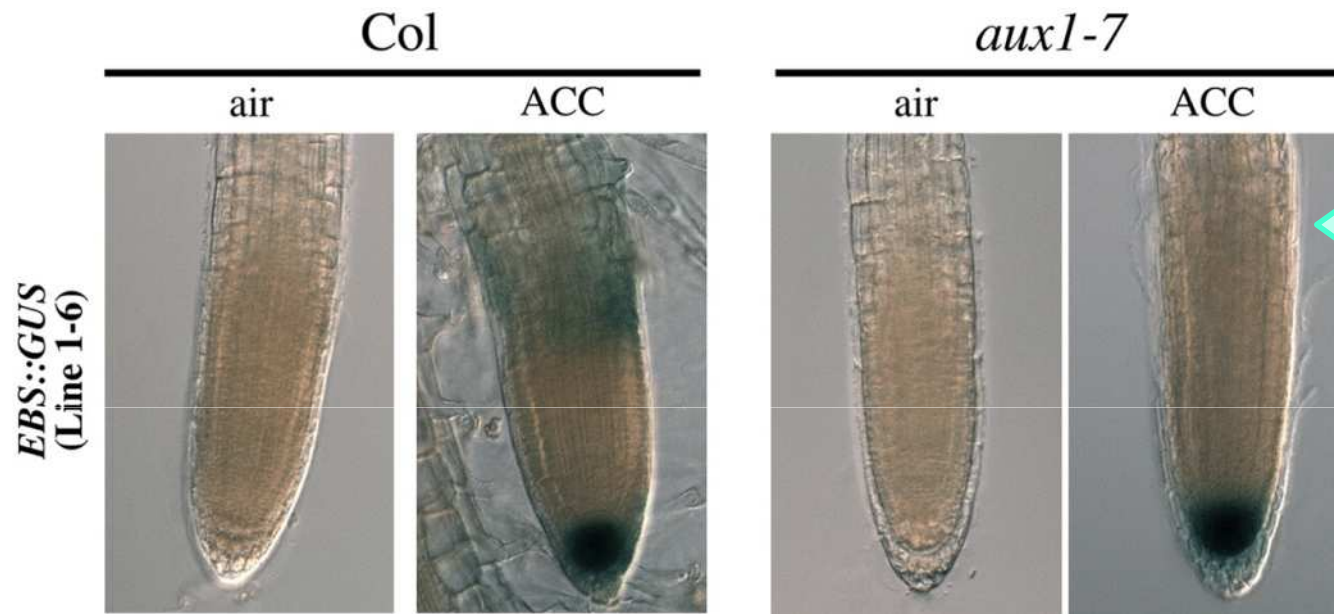


Inibizione dell'allungamento della radice

L'etilene riduce l'allungamento e induce l'espansione laterale di radice e germoglio al buio



Per l'azione dell'etilene nella radice è richiesto IAA



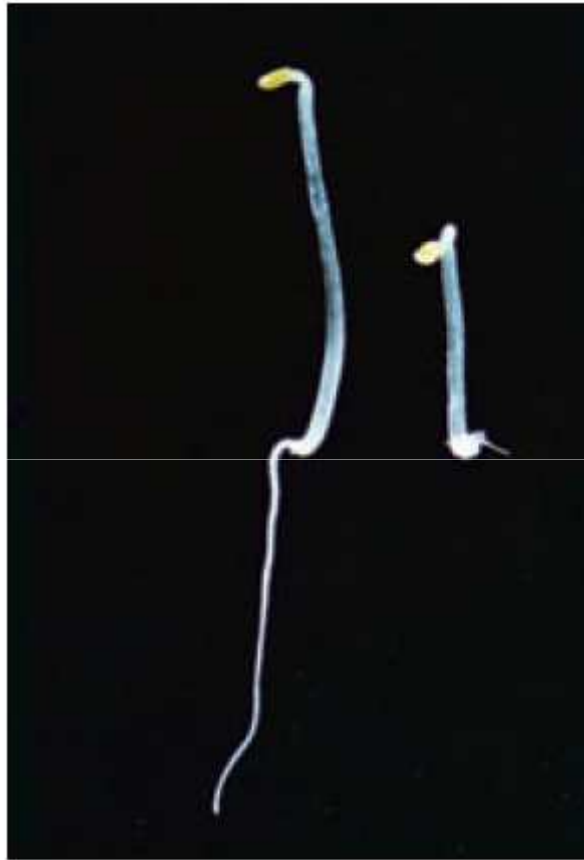
Nella zona di allungamento della radice è necessaria la trasduzione del segnale auxinico per l'espressione genica indotta da etilene

EBS

GUS

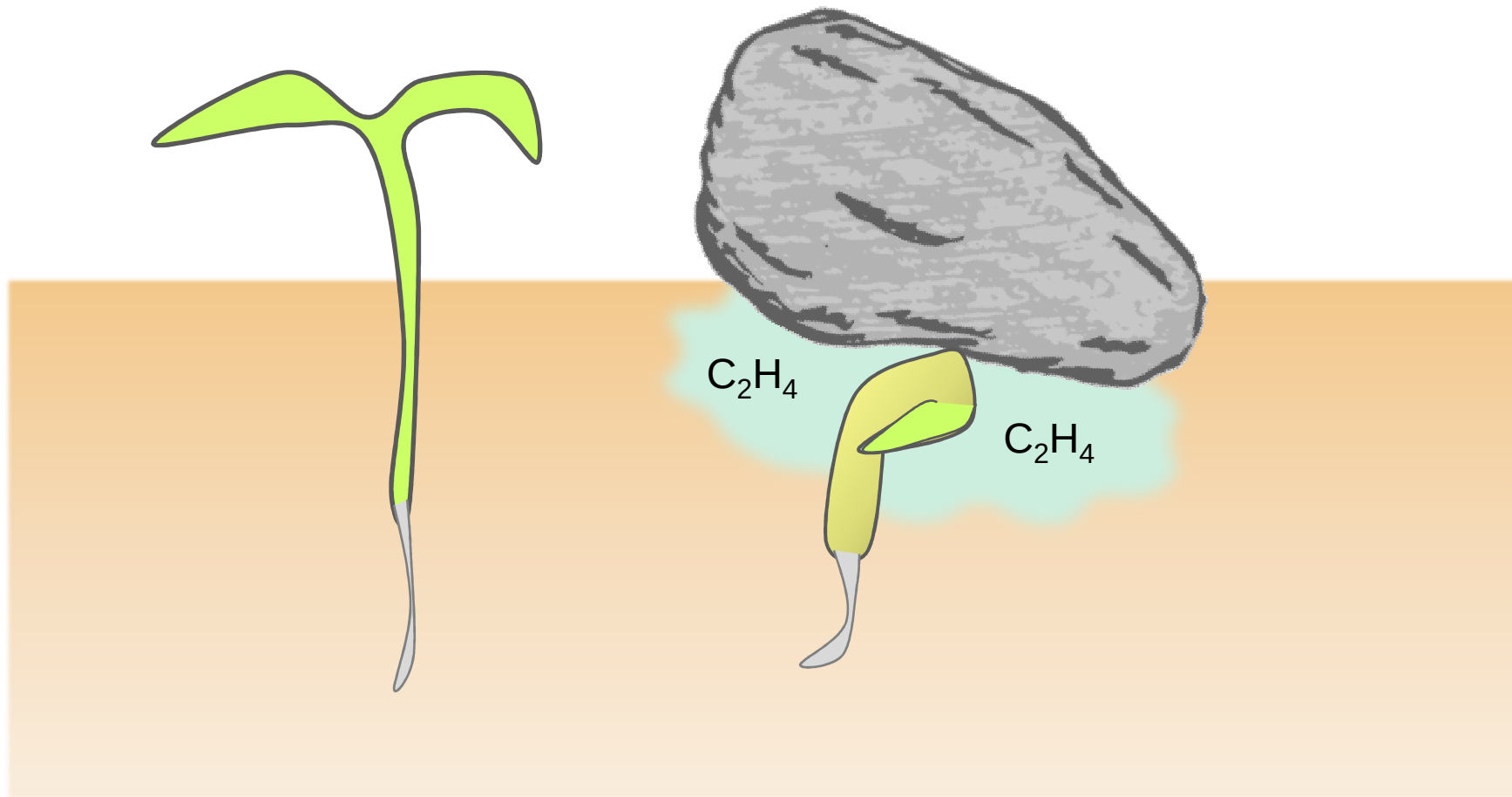
costrutto Gene reporter
per la visualizzazione dell'
espressione di geni
indotti da etilene

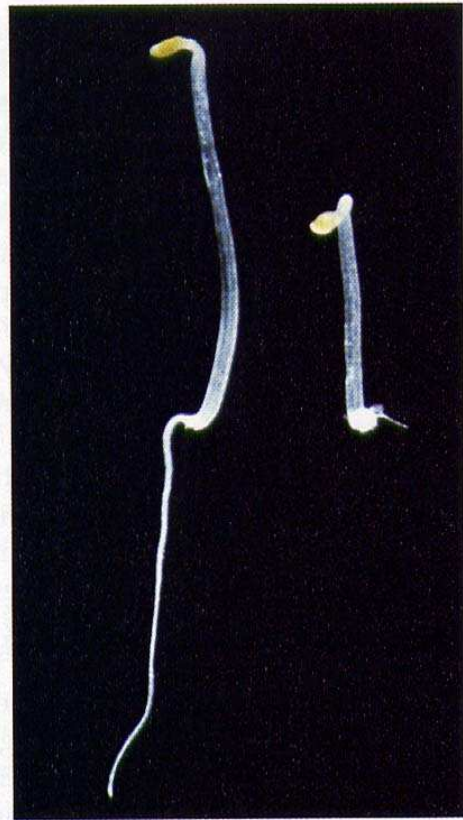
L' induzione dell'espansione laterale



È parte della cosiddetta risposta tripla comune nei germogli in crescita di molte dicotiledoni

Se durante la germinazione al buio la piantina incontra un ostacolo, produce etilene, il quale innesca la risposta tripla, che serve a far superare l'ostacolo.





aria

etilene

risposta tripla in Arabidopsis

- inibizione crescita ipocotile
- inibizione crescita radici
- ripiegamento dell' uncino



Risposta tripla germogli di pisello

Senescenza fogliare, abscissione



cotone

**cotone
+ etilene**

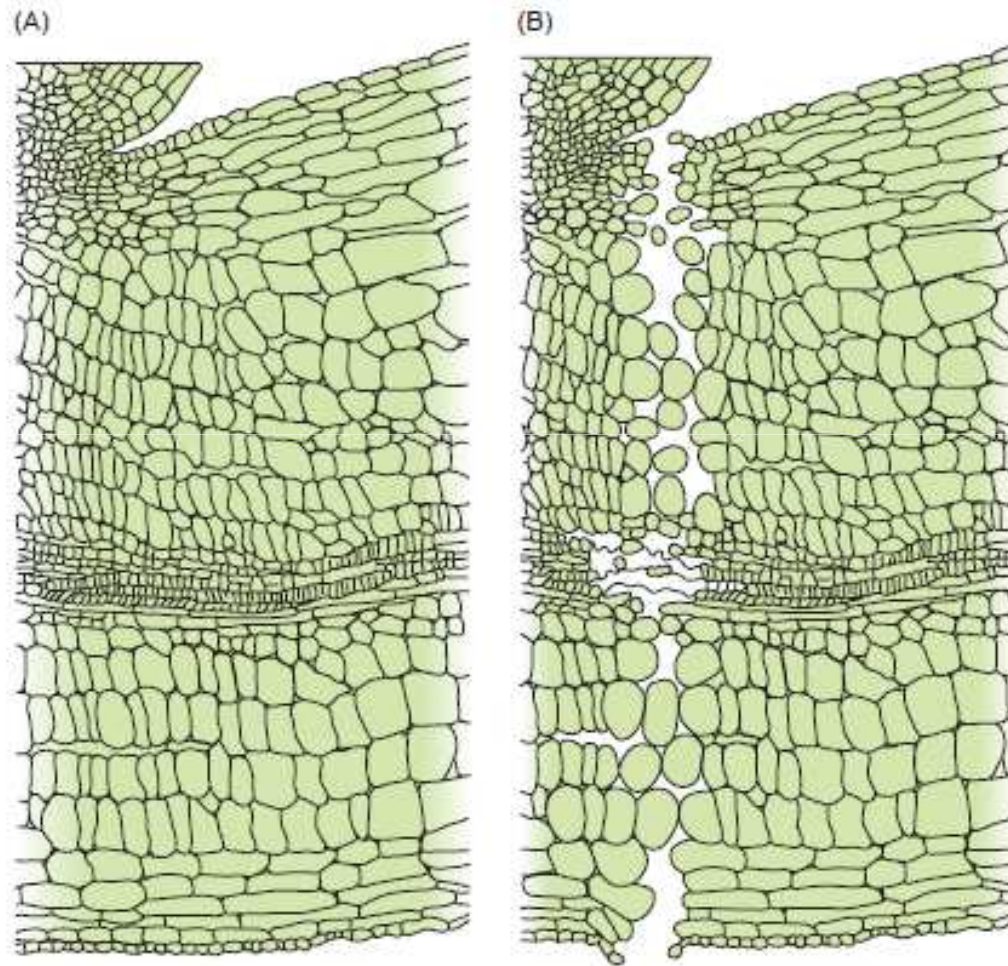


Betulla wt

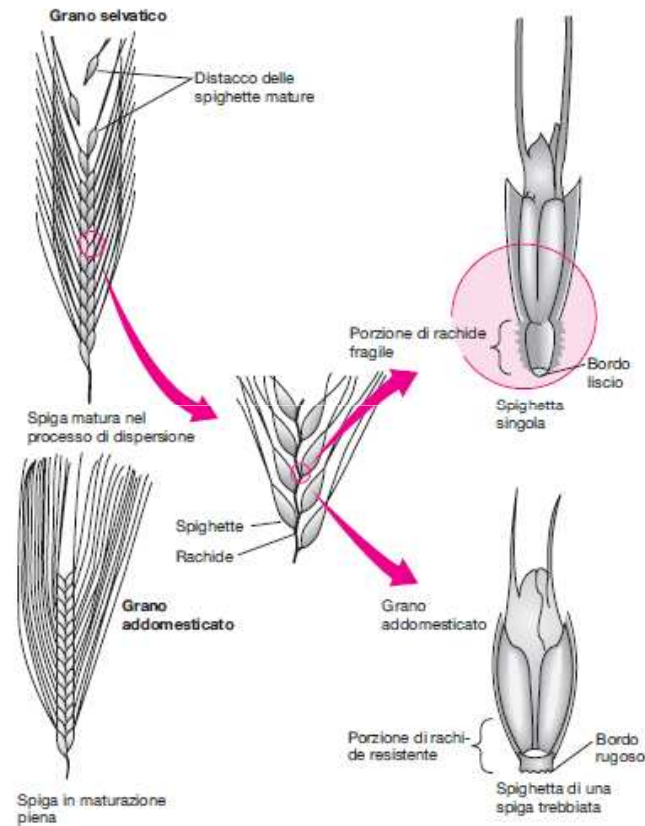
**transgenica
etr1-1**

Trattamento con etilene

Formazione dello strato di abscissione



La perdita della capacità di disperdere i semi è dovuta alla inibizione della **abscissione** nelle spighe dei cereali coltivati



È uno dei tratti fondamentali della sindrome da domesticazione

I tratti che distinguono le piante domestiche in tutte le colture sono simili, prendono il nome di

SINDROME DA DOMESTICAZIONE

e sono il risultato della pressione selettiva esercitata dall'uomo

come cambiano le piante con la domesticazione

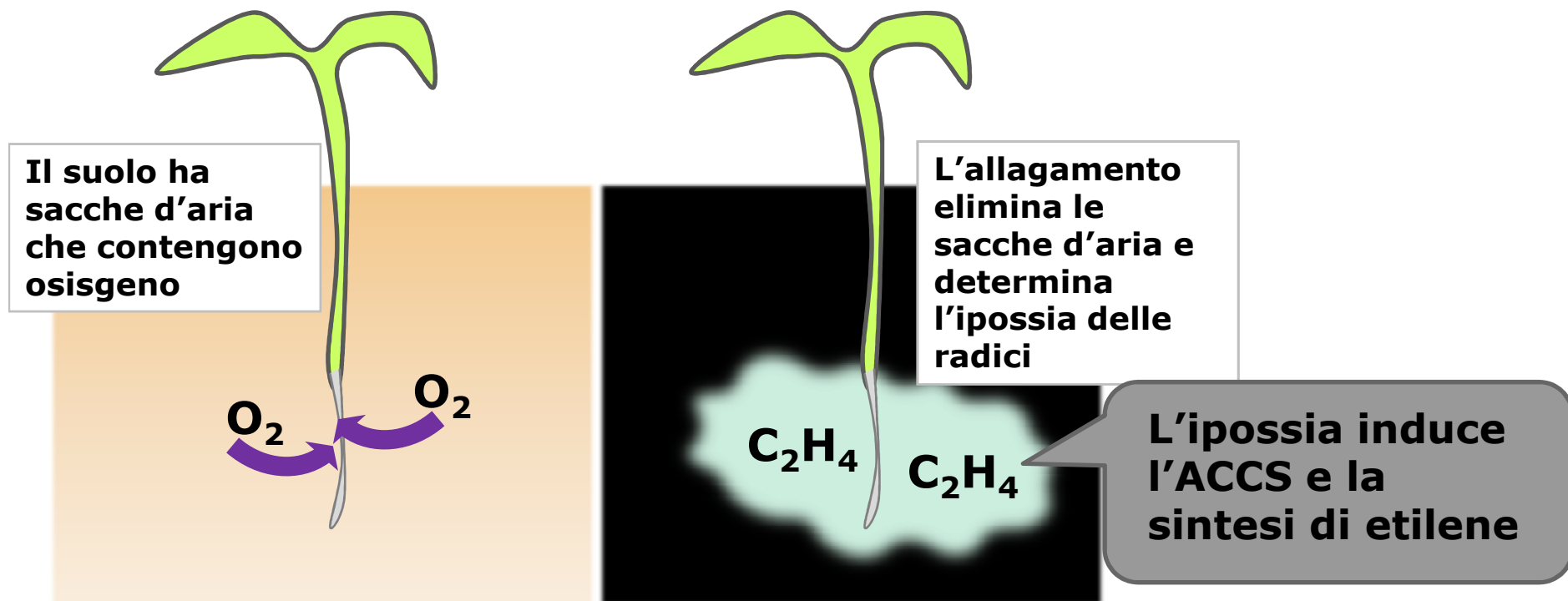
carattere	esempi
perdita meccanismi di dispersione dei semi	Mais, frumento, legumi
perdita della dormienza	frumento, riso, avena
passaggio da annua a perenne	riso, segale, manioca
perdita produzione frutti	patata, igname
perdita produzione semi	banana, agrumi
aumento del volume di semi	fagioli
frutti	zucchine
organi di riserva	manioca, carota

