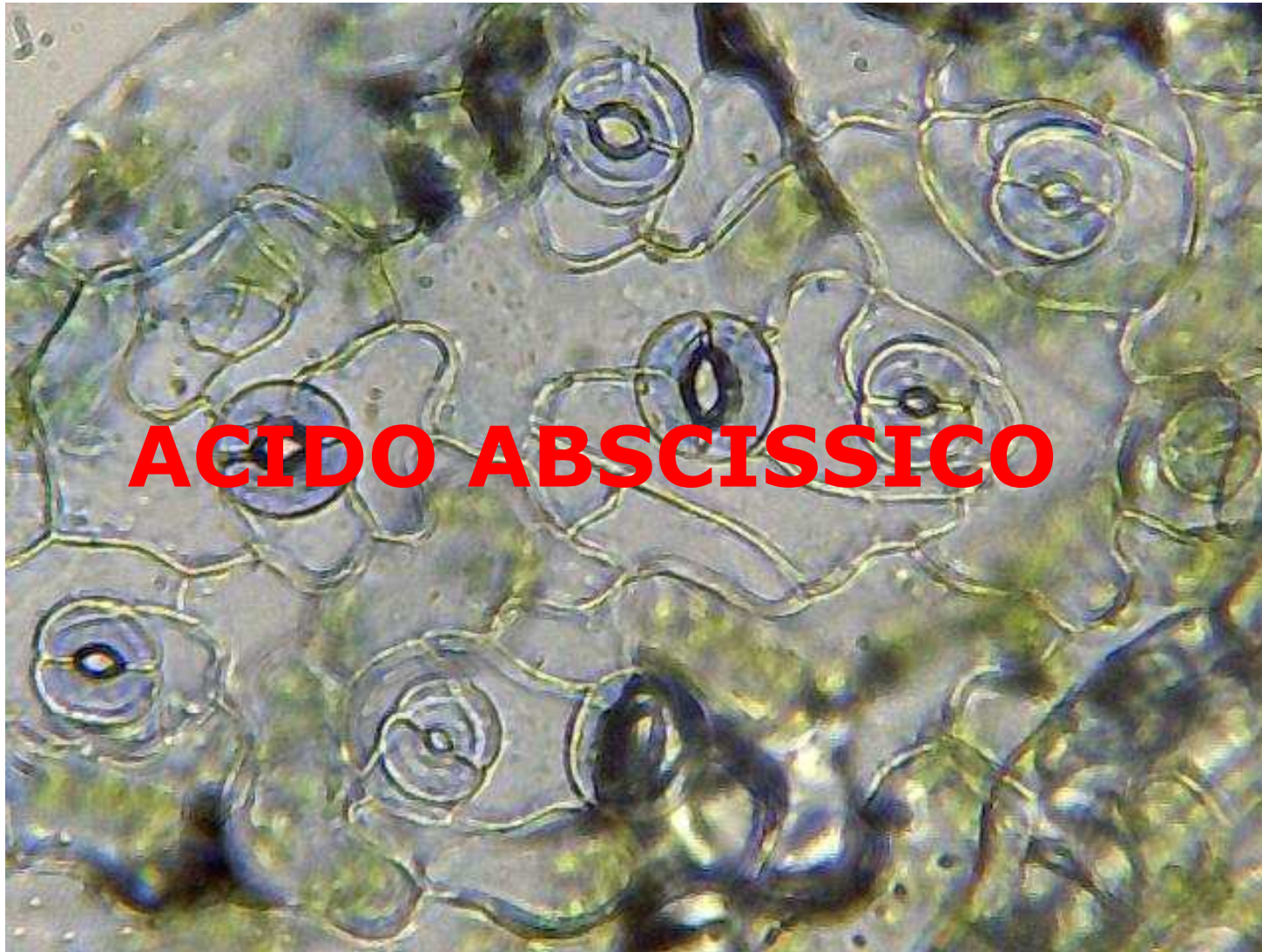




Studi sulla dormienza di semi e gemme

Causata da ormoni

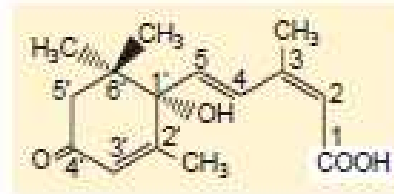
Dormina: isolata da foglie di sicomoro all'inizio dell'autunno

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

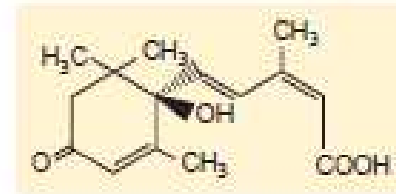
La sostanza fu rinominata

ACIDO ABSCISSICO

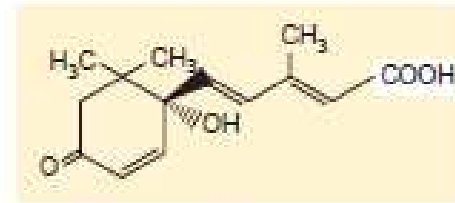
Struttura



(*S*)-*cis*-ABA
(forma attiva
presente in natura)



(*R*)-*cis*-ABA
(inattivo per la chiusura degli stomi)



(*S*)-2-*trans*-ABA
(inattivo, ma interconvertibile
nella forma attiva *cis*)

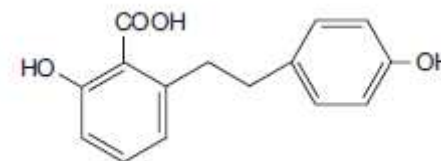
15 C ; Deriva dai carotenoidi, presente in tutte le piante vascolari

presente in natura come isomero *cis* (C-2) e come enantiomero S (C-1')