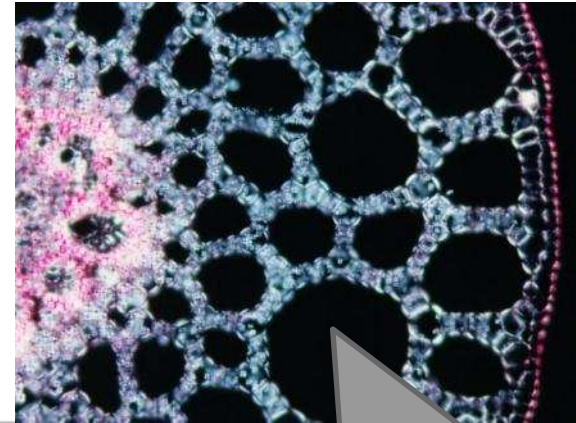
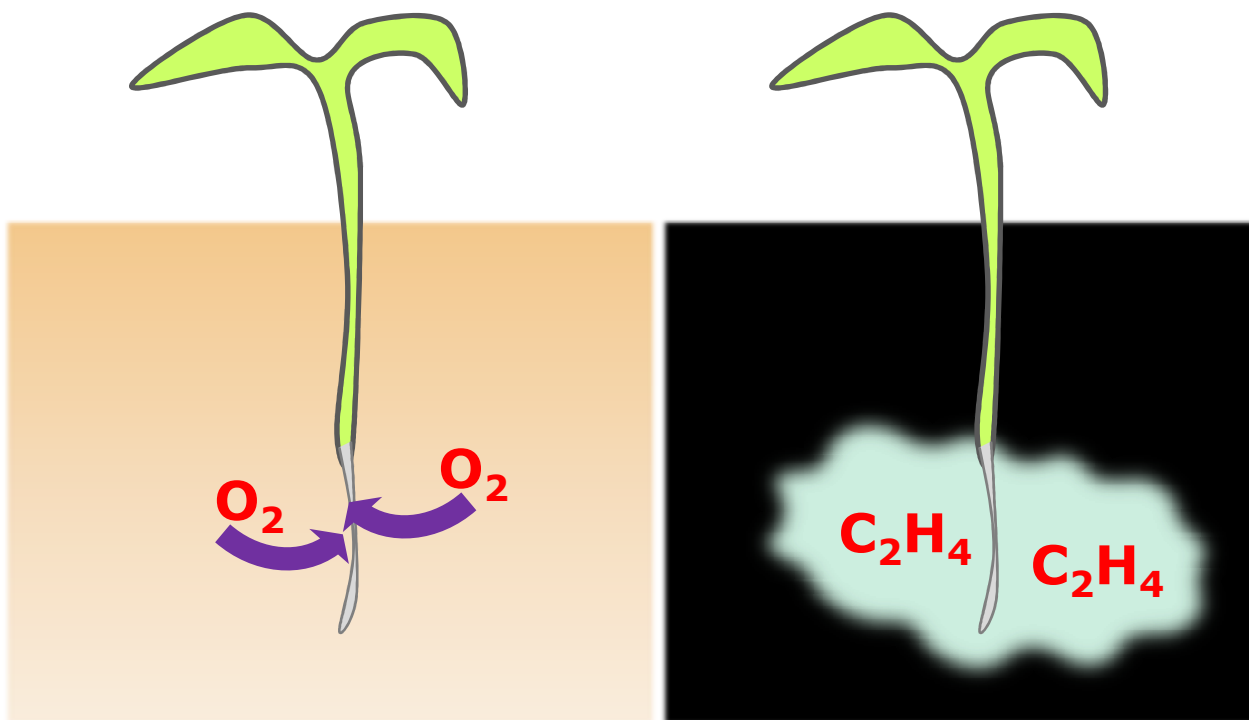
EPINASTIA FOGLIARE

(B) Epinastia fogliare



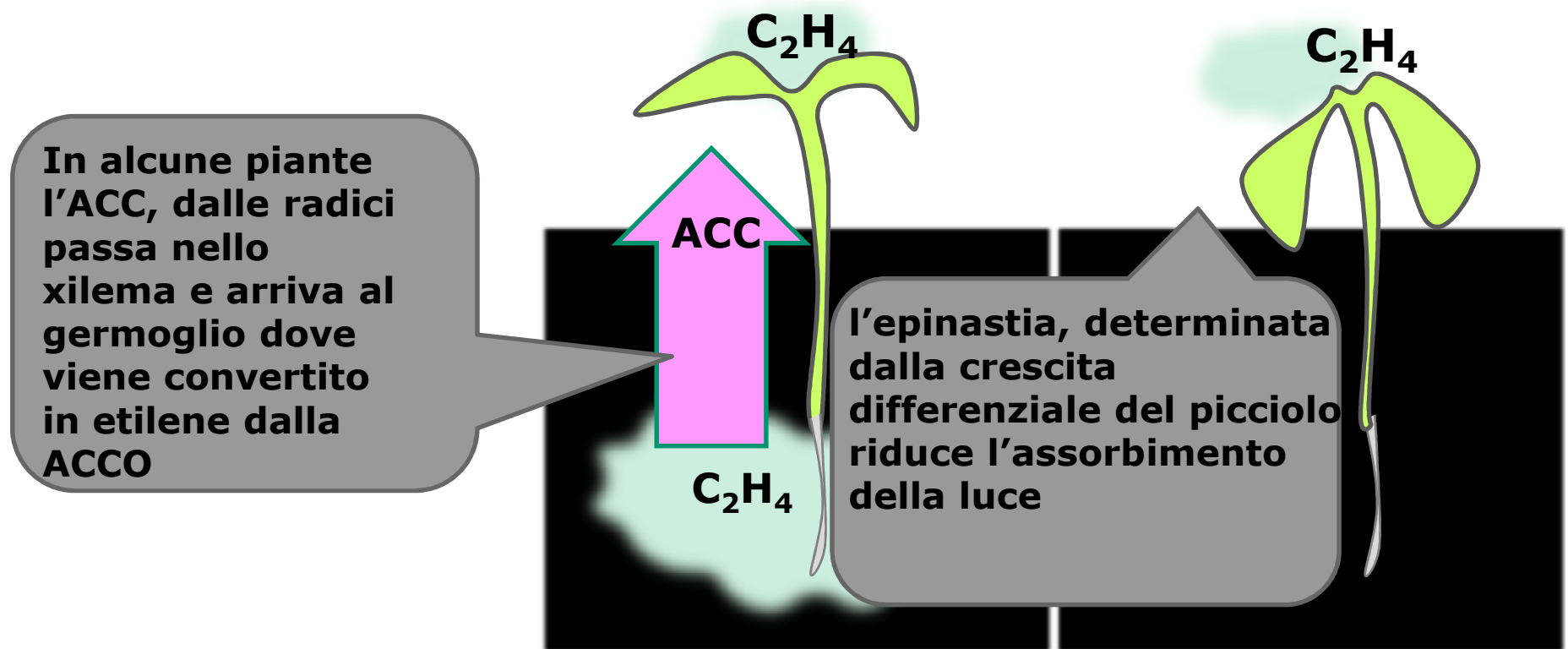
L'ipossia causata dall'allagamento incrementa la sintesi di etilene





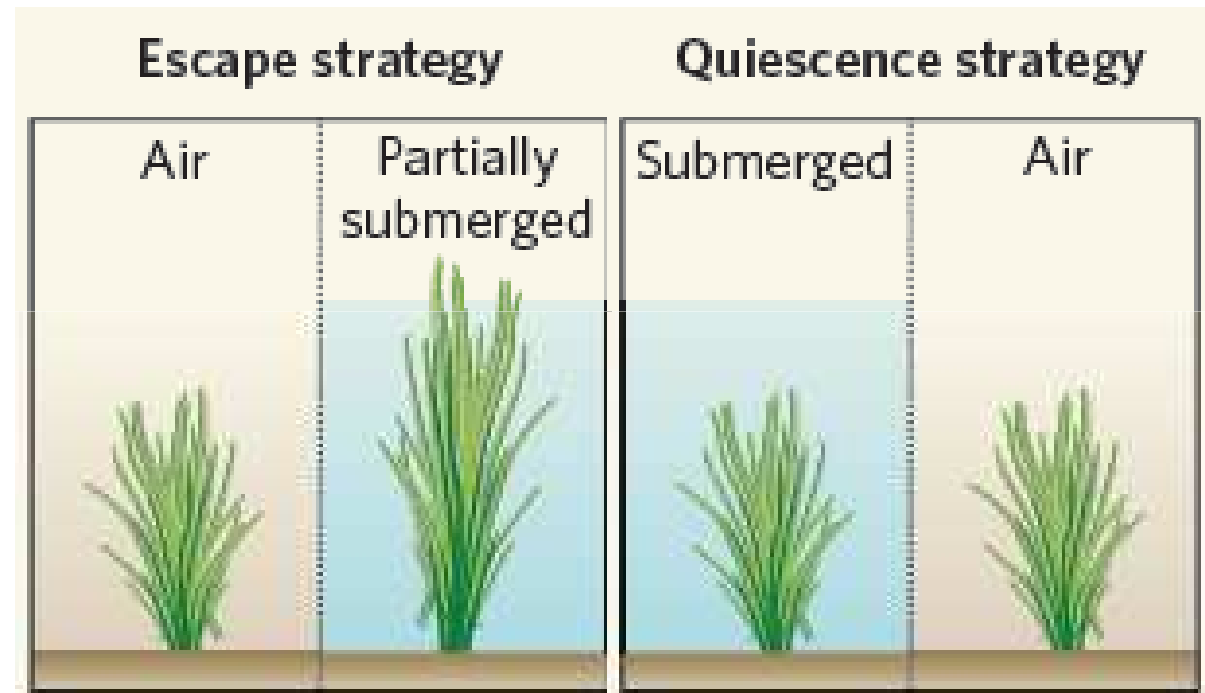
**In alcune piante
L'etilene induce la
morte cellulare e
la formazione di
canali aeriferi
attraverso i quali
l'ossigeno arriva
alle radici**

L'ACC muovendosi dalle radici alle foglie determina l'epinastia

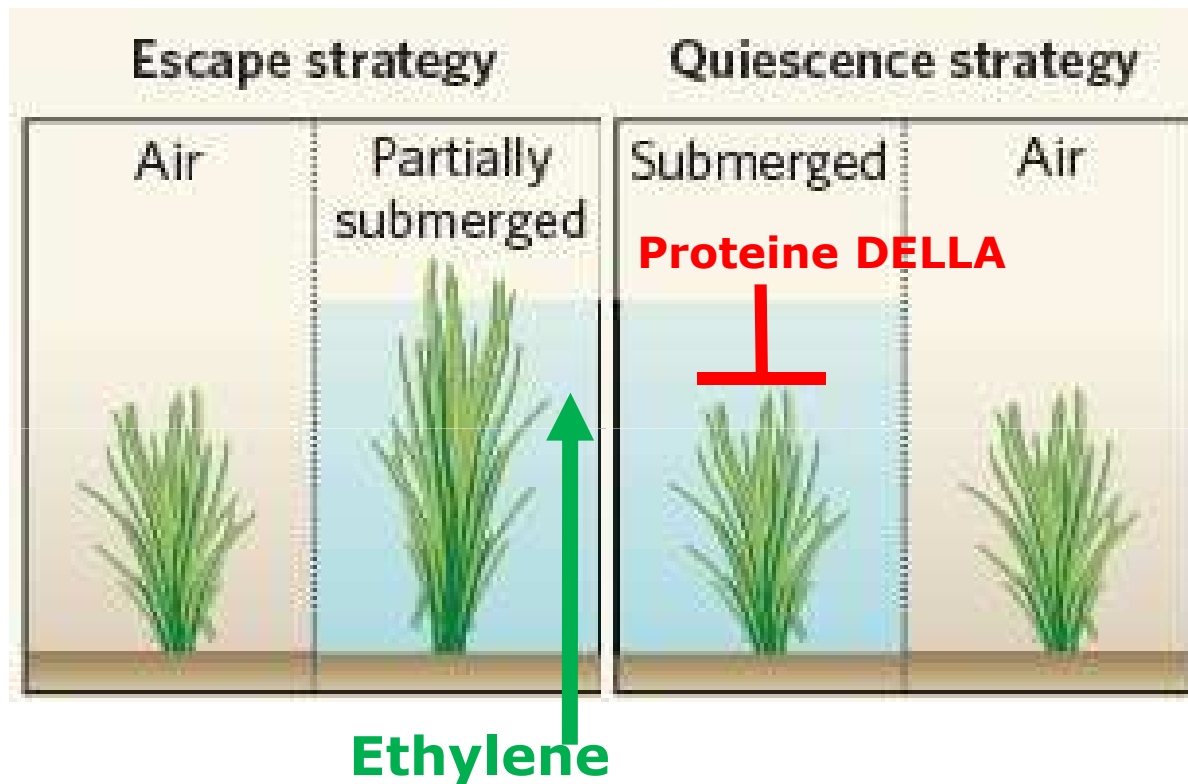


Il riso è coltivato in regioni soggette ad allagamento

L'allagamento prolungato causa la morte di molte varietà di riso ma alcune tolleranti sopravvivono grazie ad una risposta di fuga o di quiescenza

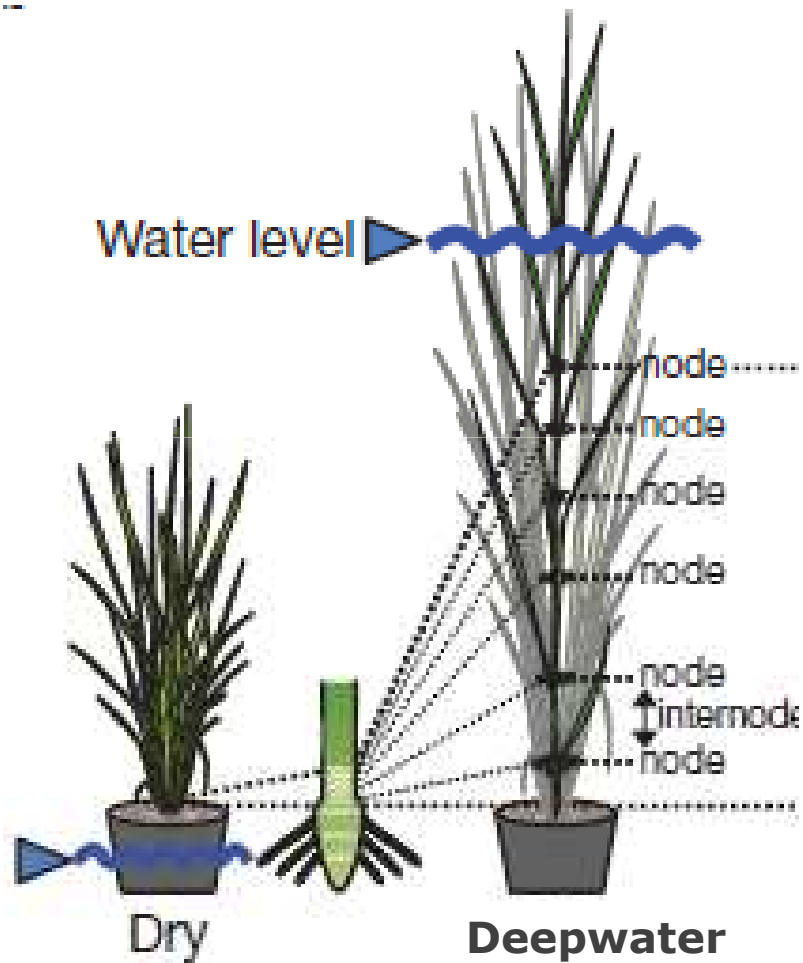


La strategia di fuga è una risposta all'etilene



Si determina un aumento di sensibilità alle gibbereline che stimolano l'allungamento del fusto; l'aumento di sensibilità si pensa sia dovuto ad una riduzione della concentrazione di ABA che agisce come antagonista delle gibberelline