Enantiomero R non attivo nella chiusura degli stomi

S ed R non interconvertibili nella pianta; isomero *trans* interconvertibile

Nelle epatiche acido lunularico



Acido lunularico (epatiche)

BIOSINTESI

Sintetizzato nei cloroplasti e plastidi

Via di biosintesi definita grazie alla generazione di mutanti biosintetici

Pomodoro: flacca (flc) , sitiens (sit)

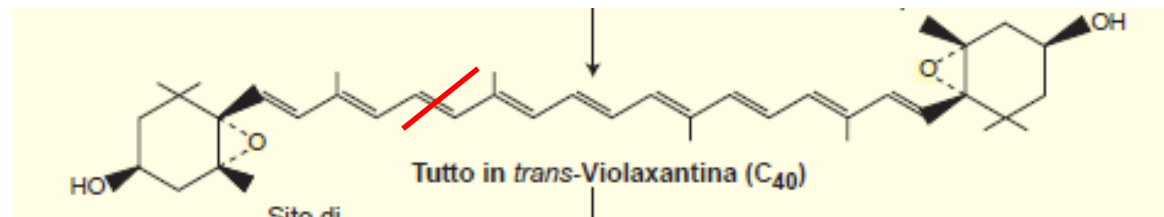
Arabidopsis: aba

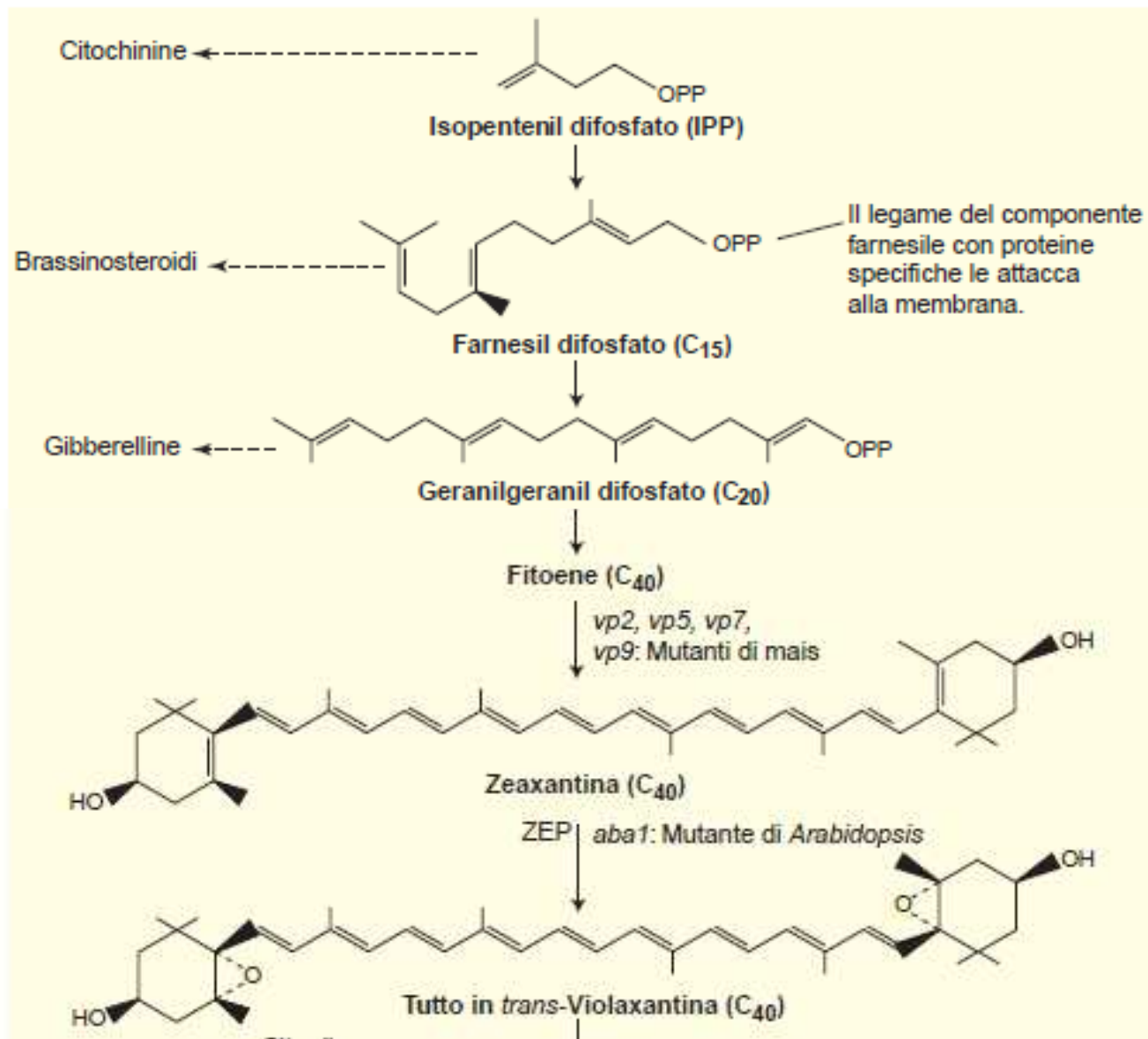