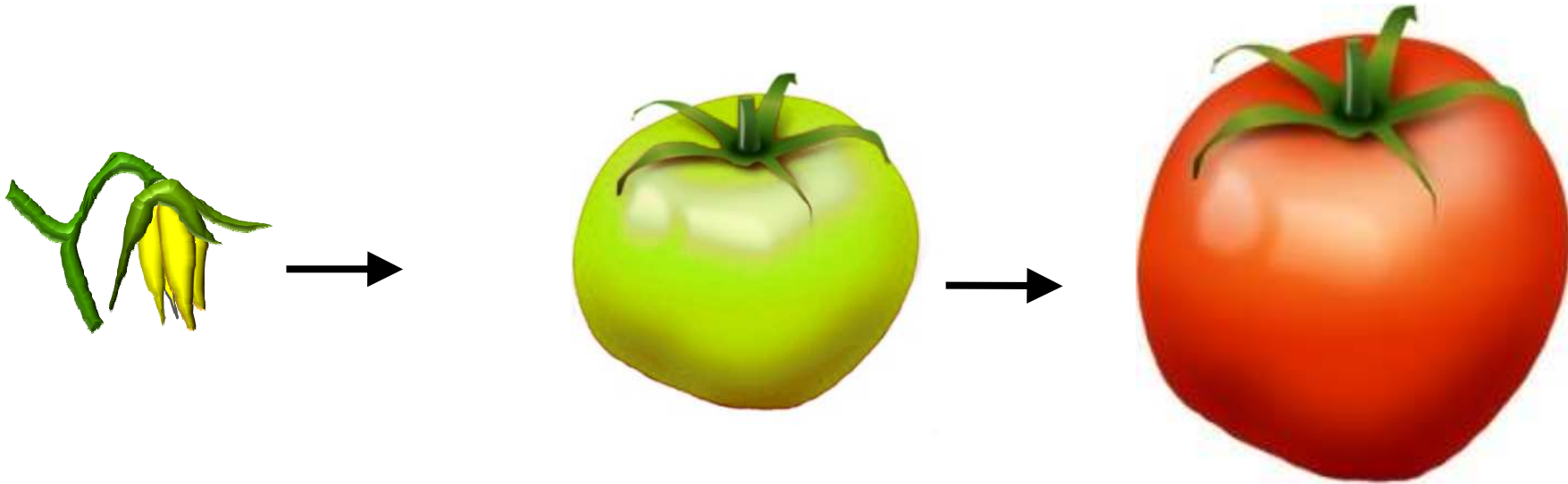
Nel riso a fusto lungo l'etilene induce l'allungamento degli internodi



**Queste piante
quando sono
sommerse
possono
crescere anche
fino a 15 mt**

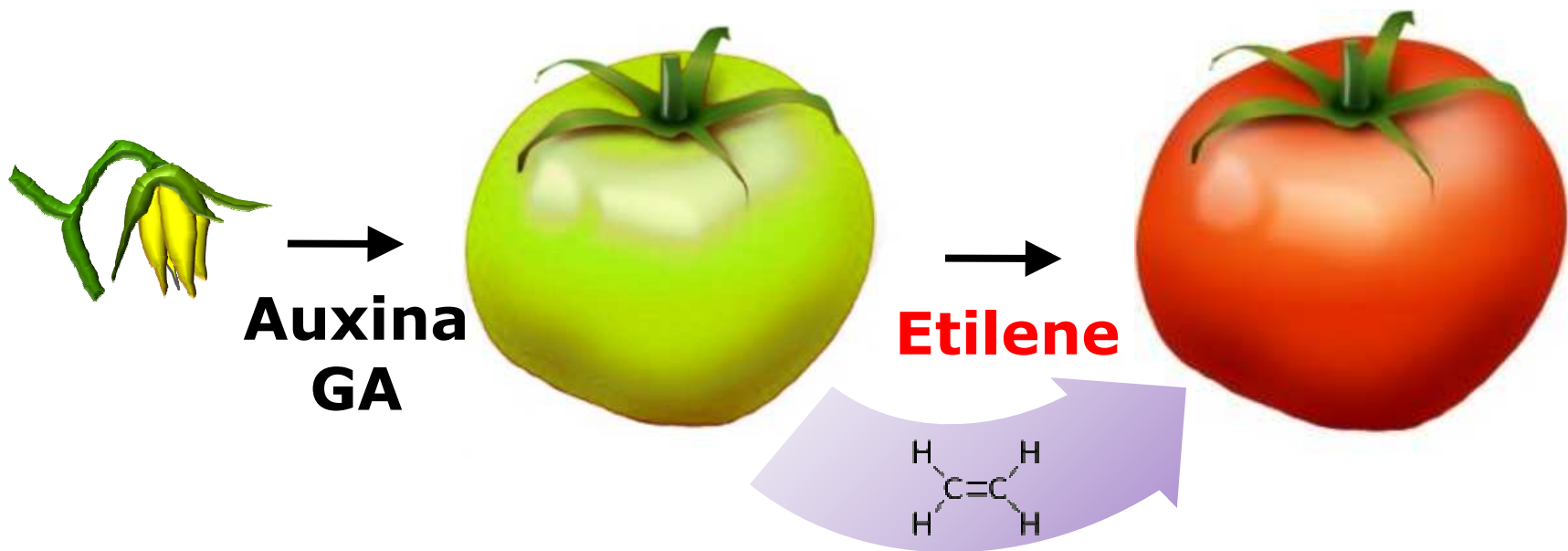
MATURAZIONE DEI FRUTTI

lo sviluppo del frutto e la maturazione sono sotto controllo ormonale

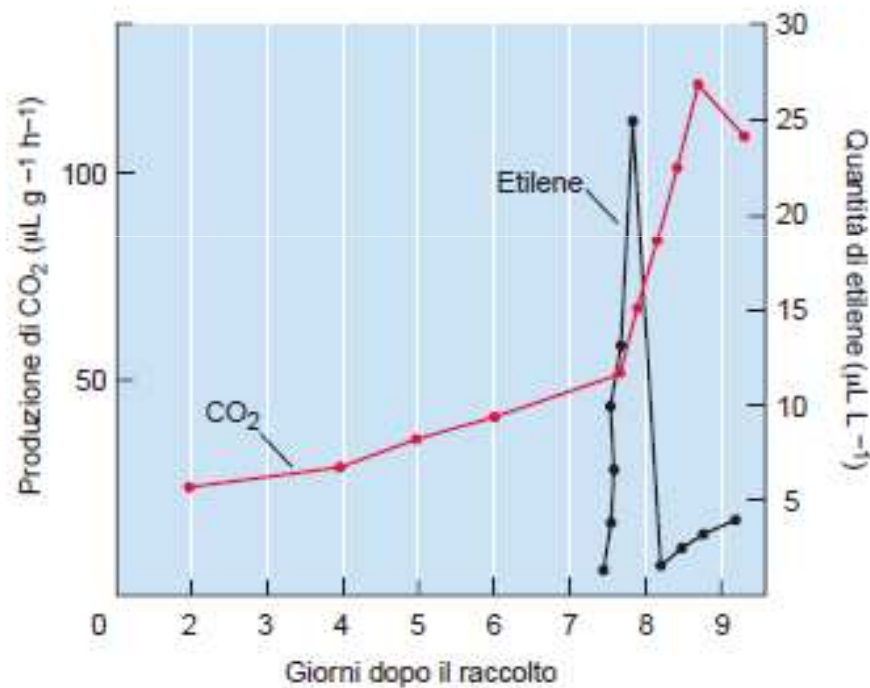


L'impollinazione dà inizio alla senescenza dei petali e alla divisione ed espansione cellulare nell'ovario con formazione del frutto e maturazione





L'etilene promuove la maturazione dei frutti climaterici



Banana: picco respiratorio (climaterio) che precede la maturazione

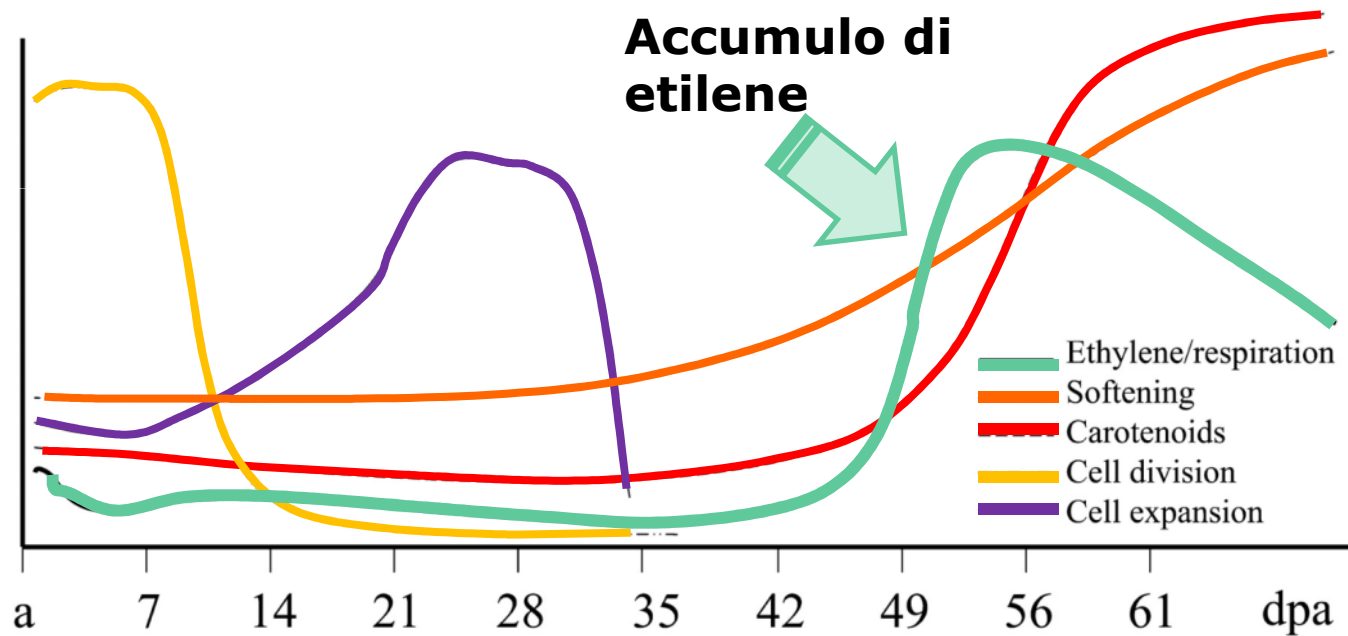
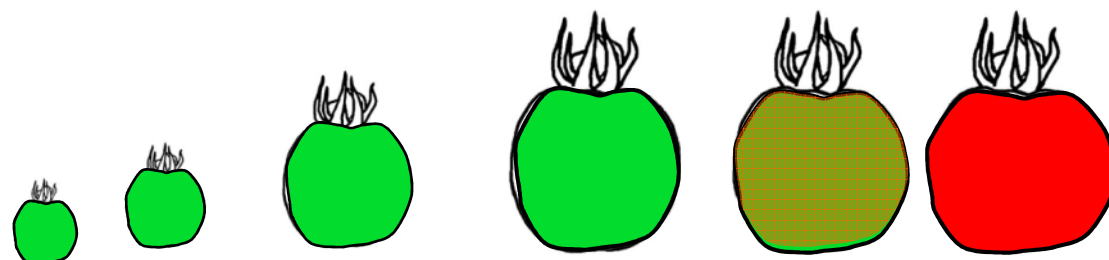


TABELLA 22.1
Frutti climaterici e non climaterici

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



**Una mela marcia rovina
tutto il cesto**

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

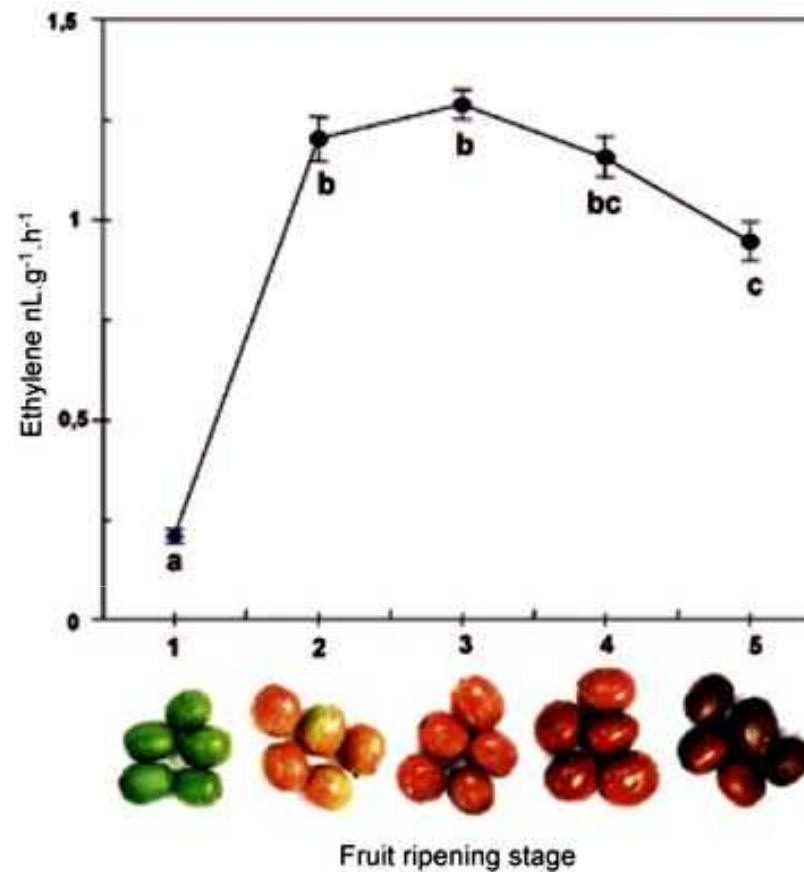
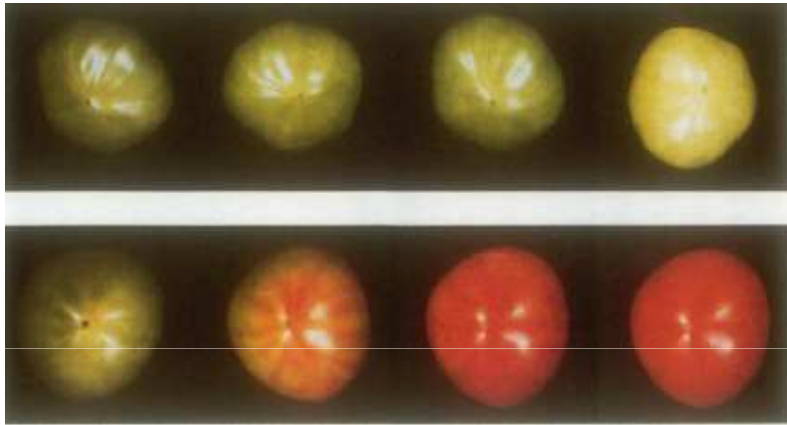


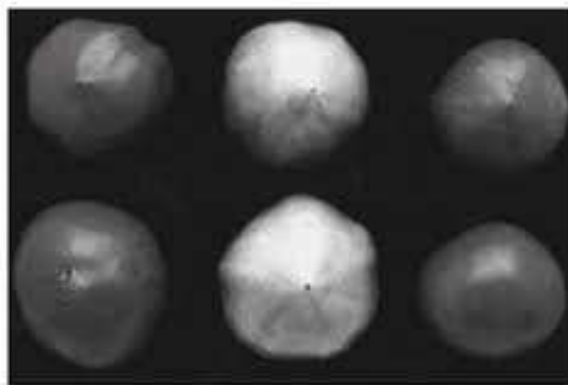
Figure 1. Ethylene production in *C. arabica* fruits during ripening. Ethylene production in coffee fruits was measured using gas chromatography. Bars represent standard errors of three replicates. Images below the X-axis show the fruit ripening stages: 1) green; 2) yellow-red; 3) red; 4) cherry; 5) dark-cherry. Different letters indicate significant differences using the LSD (0.05) test.

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



Antisense ACC sintasi

Controllo



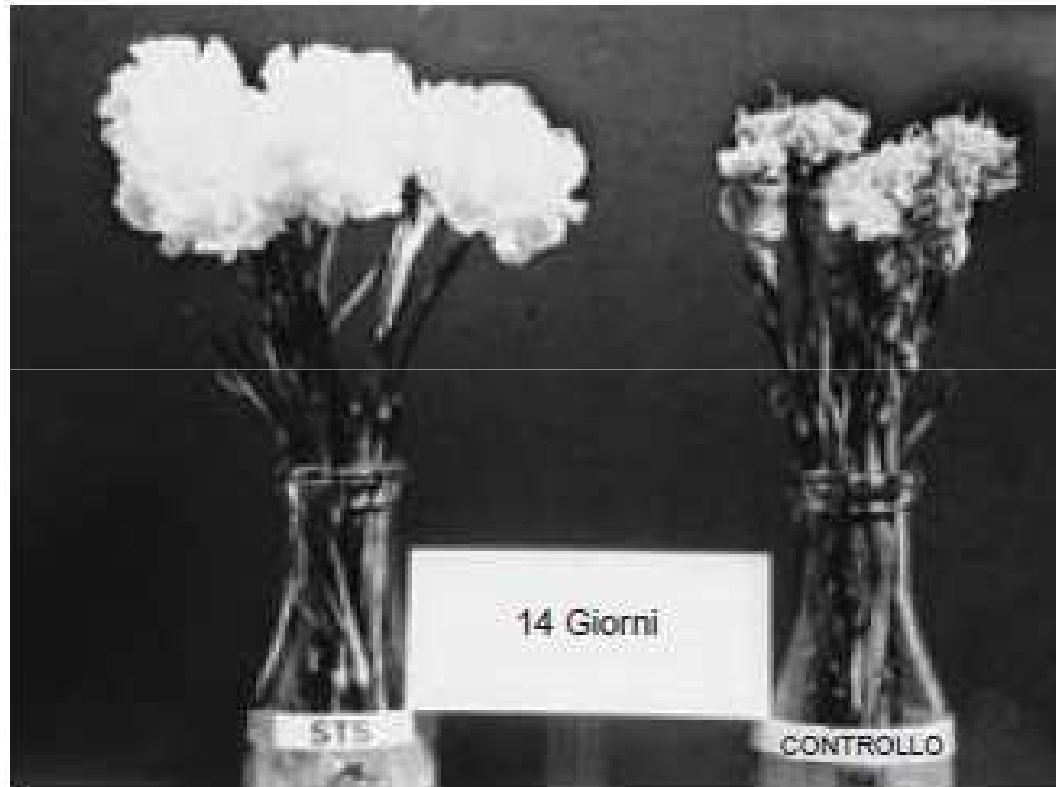
ACC-Anti-sense fruit
+ ethylene

ACC-Anti-sense fruit

Normal fruit

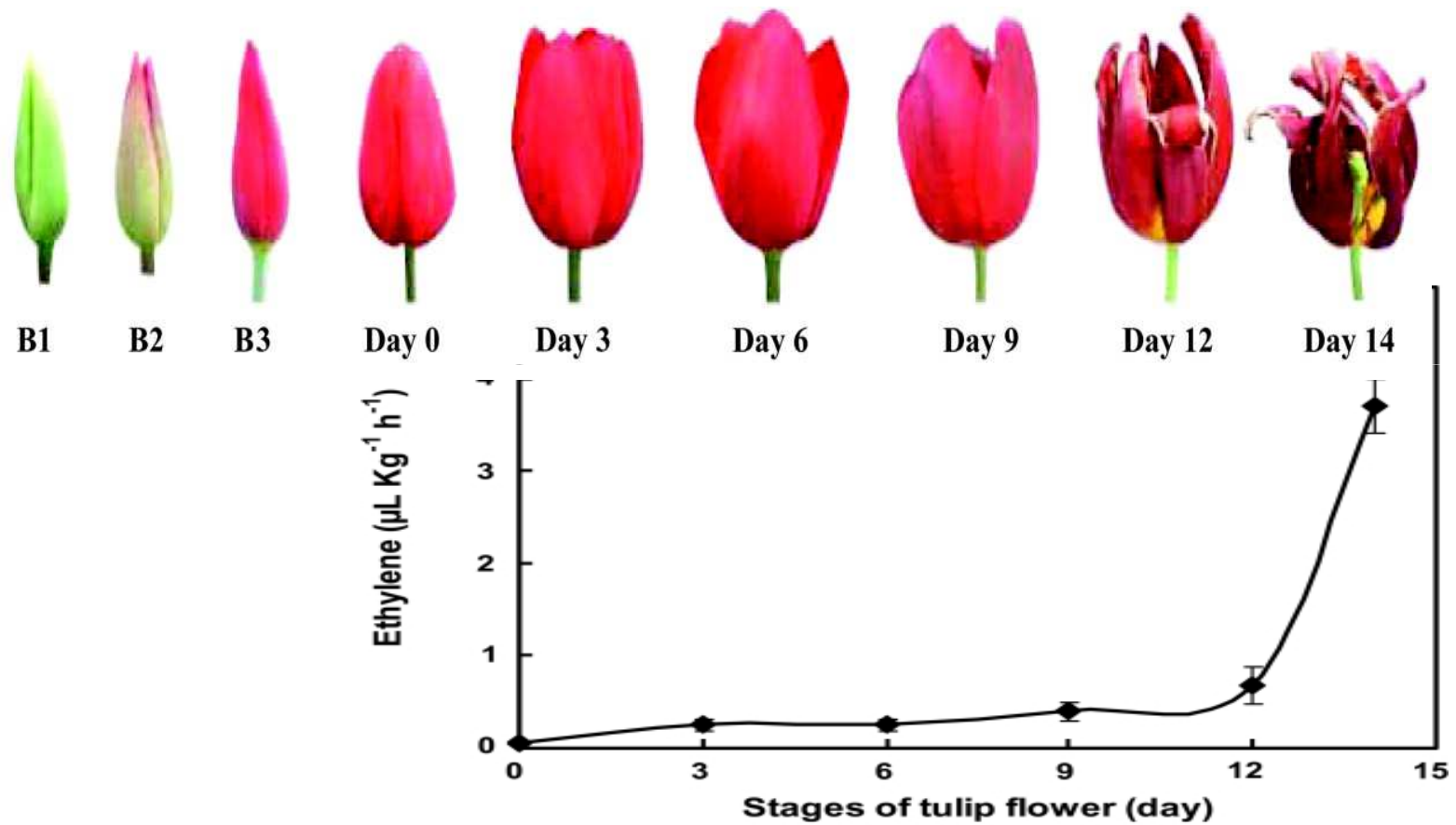
Senescenza florale

(C) Senescenza florale



+ tiosolfato di argento
inibitore azione dell'etilene

(a)



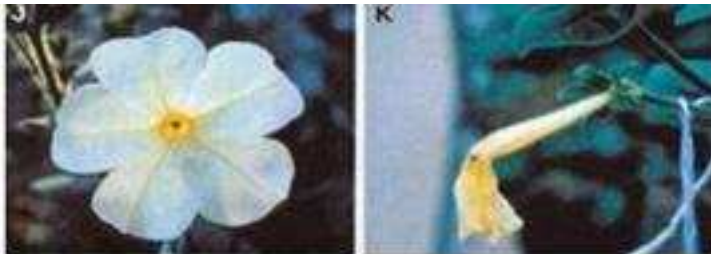
Azad, A.K., Ishikawa, T., Ishikawa, T., Sawa, Y., and Shibata, H. (2008). Intracellular energy depletion triggers programmed cell death during petal senescence in tulip. *J. Exp. Bot.* 59: [2085-2095](#), by permission of Oxford University Press.

Metodi chimici e genetici per prolungare la vita dei petali

STS and CACP inibiscono il legame dell'etilene al recettore



Wild-type



etr1-1



0

3

8

Giorni dopo l'impollinazione

L'espressione dell'allele mutante *etr1-1* reprime la risposta all'etilene

Determinazione del sesso nel cetriolo



ermafrodito

maschio

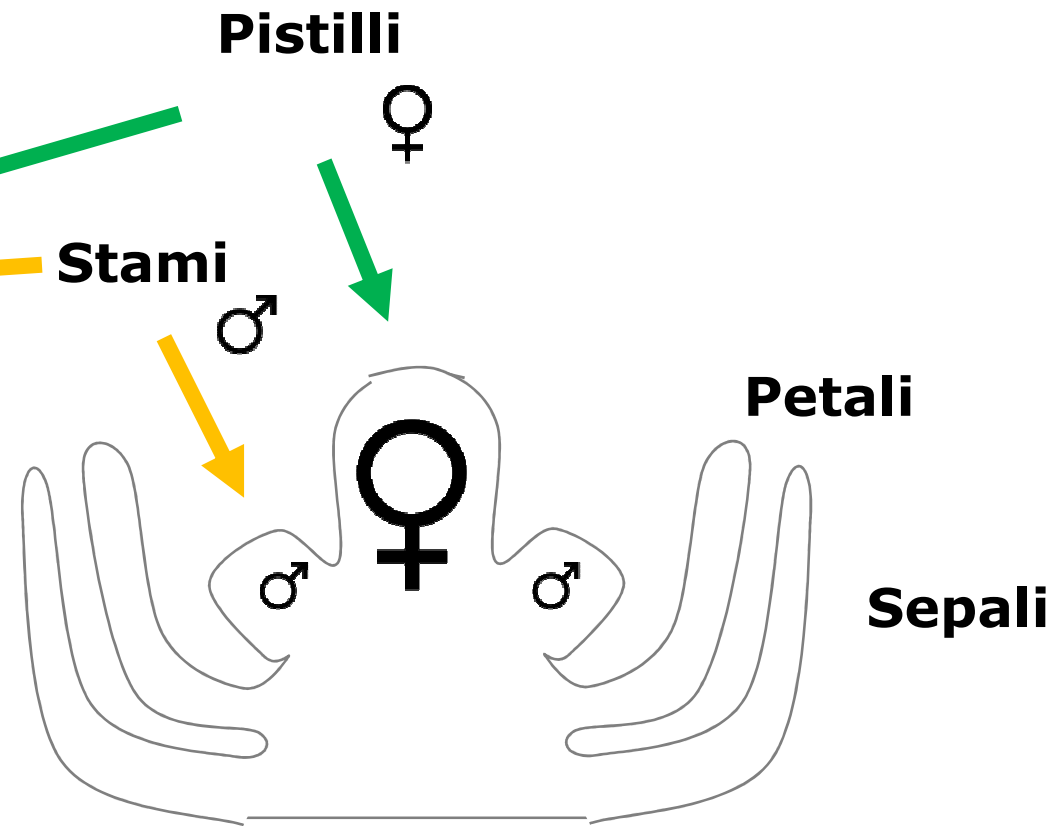
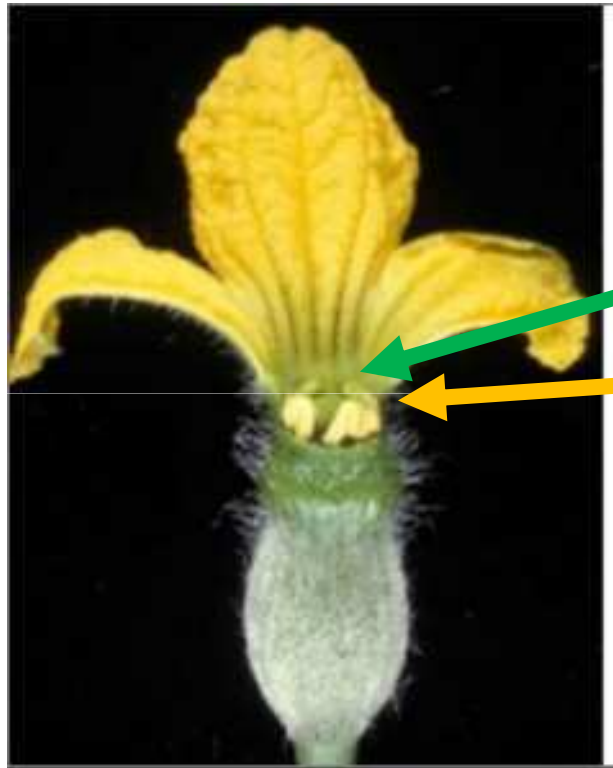
femmina



Fiori imperfetti (non ermafroditi) possono portare ad un aumentato outcrossing e ad un aumento della fitness

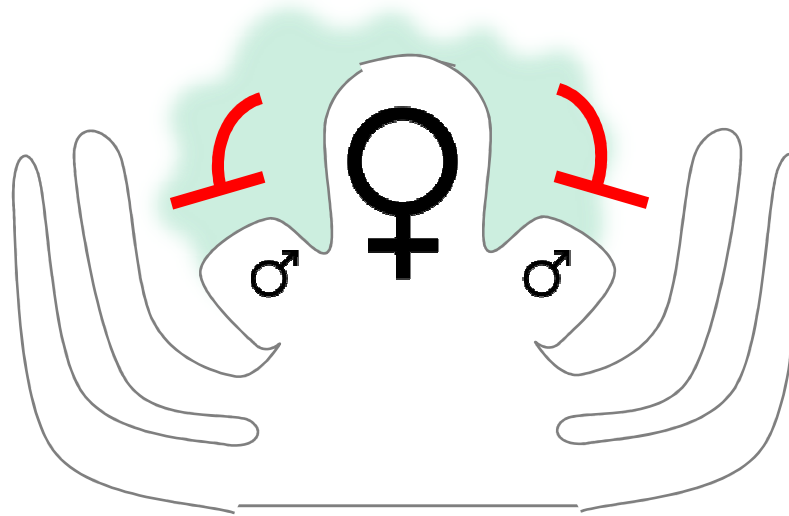


I fiori femminili si formano per aborto dei
primordi degli stami

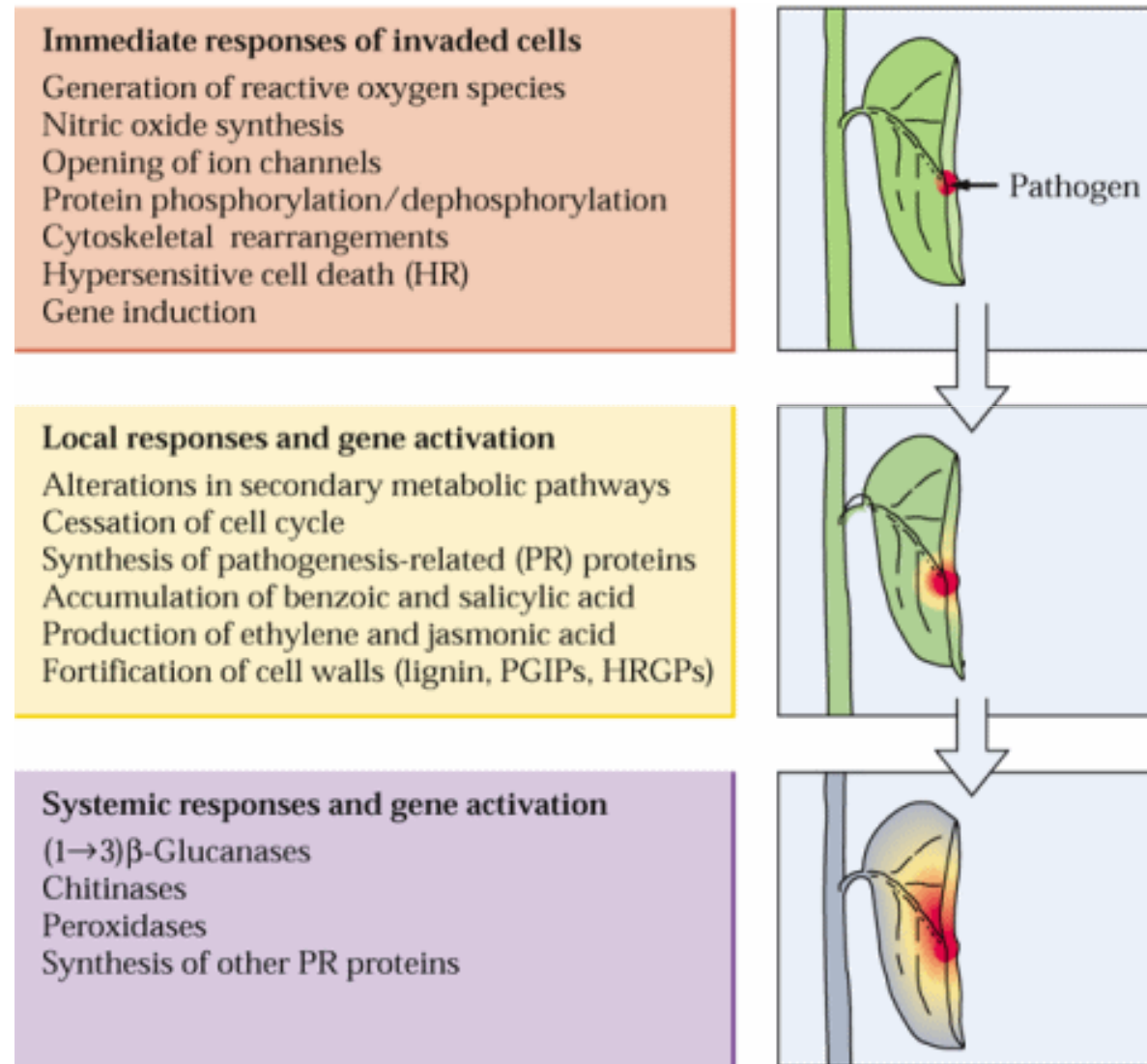


Tra i geni che influenzano la determinazione del sesso ci sono le ACCS

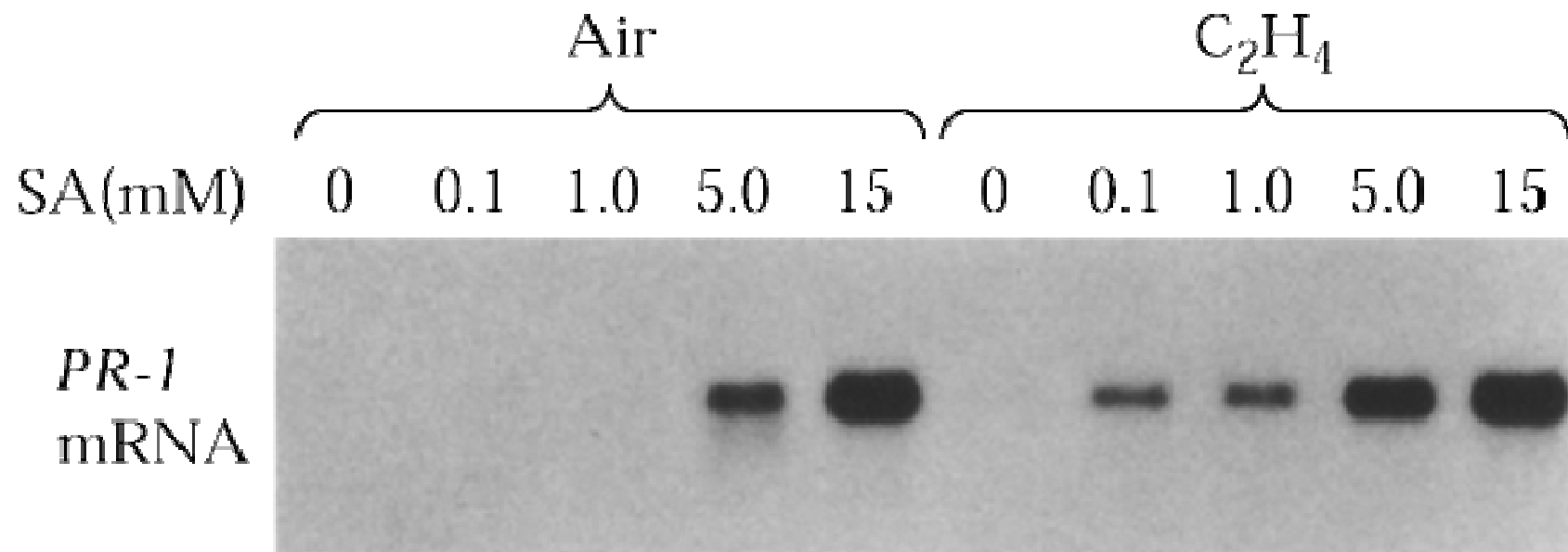
Elevati livelli di etilene correlano con la inibizione dello sviluppo dei primordi degli stami