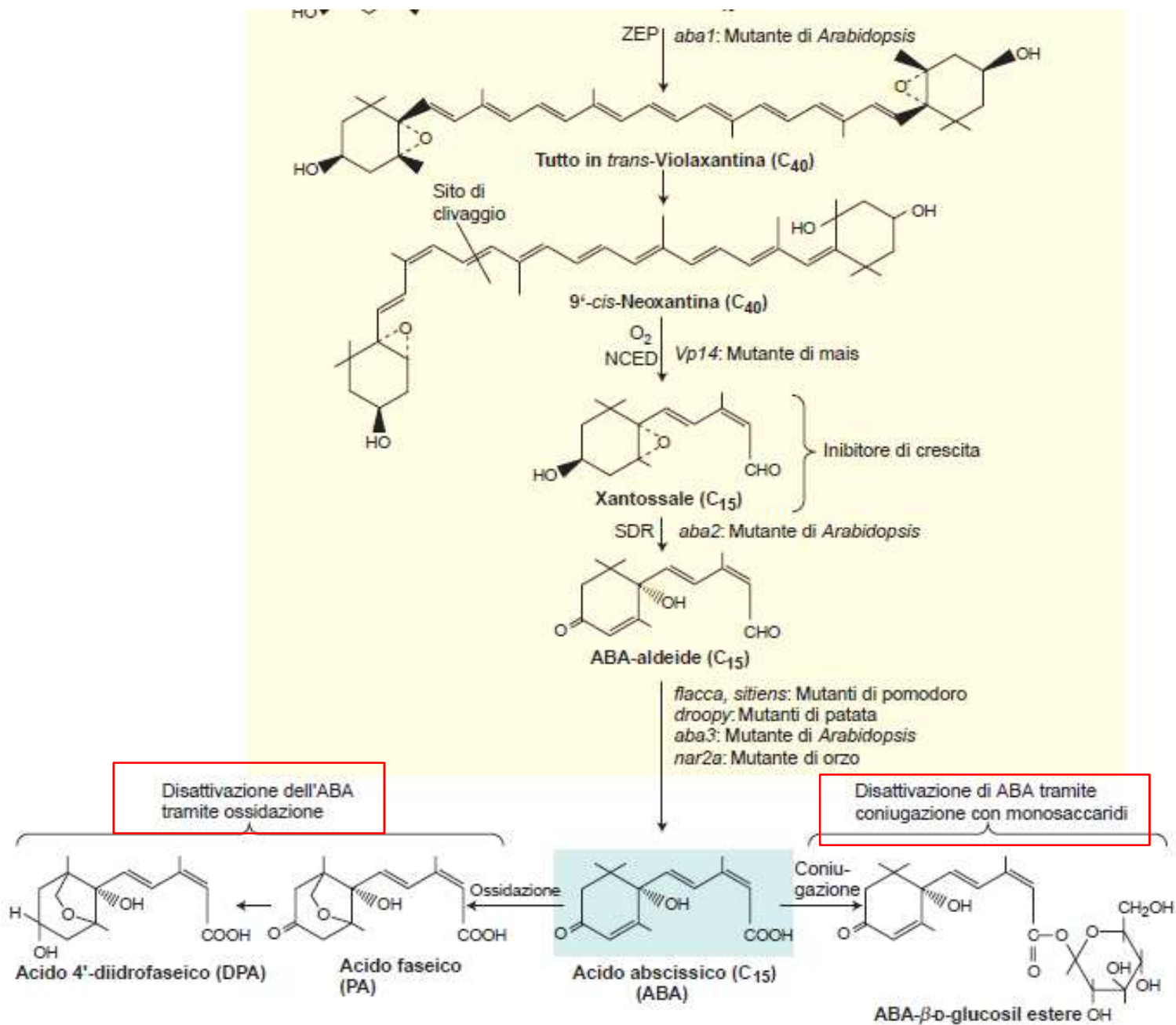
Questi mutanti appassiscono; applicando ABA esogeno si può evitare l'appassimento

L'ABA viene sintetizzato a partire dall'IPP
nella via dei carotenoidi

Si forma indirettamente cioè come prodotto della
scissione di una molecola di violaxantina,
un carotenoide ossigenato a 40 atomi di C







I mutanti di mais *vp* hanno un blocco nella via dei carotenoidi, hanno quantità ridotte di ABA e presentano il fenomeno della *viviparia*

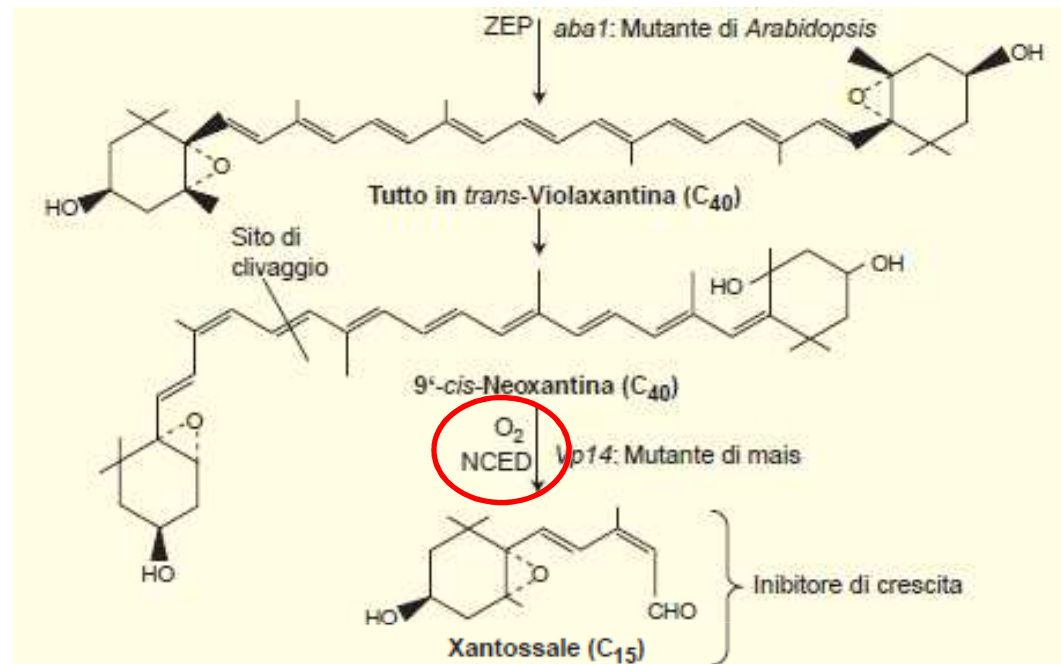


vp2

I semi
germogliano
quando sono ancora
sul frutto



vp14



NCED: 9-cis-epossicarotenoide diossigenasi

Sintesi indotta da stress idrico

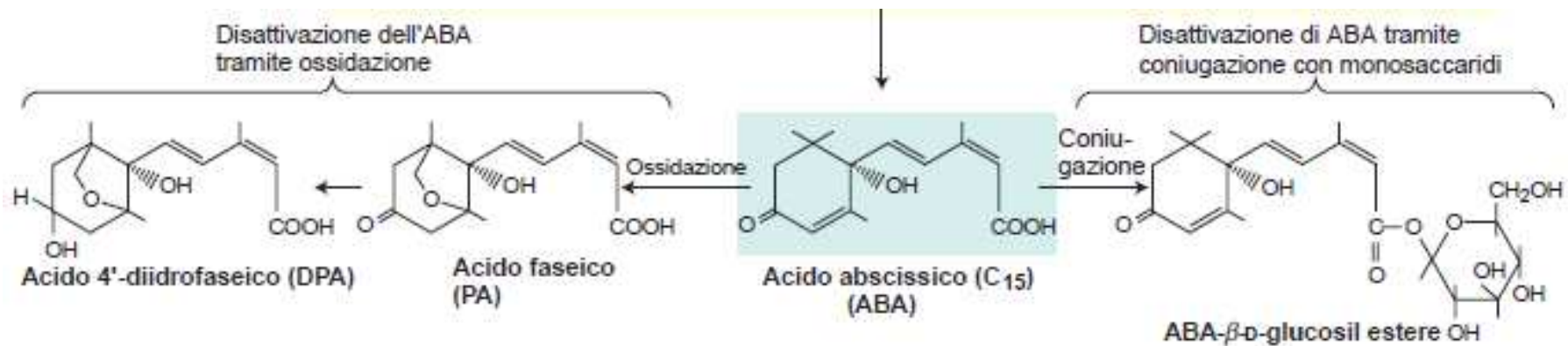
Famiglia multigenica regolata in maniera differenziale nello sviluppo e in risposta a stress

Localizzato nei tilacoidi

L'ABA è disattivato mediante

Ossidazione a acido 4'-diidrofaseico

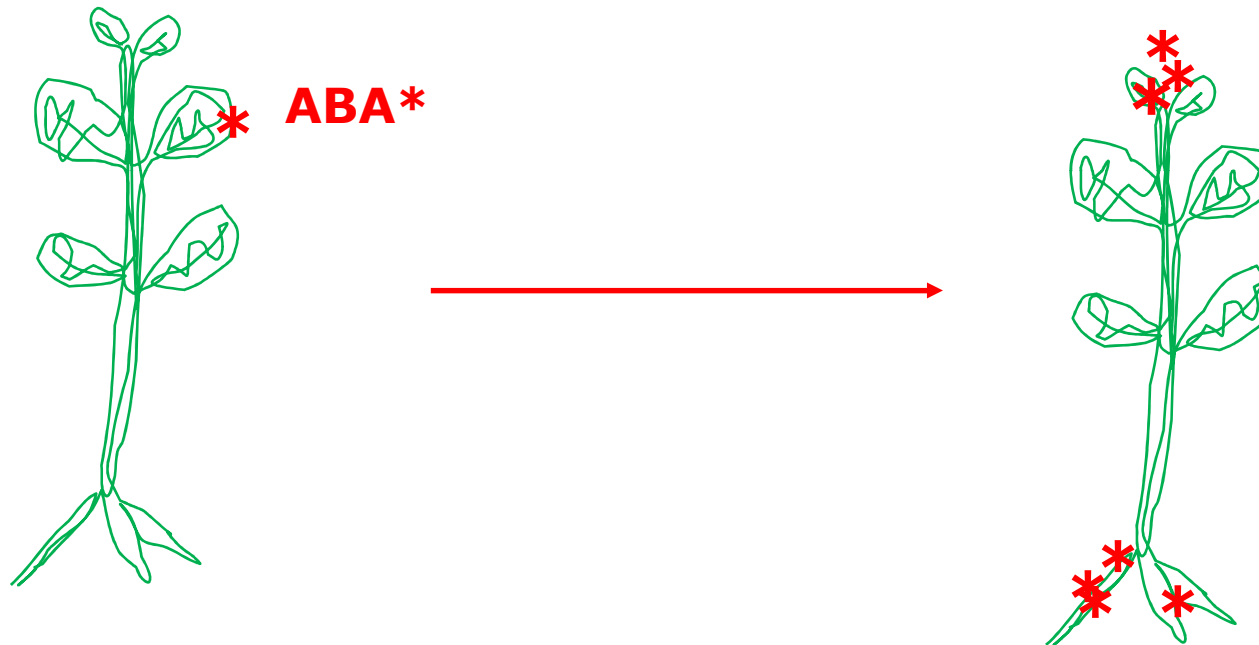
Coniugazione ABA β -D-glucosil estere (vacuolo)



L'ABA è trasportato nel floema e nello xilema (più abbondante nel floema)