La produzione di etilene aumenta in risposta ad attacchi di organismi patogeni



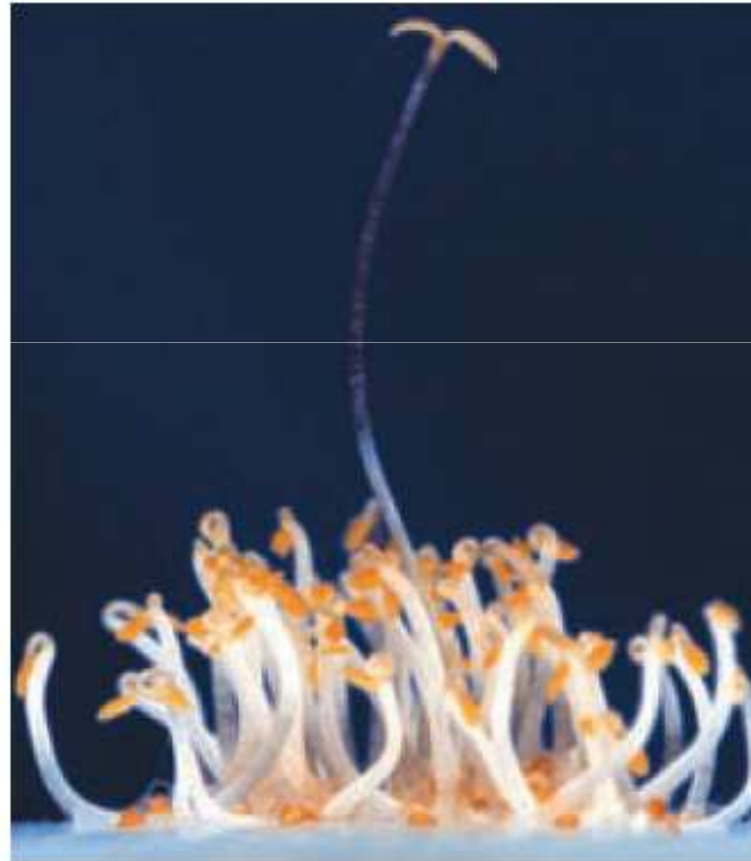
Effetto cooperativo di etilene e acido salicilico sull'accumulo del mRNA della proteina di patogenesi PR-1



TRASDUZIONE DEL SEGNALE

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

semi mutagenizzati fatti germinare in presenza di etilene



Mutante *etr1-1* insensibile a etilene (mutazione gain of function)

Negli anni 80 uno screening genetico ha portato Bleecker, Kende e colleghi alla dissezione molecolare della via di trasduzione dell'etilene

Risposta tripla normale

Assenza di risposta all'etilene



Bleecker, A.B., Estelle, M.A., Somerville, C., and Kende, H. (1988). Insensitivity to ethylene conferred by a dominant mutation in *Arabidopsis thaliana*. Science 241: [1086-1089](#) reprinted with permission from AAAS; photo by Kurt Stepnitz, Michigan State University.

Molti componenti della via di trasduzione sono stati identificati geneticamente

Etilene insensibili
Assenza della risposta tripla

Mutanti etilene insensibili

etr1 etr2 ein4
ein2 ein3 ein5 ein6



C₂H₄

Risposta tripla costitutiva;
cioè anche in assenza di
etilene

Mutanti costitutivi

ctr1



air

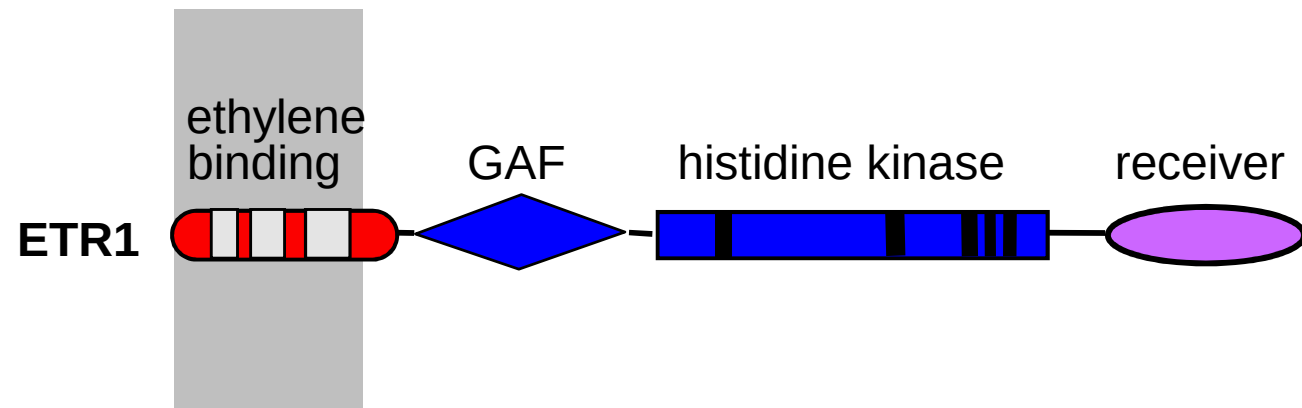
La mutazione *etr1* (Ethylene Response 1) inibisce la risposta all'etilene

ETR 1 codifica per un recettore dell'etilene

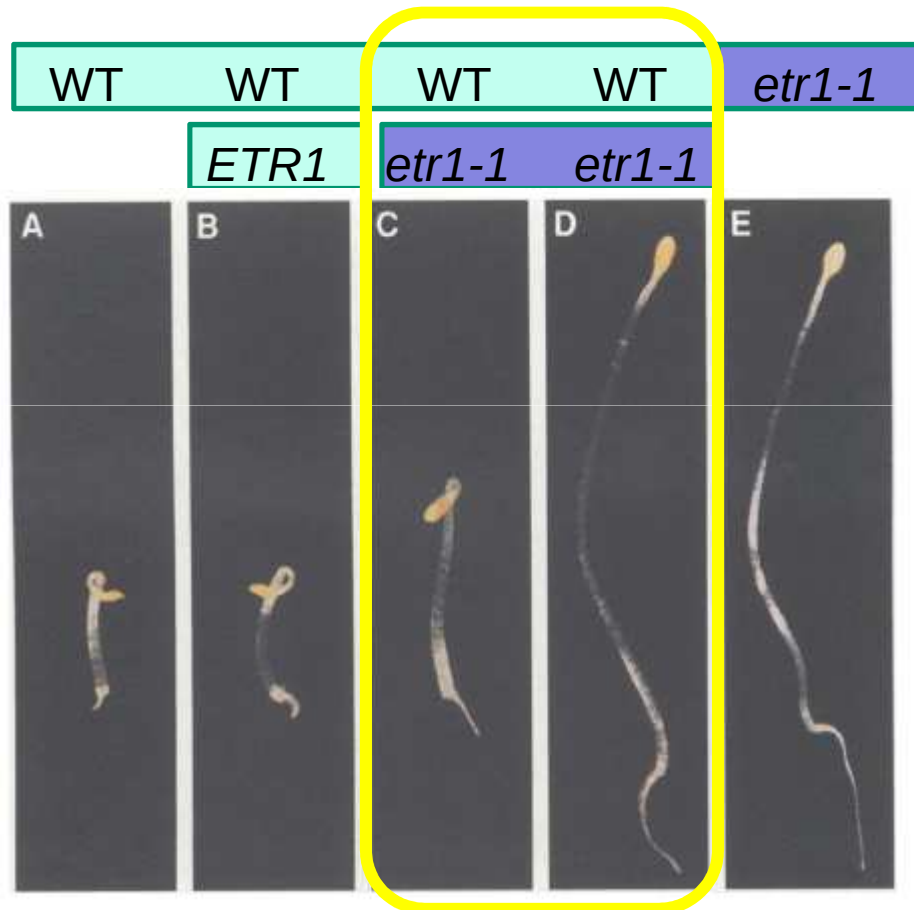


ETR1 è stata il primo recettore di fitormoni ad essere identificato

- ETR1 lega l'etilene
- ETR1 è simile nella sequenza alle istidina chinasi batteriche (sistema a due componenti)
- ETR1 è una proteina di membrana

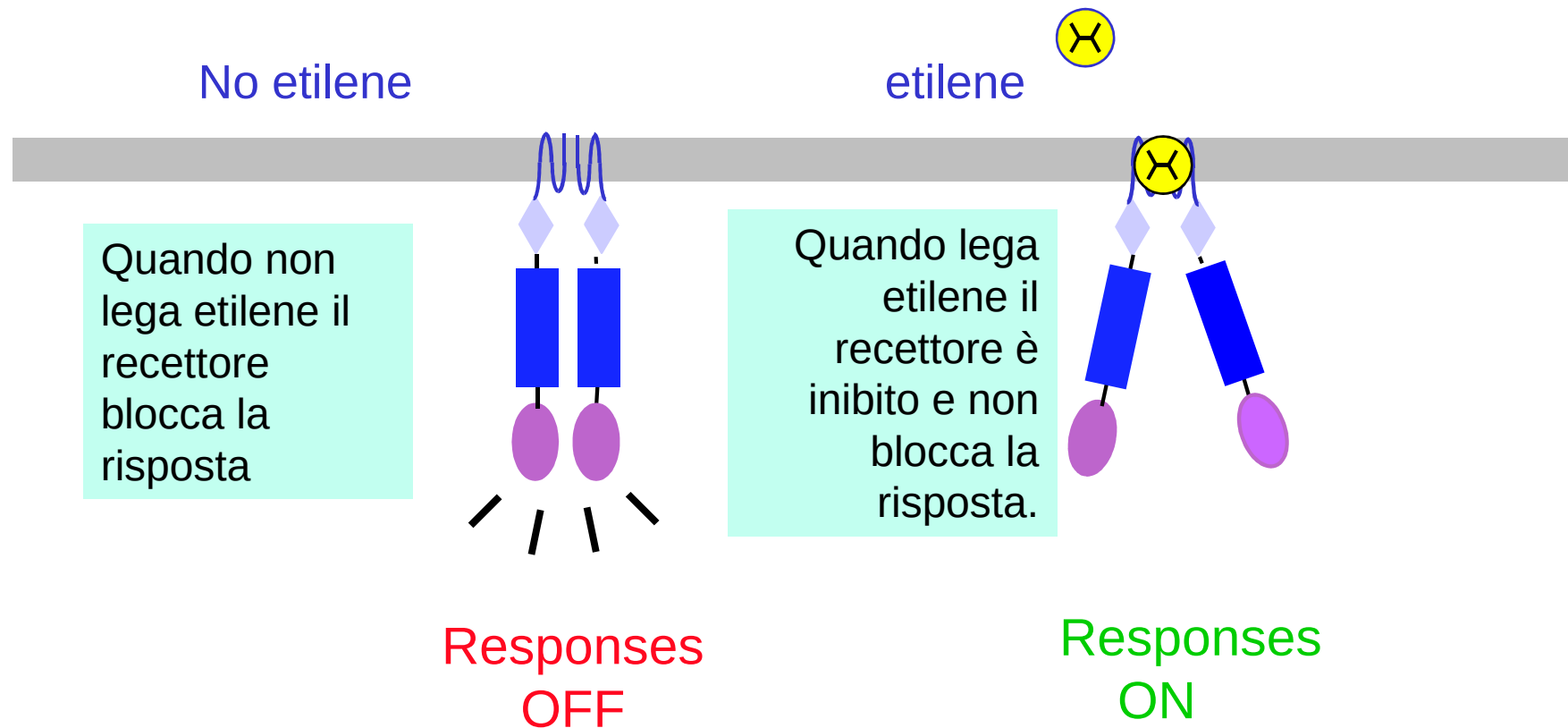


La mutazione *etr1* (-1) è dominante

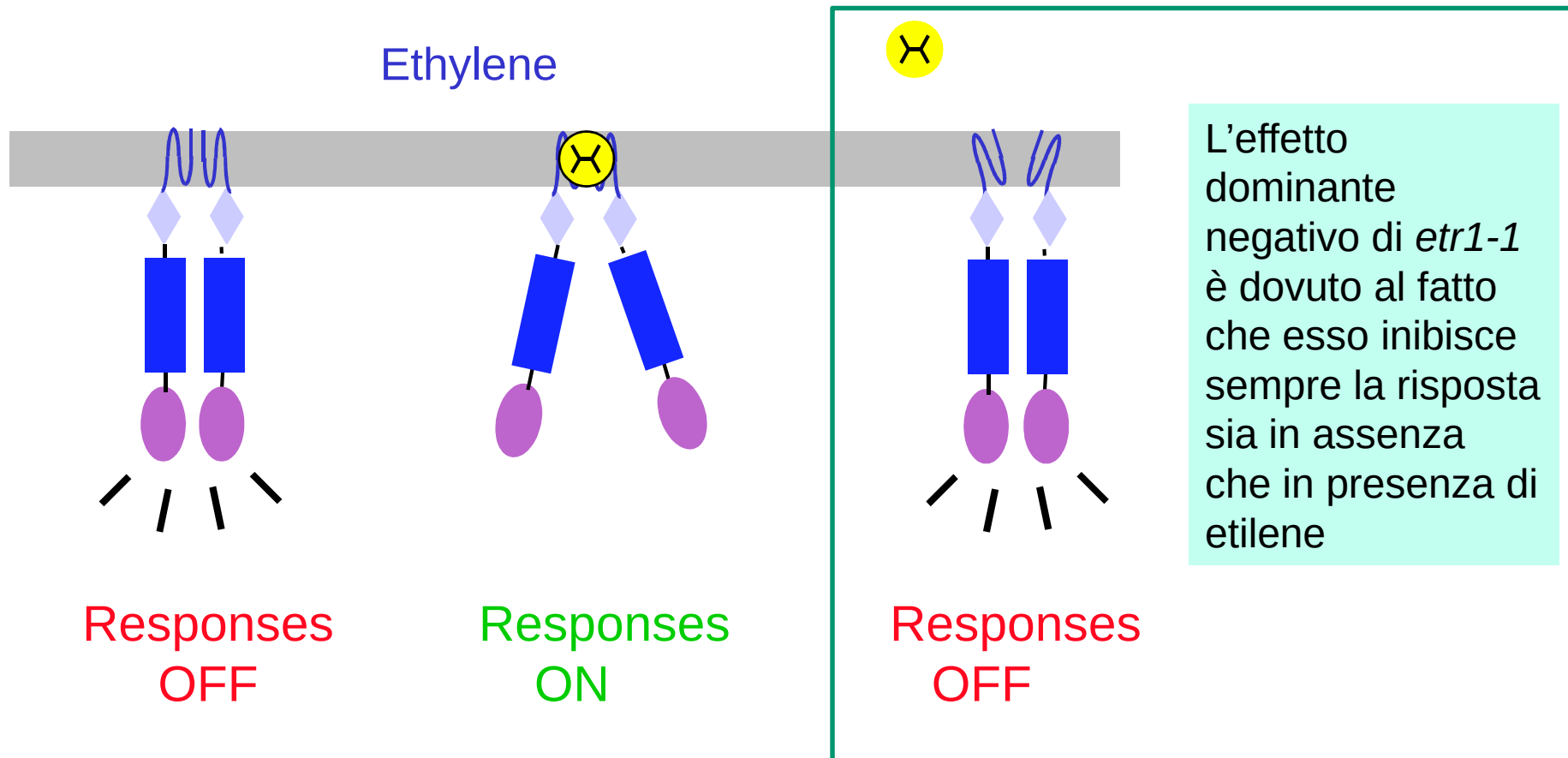


L'introduzione dell'allele mutante *etr1-1* in una pianta wild type produce un fenotipo insensibile all'etilene.