ABA sintetizzato nelle foglie traslocato alle radici nel floema

ABA sintetizzato nelle radici traslocato nel germoglio nello xilema

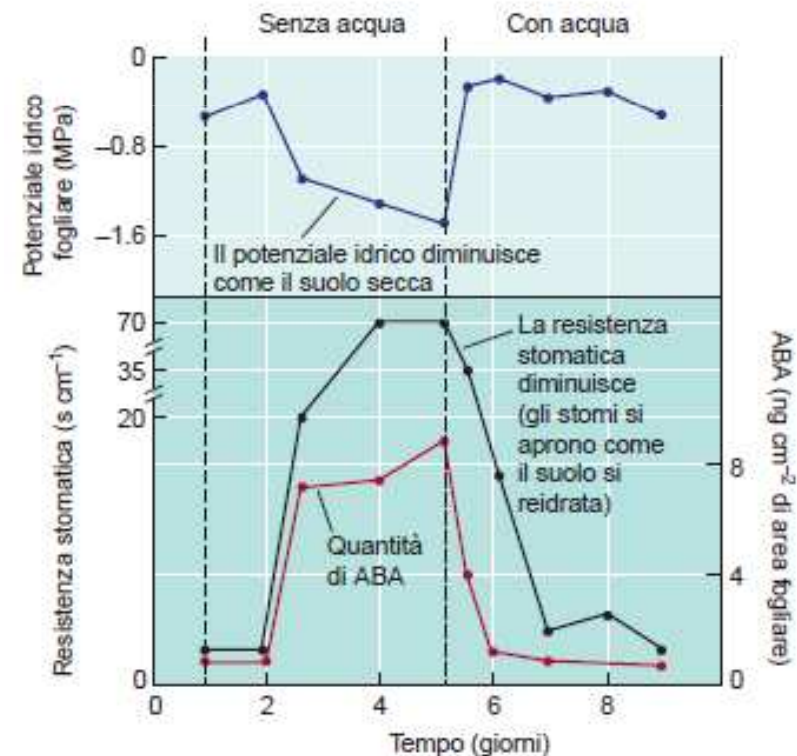
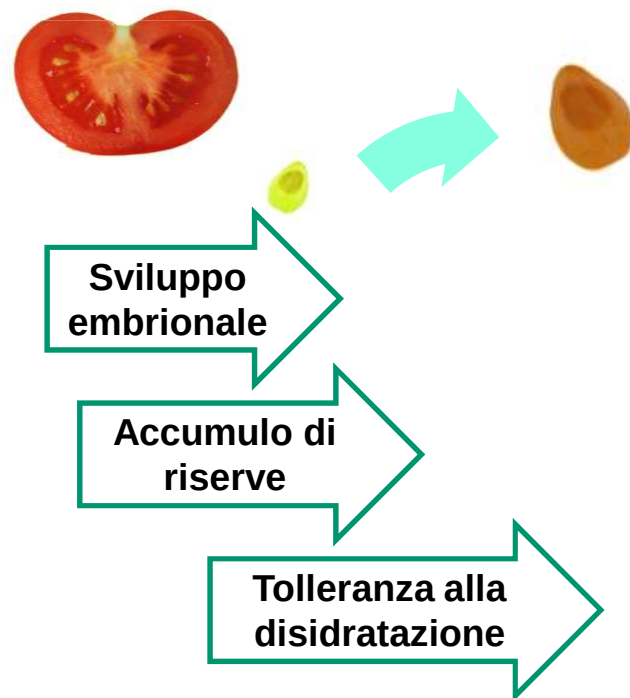


Le [ABA] variano di molto durante lo sviluppo o in risposta a stress

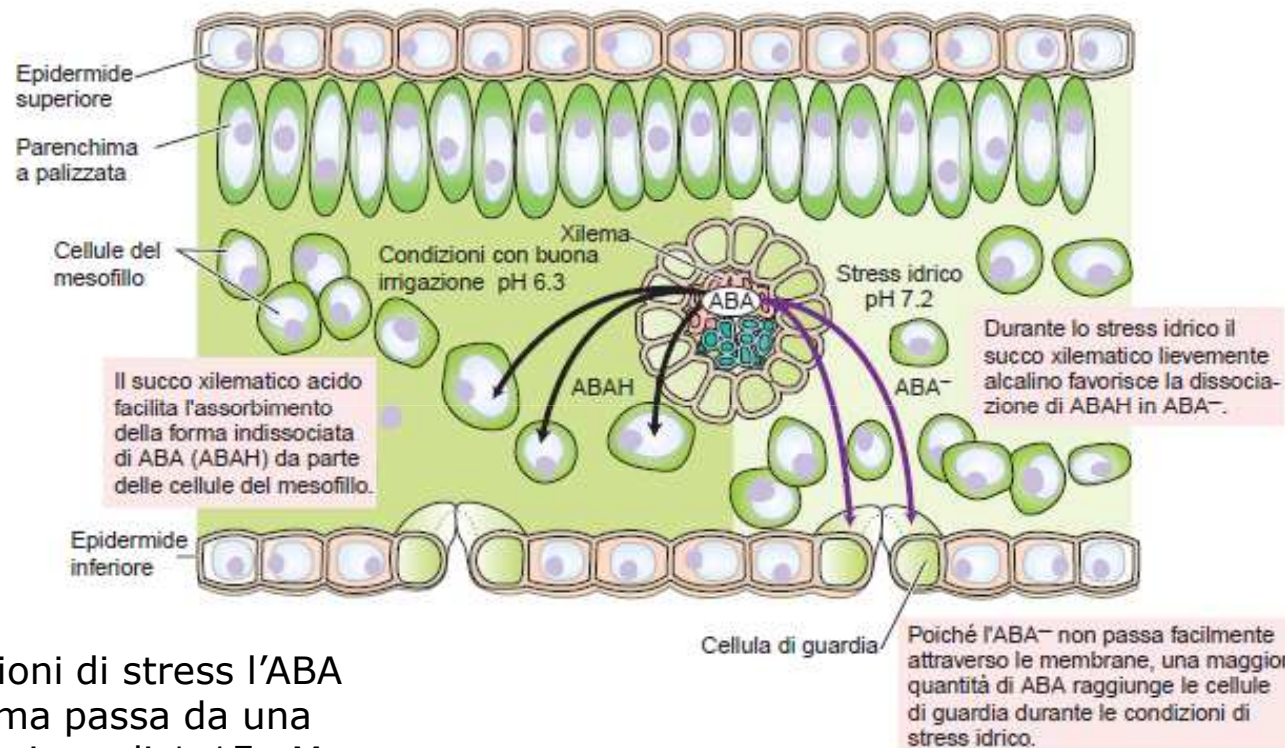
Semi in sviluppo: variazione di 100 volte