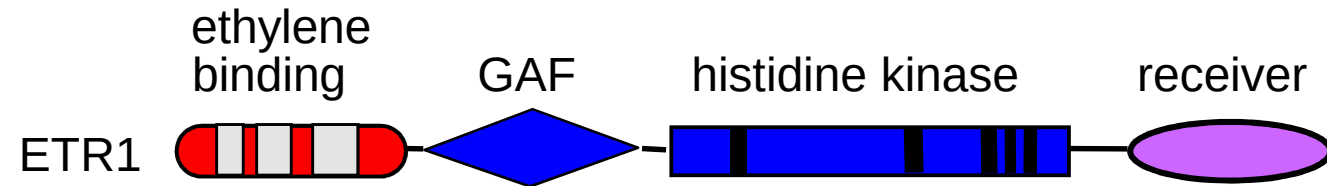
Il recettore regola **NEGATIVAMENTE** la risposta



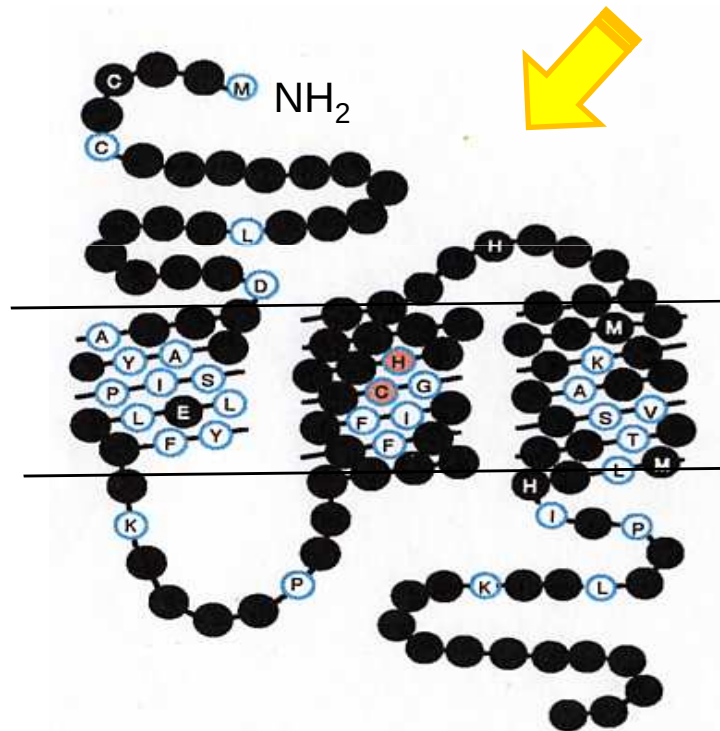
Un recettore che inibisce la risposta è dominante



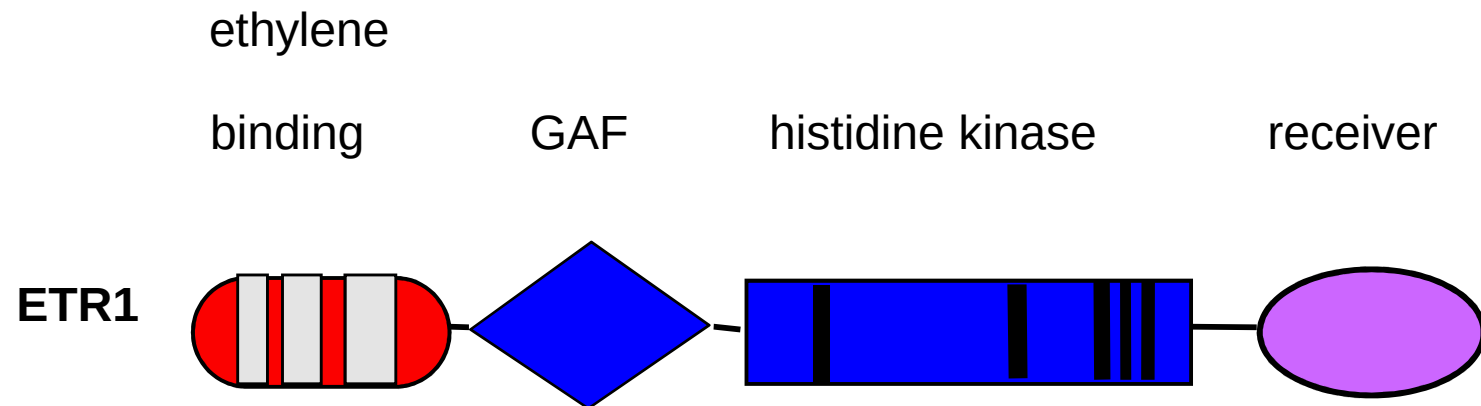
Il dominio di legame dell'etilene



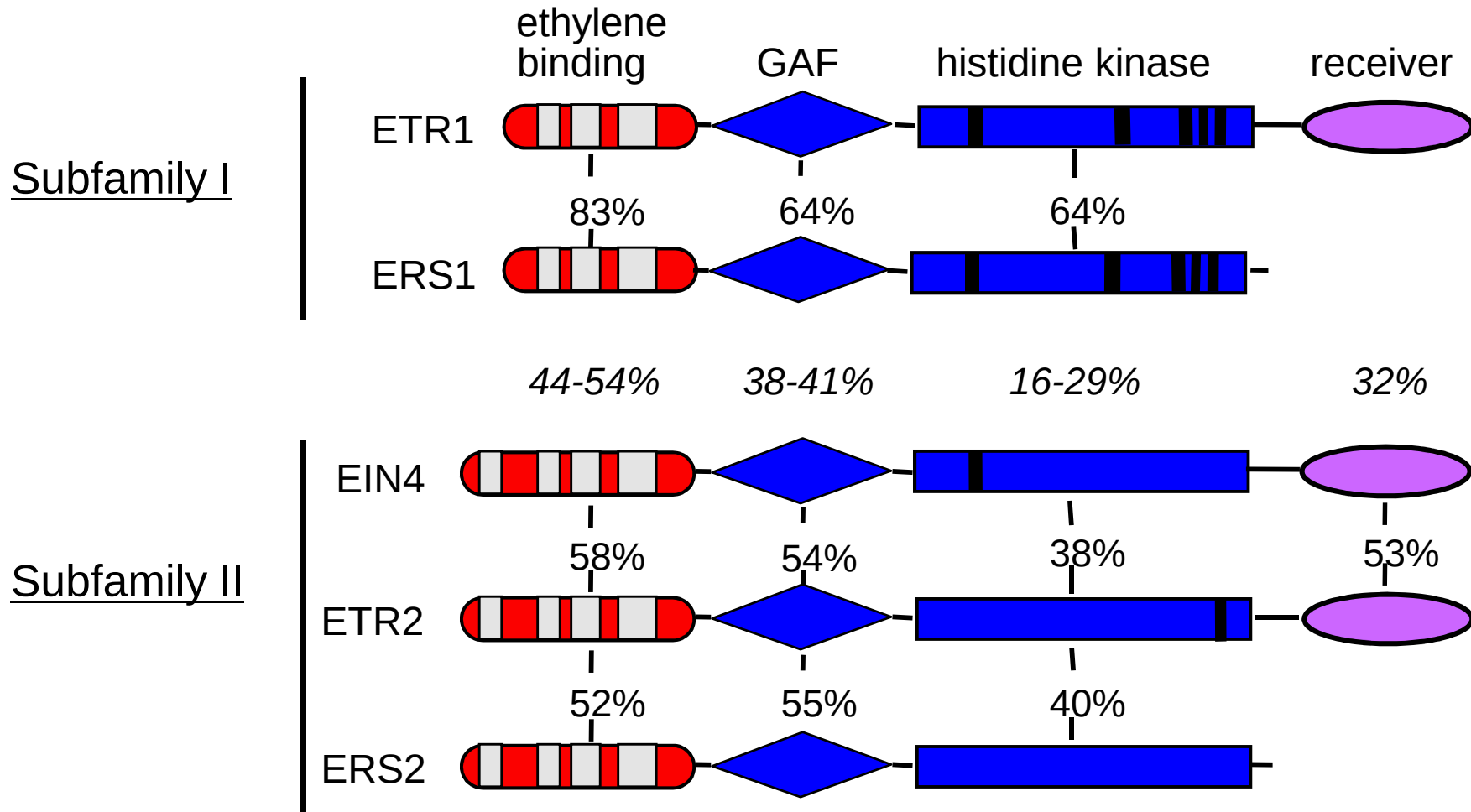
Ci sono 3 segmenti di trans membrana nel dominio di legame dell'etilene di of ETR1 (4 nella sottofamiglia II di recettori)



I recettori dell'etilene di arabidopsis sono omologhi alle istidina chinasi batteriche



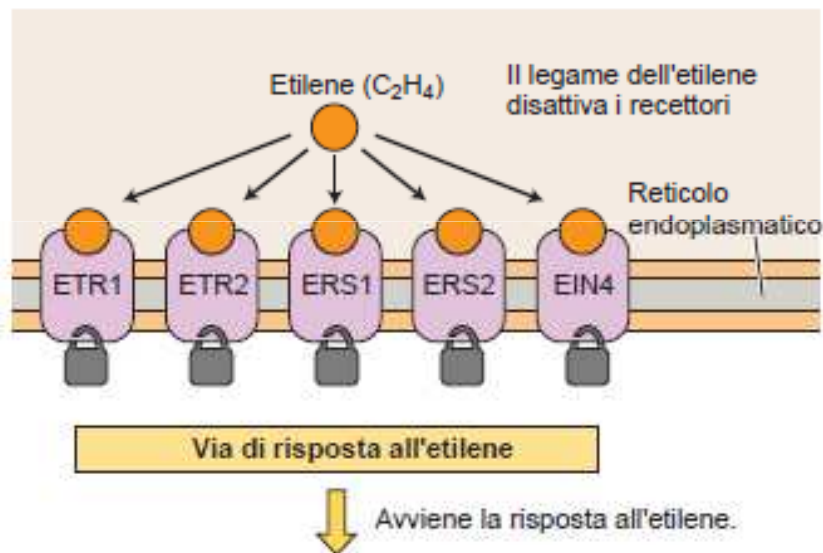
**In arabidopsis sono stati identificati 5 recettori
raggruppabili in due sottofamiglie**



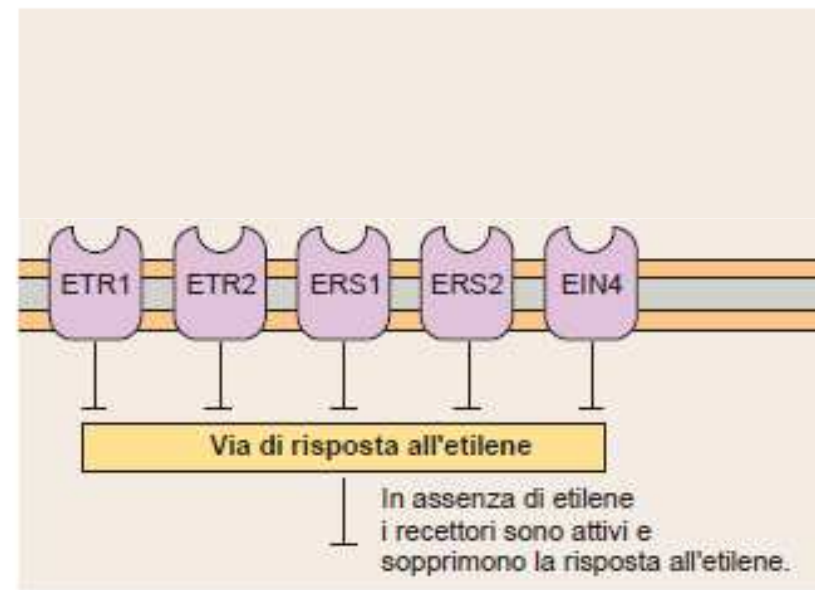
È richiesto rame come cofattore

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

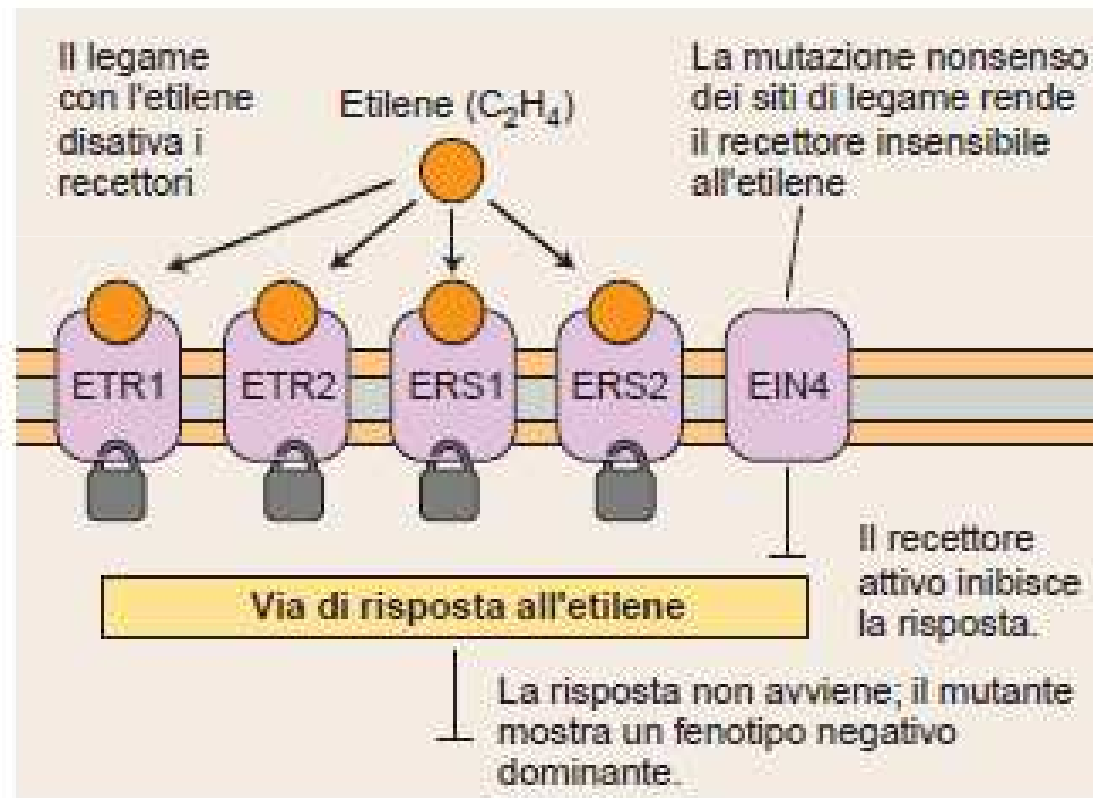
(A)



(B)



Il mutante *ein4* (*etr1*) è incapace di legare etilene e così è attivo anche in presenza di etilene e la via di trasduzione è inibita anche in presenza di etilene (insensibilità all'etilene) e delle altre classi di recettori non mutati

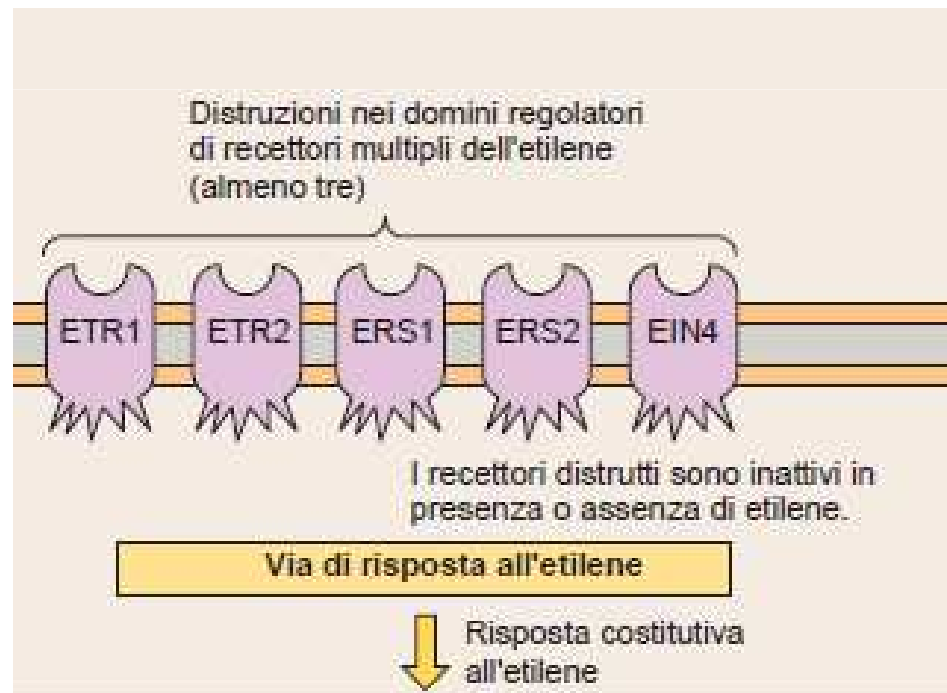


Mutazione dominante: gain of function

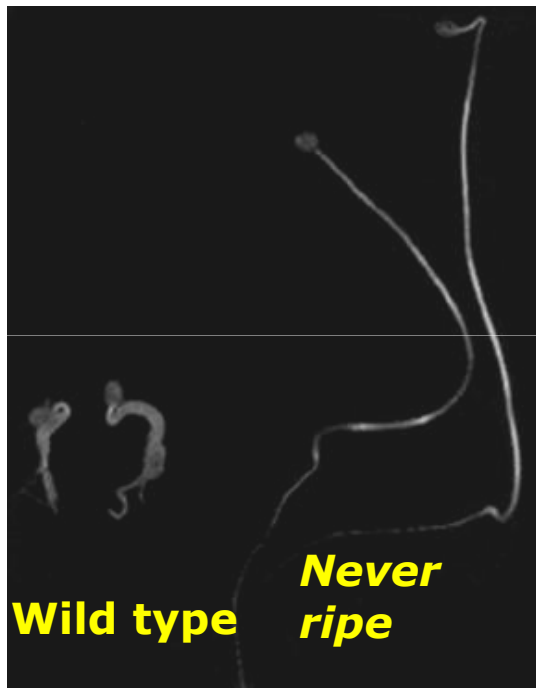
I recettori per l'etilene sono RIDONDANTI

mutazioni per perdita di funzione su un singolo recettore non producono un fenotipo evidente

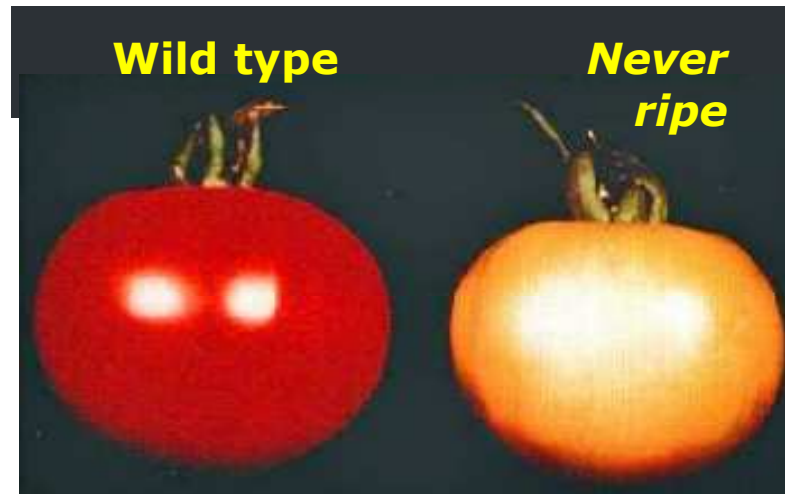
Mutazioni recessive multiple producono un fenotipo con risposta costitutiva all'etilene