Foglie in stress idrico aumento di 50 volte in poche ore

Aumenti dovuti a biosintesi e a trasporto



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 una di 3.0 μ M

mediante un meccanismo a trappola di pH dovuto all'aumento di pH del succo xilematico in condizioni di stress

EFFETTI FISIOLOGICI

ABA

effetti fisiologici a
breve termine



chiusura stomi



alterazione
flussi ionici

effetti fisiologici a
lungo termine



maturazione semi

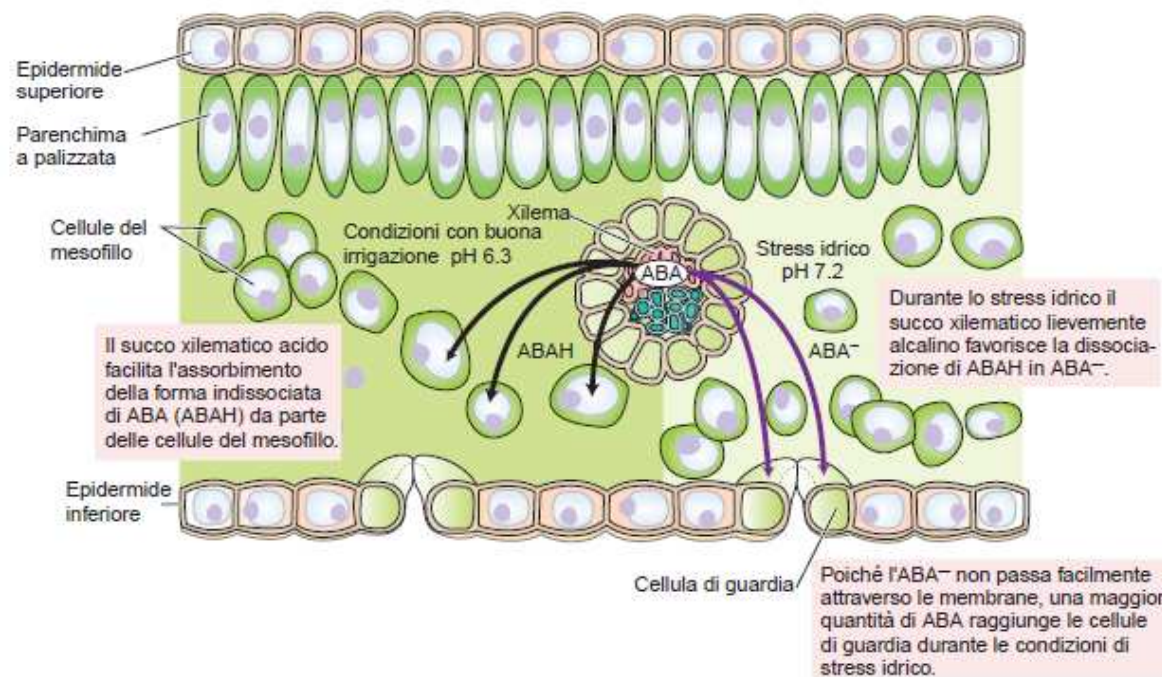


regolazione
espressione
genica

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

La [ABA] nelle foglie aumenta di 50 volte a seguito a stress idrico nelle radici

L'aumento è dovuto primariamente alla redistribuzione dell'ABA



ABA



Attivazione canali di uscita del K^+



Diminuzione della P di turgore
nelle cellule di guardia

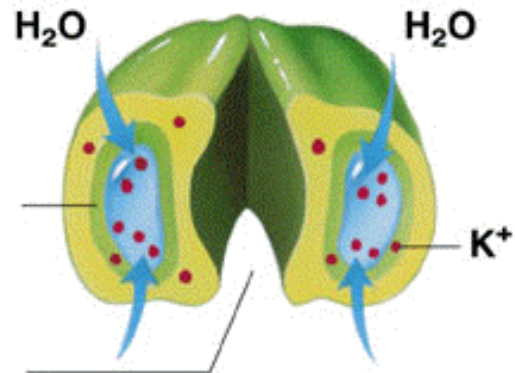


Chiusura degli stomi

Open Stoma

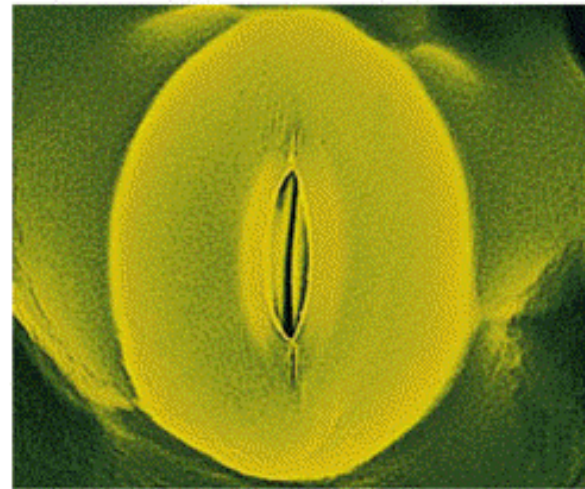


50 μm

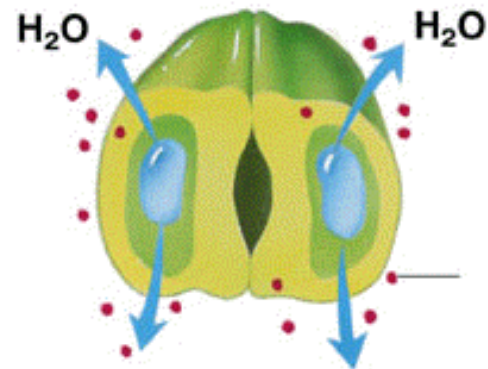


K^+ enters guard cells,
and water follows.