Recettori dell'etilene mutanti sono stati identificati anche in altre piante

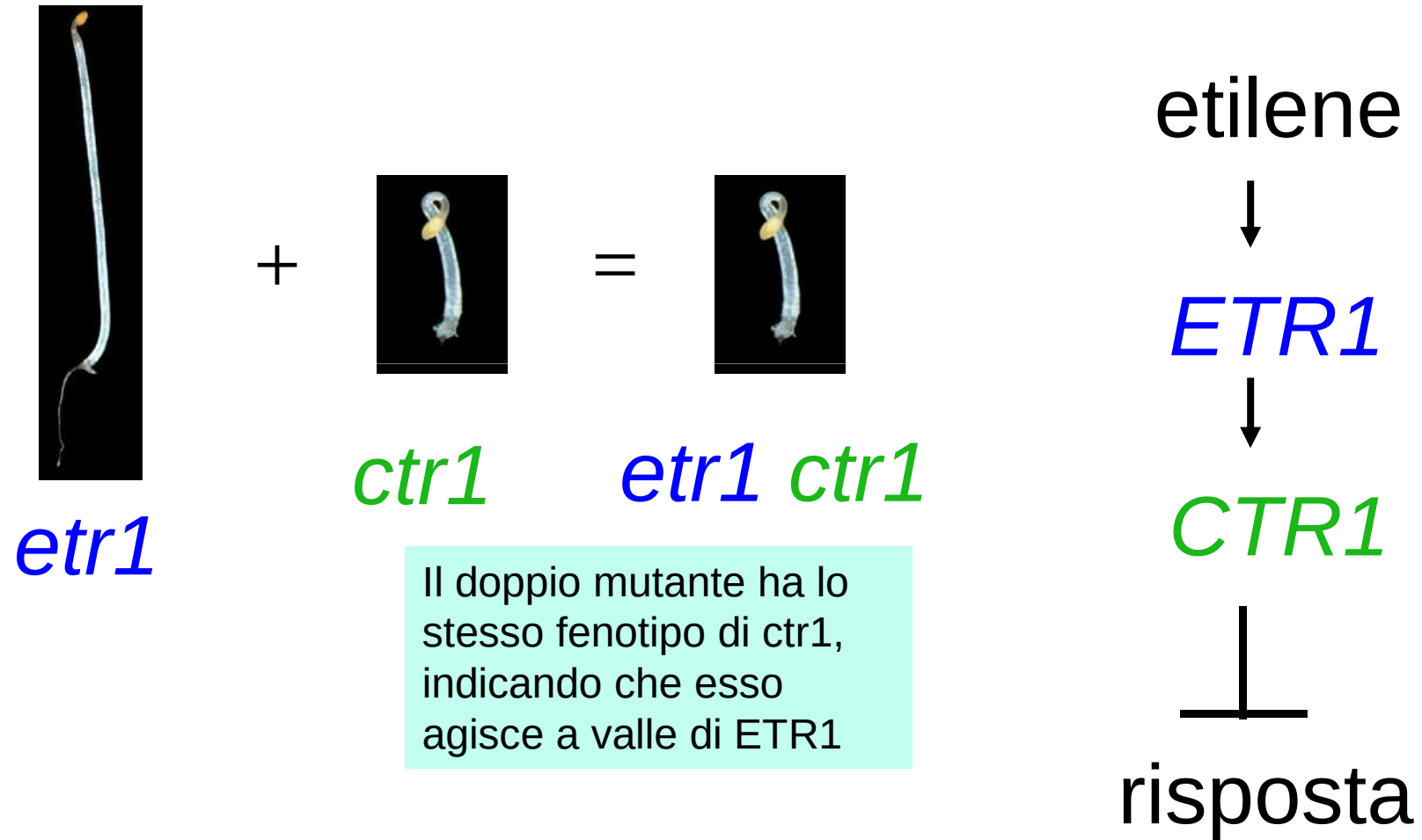


Il mutante di pomodoro never ripe ha un fenotipo insensibile all'etilene, dominante come *etr1*

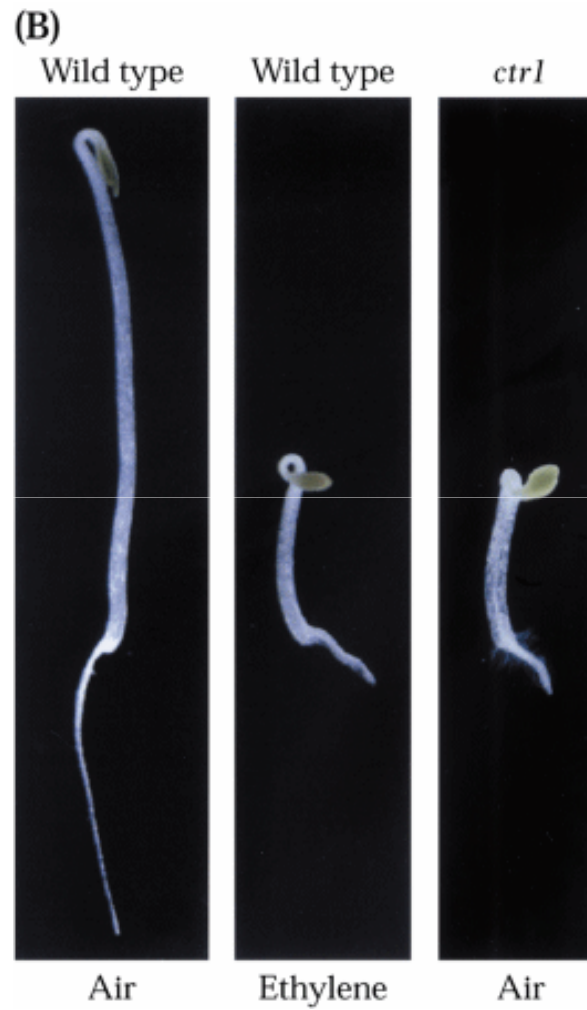


Componenti della via di trasduzione

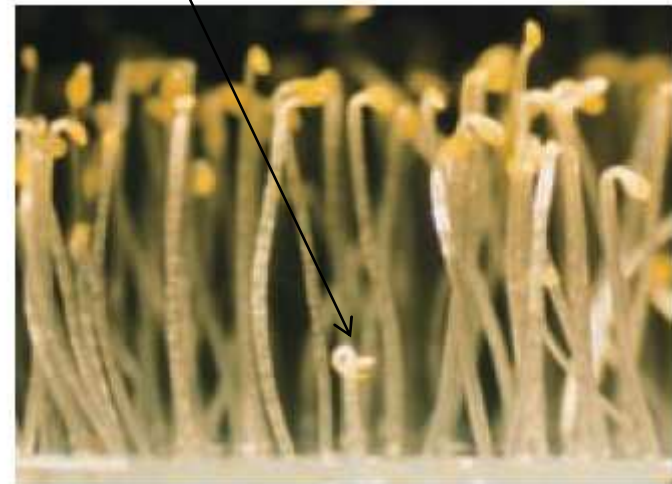
Studi genetici di epistasi hanno chiarito la sequenza di azione dei geni



ctr1: risposta tripla costitutiva



ctr1



Ctr1 è un regolatore negativo della via di trasduzione

Il mutante *ctr1* ha una risposta tripla costitutiva

CTR1 è una serina/treonina protein kinasi che assomiglia alle Raf kinasi animali

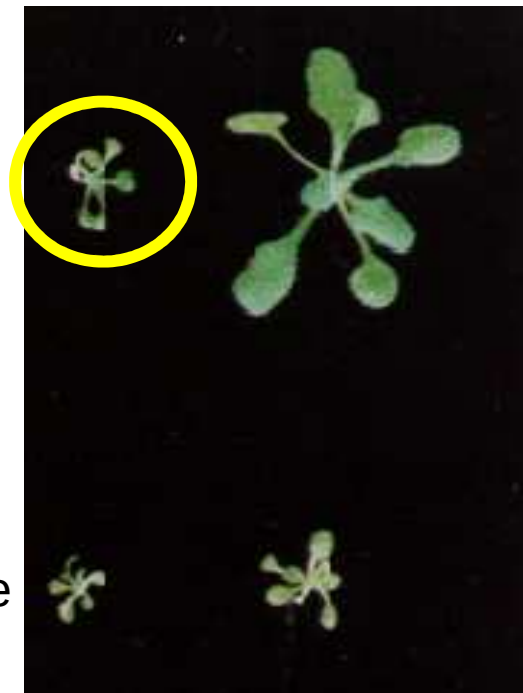


Non sono stati identificati i bersagli

Air

Ethylene

ctr1 Wild type



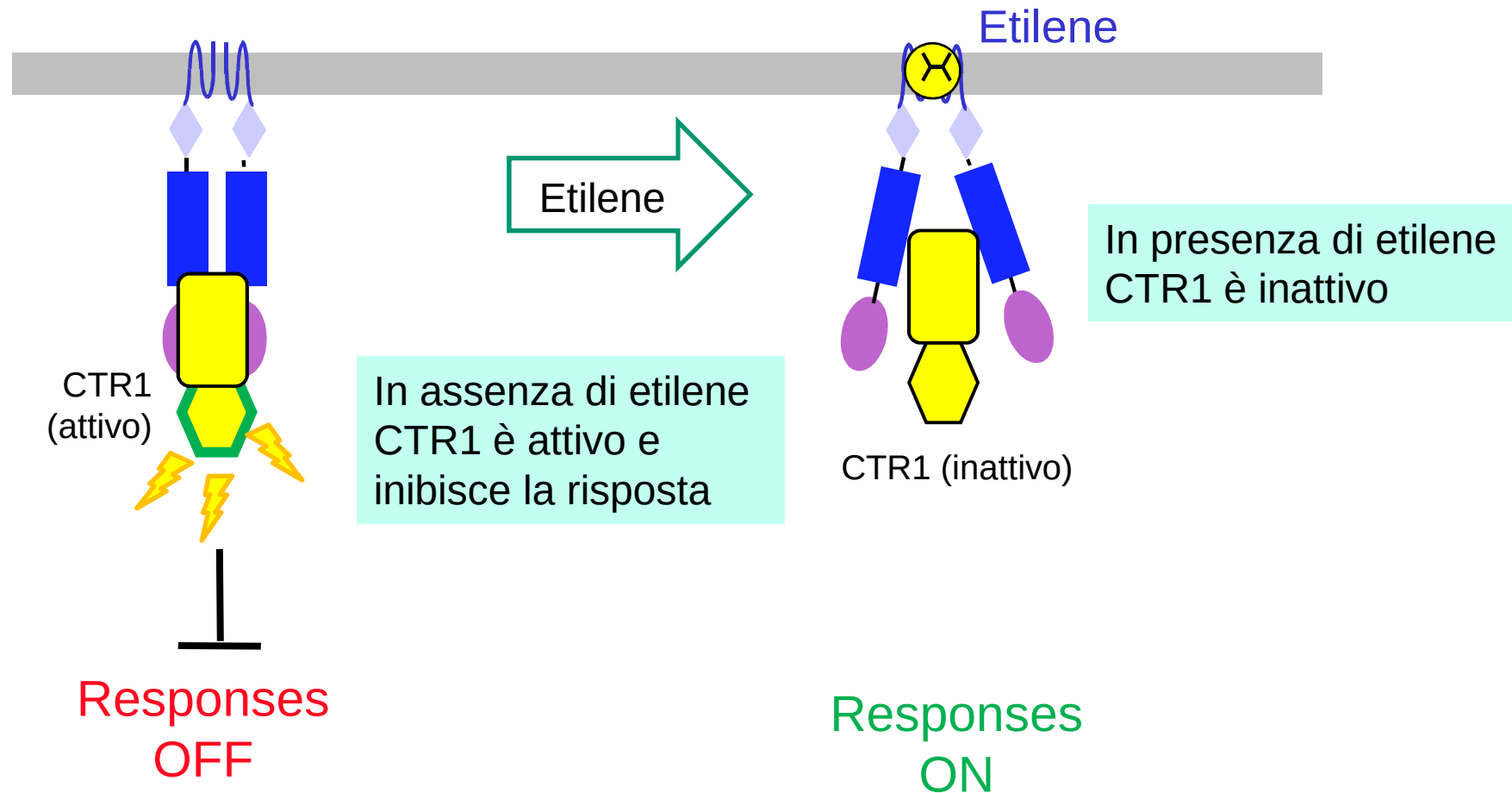
CTR1

alta omologia con le protein chinasi di tipo Raf

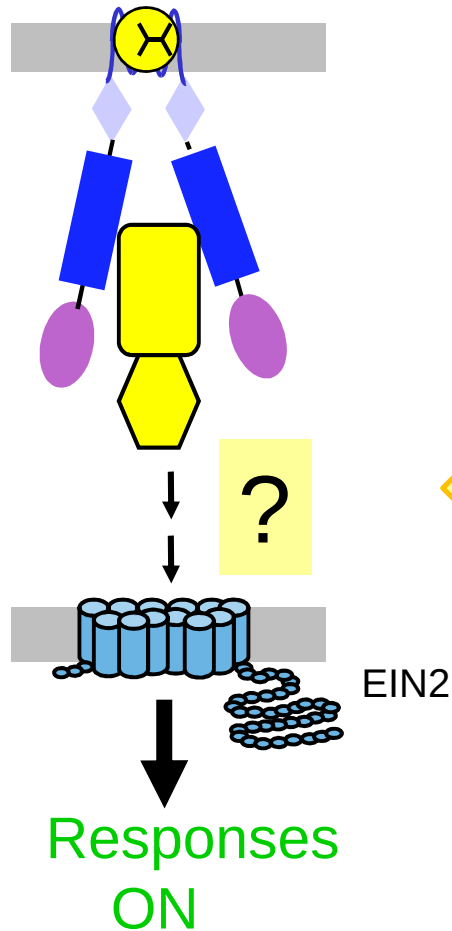
MAPKKK

(Mitogen-activated protein kinase
kinase kinase)

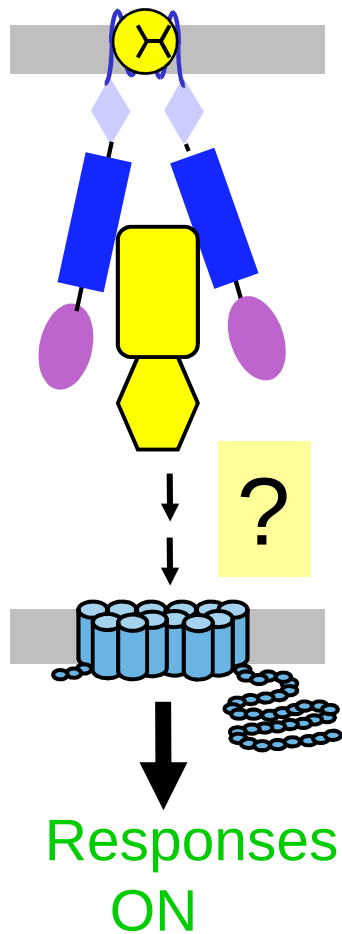
I recettori interagiscono direttamente con ctr1 e ne influenzano l'attività



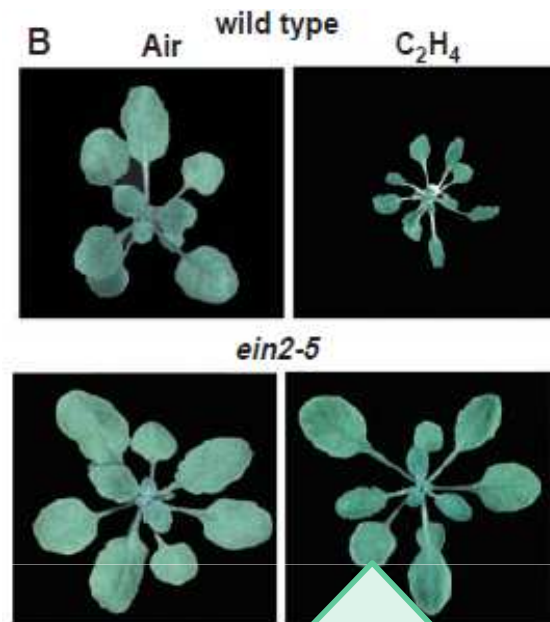
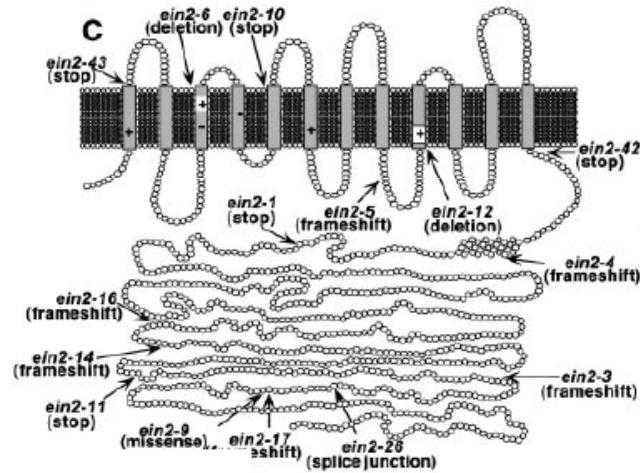
CTR1 agisce attraverso EIN2 che è un regolatore positivo