Closed Stoma

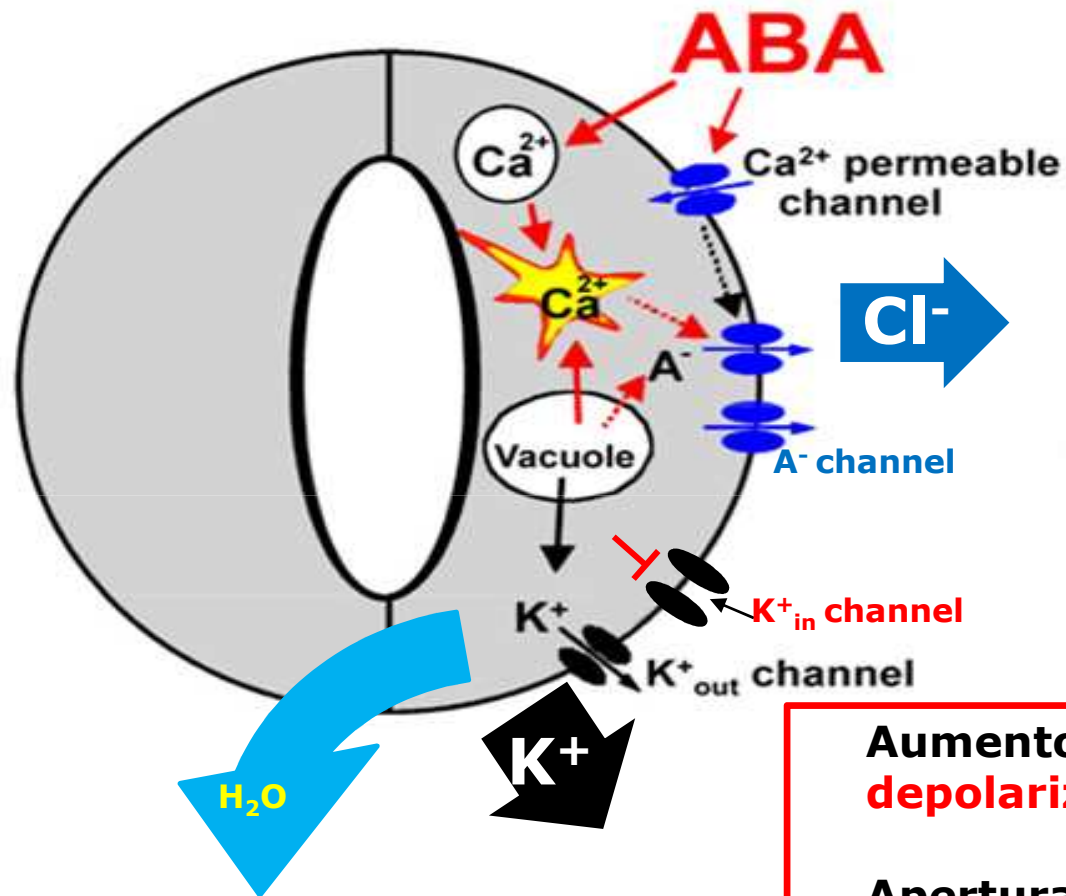


50 μm



K^+ exits guard cells,
and water follows.

Meccanismo della chiusura stomatica



Aumento Ca^{2+} cit
depolarizzazione

Apertura canali anionici uscita (A^-)
depolarizzazione

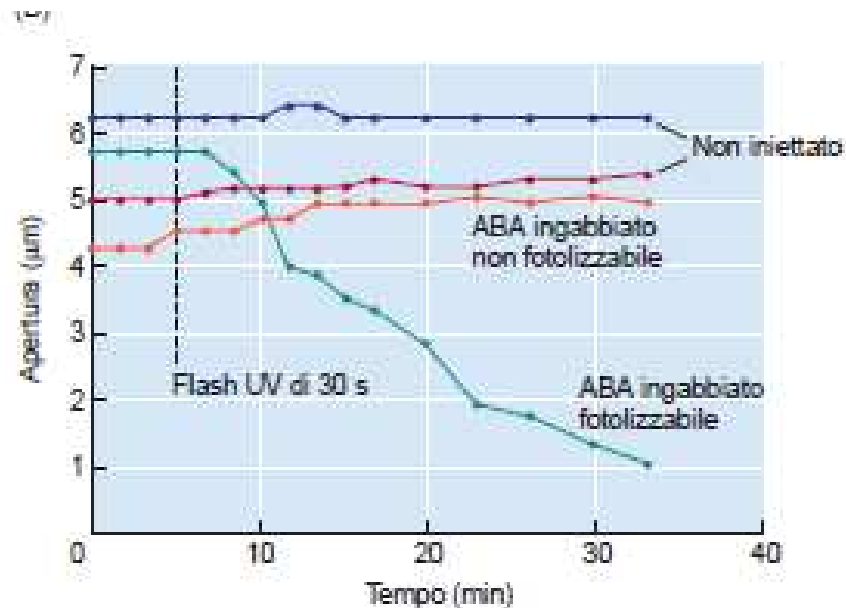
Attivazione canali di uscita del K^+
e blocco canali di entrata K^+ sensibili
al voltaggio

PERCEZIONE E TRASDUZIONE DEL SEGNALE

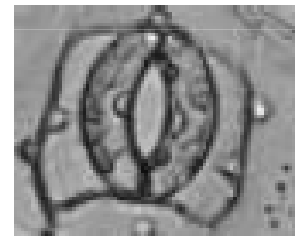
(nella chiusura stomatica)