Studi genetici indicano che EIN2 agisce a valle di CTR1 ma il modo è sconosciuto



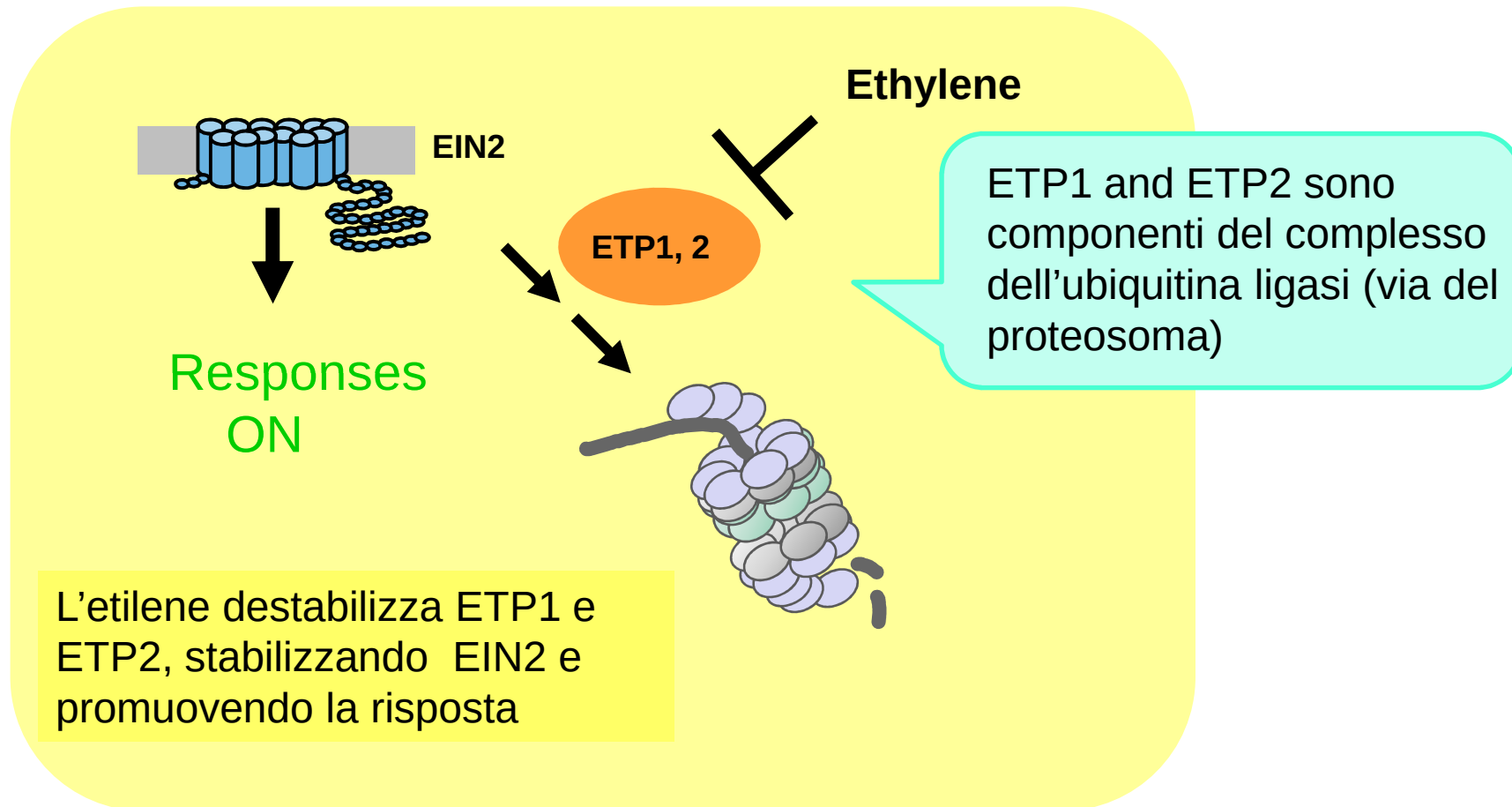
EIN2 ha 12 domini transmembrana ma la funzione è sconosciuta



Mutanti a perdita di funzione sono etilene insensibili: EIN2 è un regolatore positivo

proteina di transmembrana simile ai trasportatori di cationi N-RAMP animali;

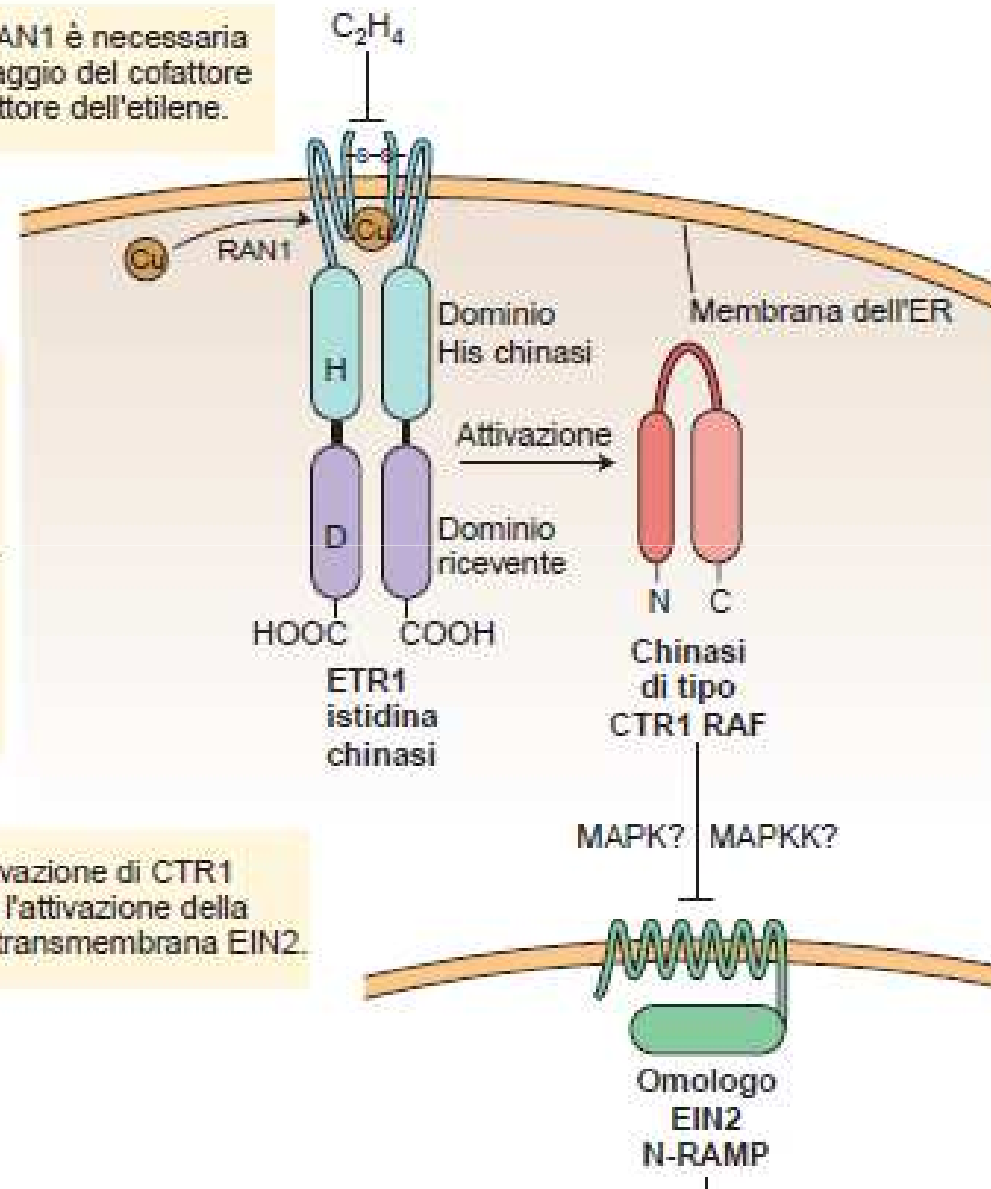
EIN2 è soggetto a proteolisi in assenza di etilene



La proteina RAN1 è necessaria per l'assemblaggio del cofattore rame nel recettore dell'etilene.

In assenza di etilene ETR1 e gli altri recettori dell'etilene avviano l'attività della chinasi CTR1. Questo porta alla repressione della via di risposta all'etilene, probabilmente tramite una cascata di MAP chinasi. Il legame dell'etilene al dimero ETR1 porta alla sua disattivazione, il che rende CTR1 inattivo.

La disattivazione di CTR1 permette l'attivazione della proteina transmembrana EIN2.



A valle di EIN2 una cascata trascrizionale controlla l'espressione genica

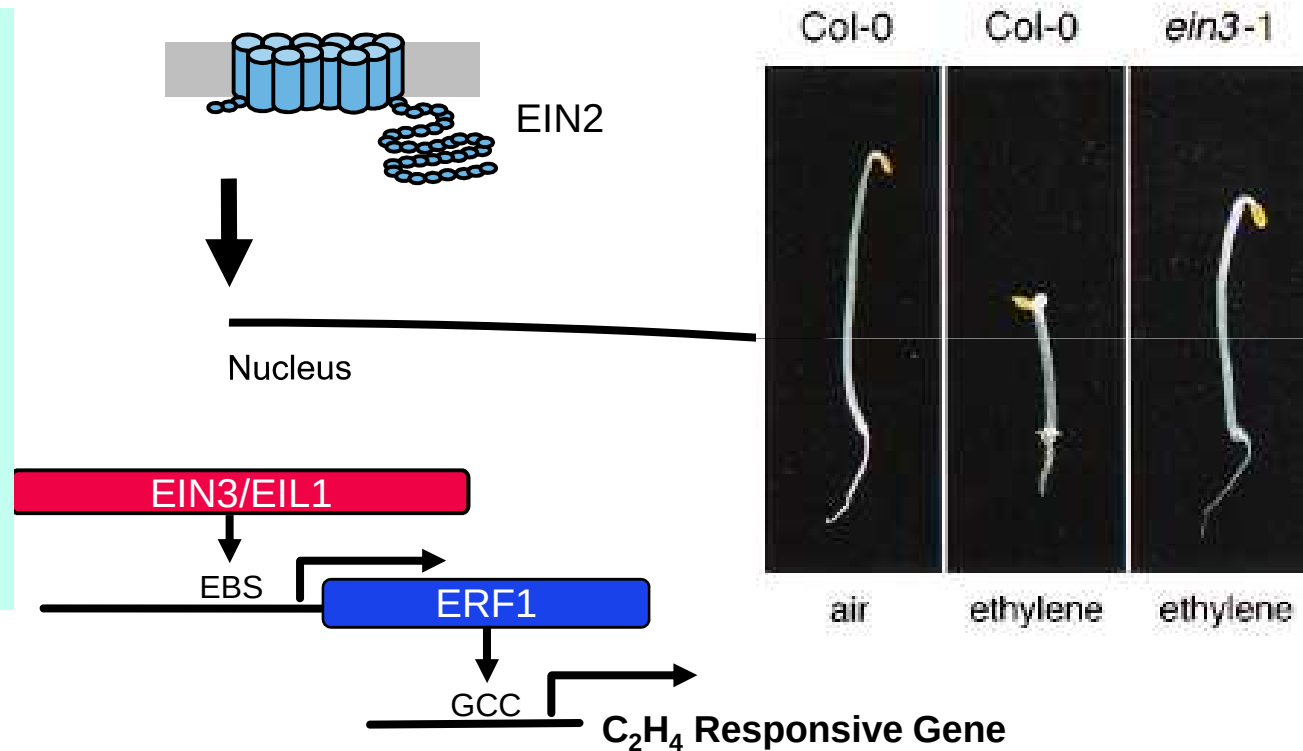
Modello a **Geni precoci** e Geni tardivi

L'etilene attiva una famiglia di fattori di trascrizione **EIN3 (EIL1)** che si legano come omodimeri al promotore dei **geni di risposta precoci come ERF1**

ERF1 codifica per una proteina che appartiene a una famiglia di fattori di trascrizione in grado di legarsi alle sequenze **ERE** (proteine EREBP)

determinando così la trascrizione dei geni di risposta tardivi o secondari

EIN3 e EIL1 sono fattori di trascrizione che si legano a un sito di risposta all'etilene (EBS) sul promotore del gene *ERF1*. *ERF1* codifica per un fattore di trascrizione che ha come bersaglio i geni di risposta all'etilene



In assenza di etilene, EIN3 e EIL1 sono soggetti a proteolisi

EBF1 e EBF2 sono proteine F-box che segnalano EIN3 and EIL1 per la proteolisi

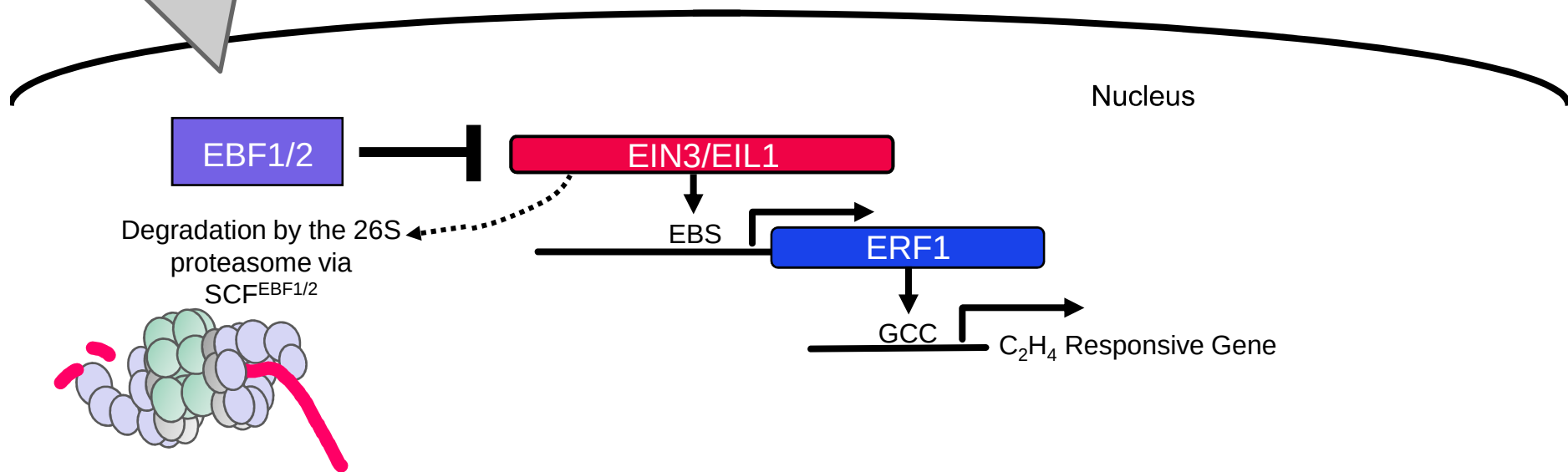
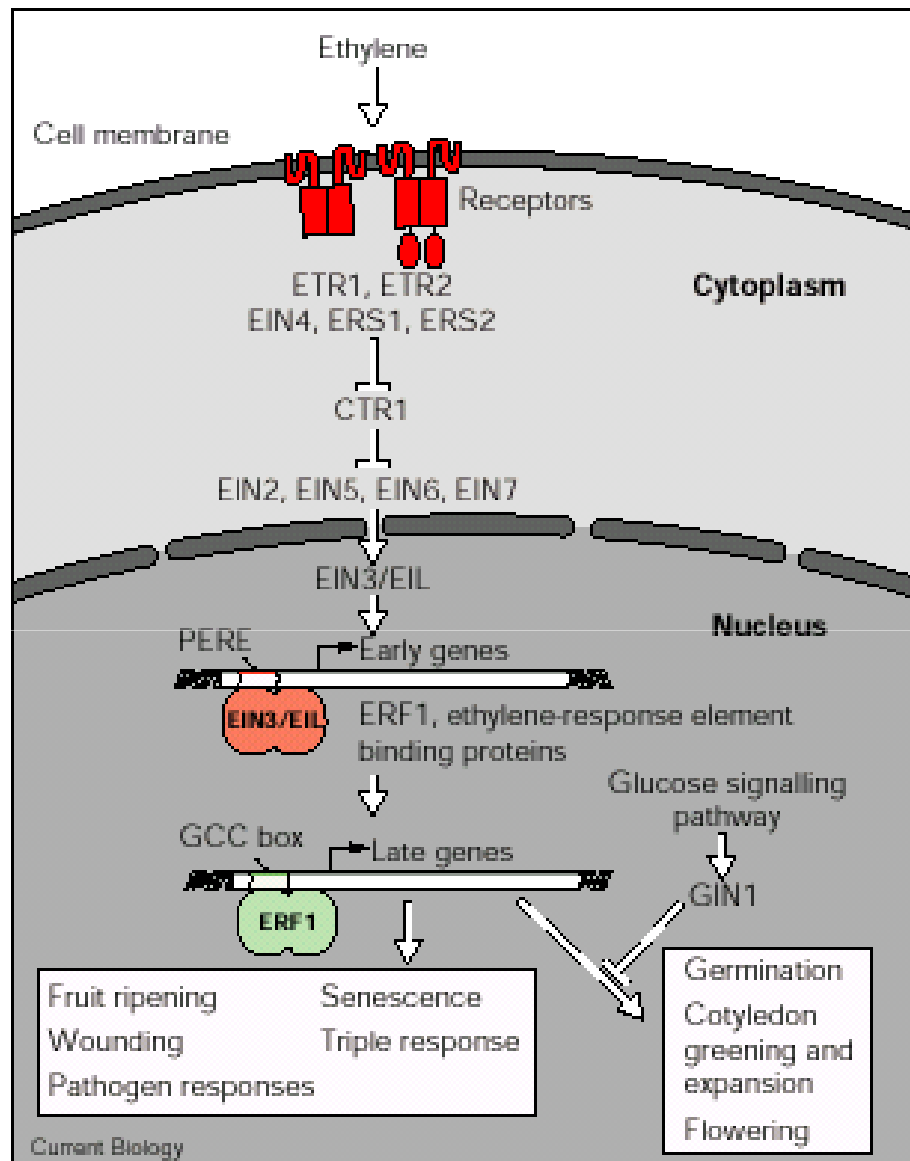


Figure 3



The ethylene signal transduction pathway (see text for details). PERE, primary ethylene-response element.

L'etilene ha importanti applicazioni commerciali

Ethephon: composto spruzzato in soluzione acquosa che rilascia etilene; acido 2-cloroetilfosfonico

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



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