PERCEZIONE

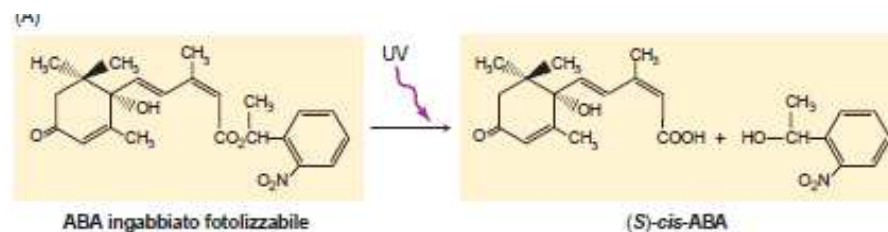
Recettori dell'ABA: dati controversi, identificate diverse proteine in grado di legare ABA; forse recettori di membrana e recettori citoplasmatici



(C)

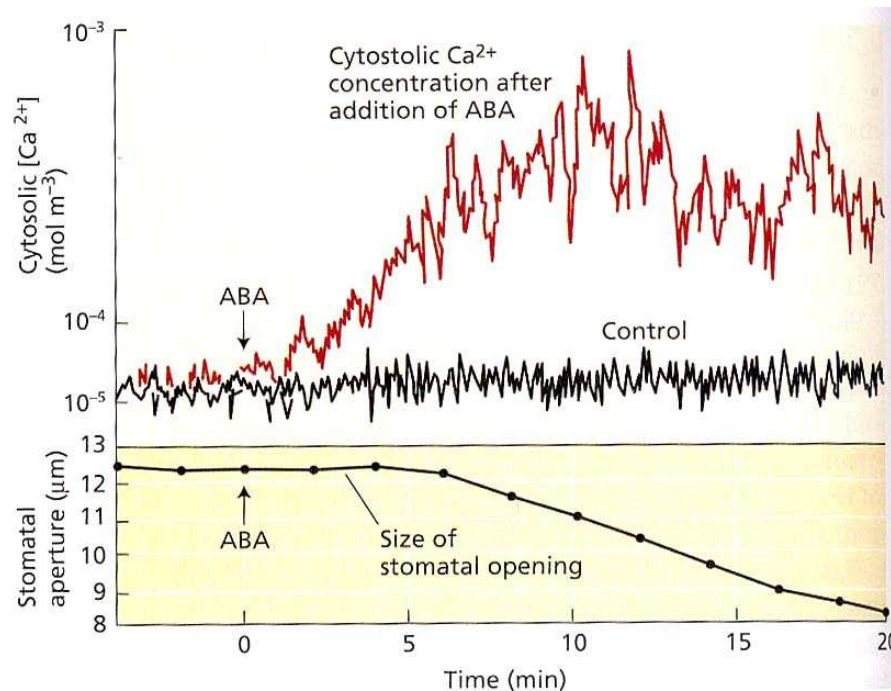
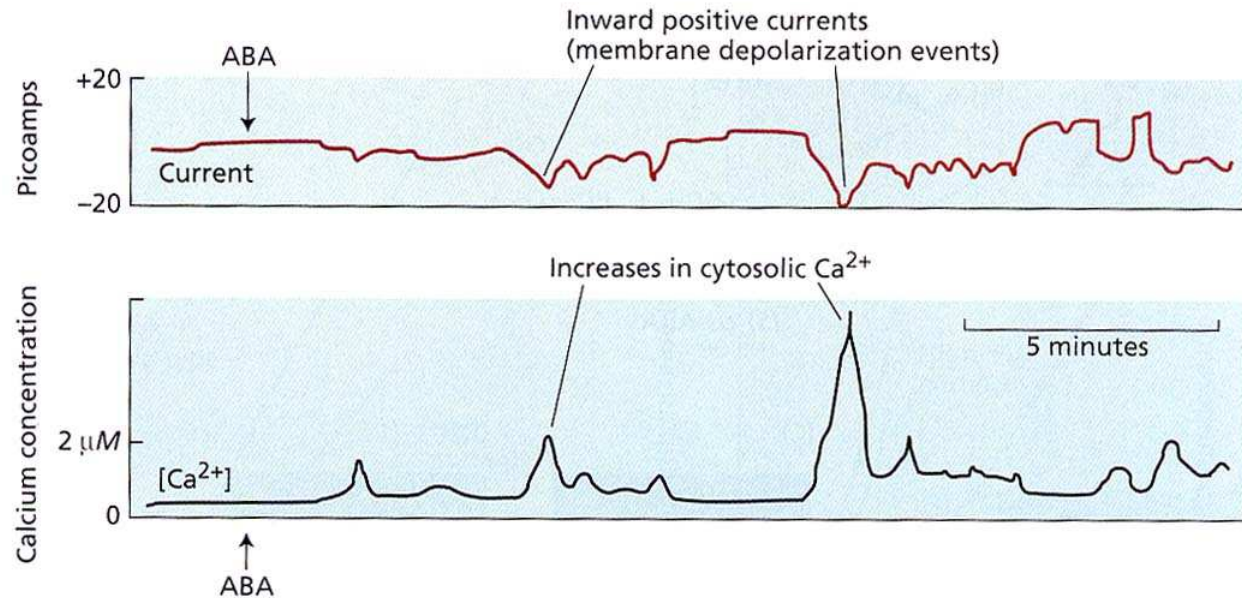


(D)



TRASDUZIONE

L'ABA induce una depolarizzazione della membrana plasmatica associata all'aumento dei livelli di Ca^{2+} citoplasmatici



L'aumento dei livelli di Ca^{2+} citoplasmatici determina la chiusura degli stomi

Aumenti del calcio citosolico:

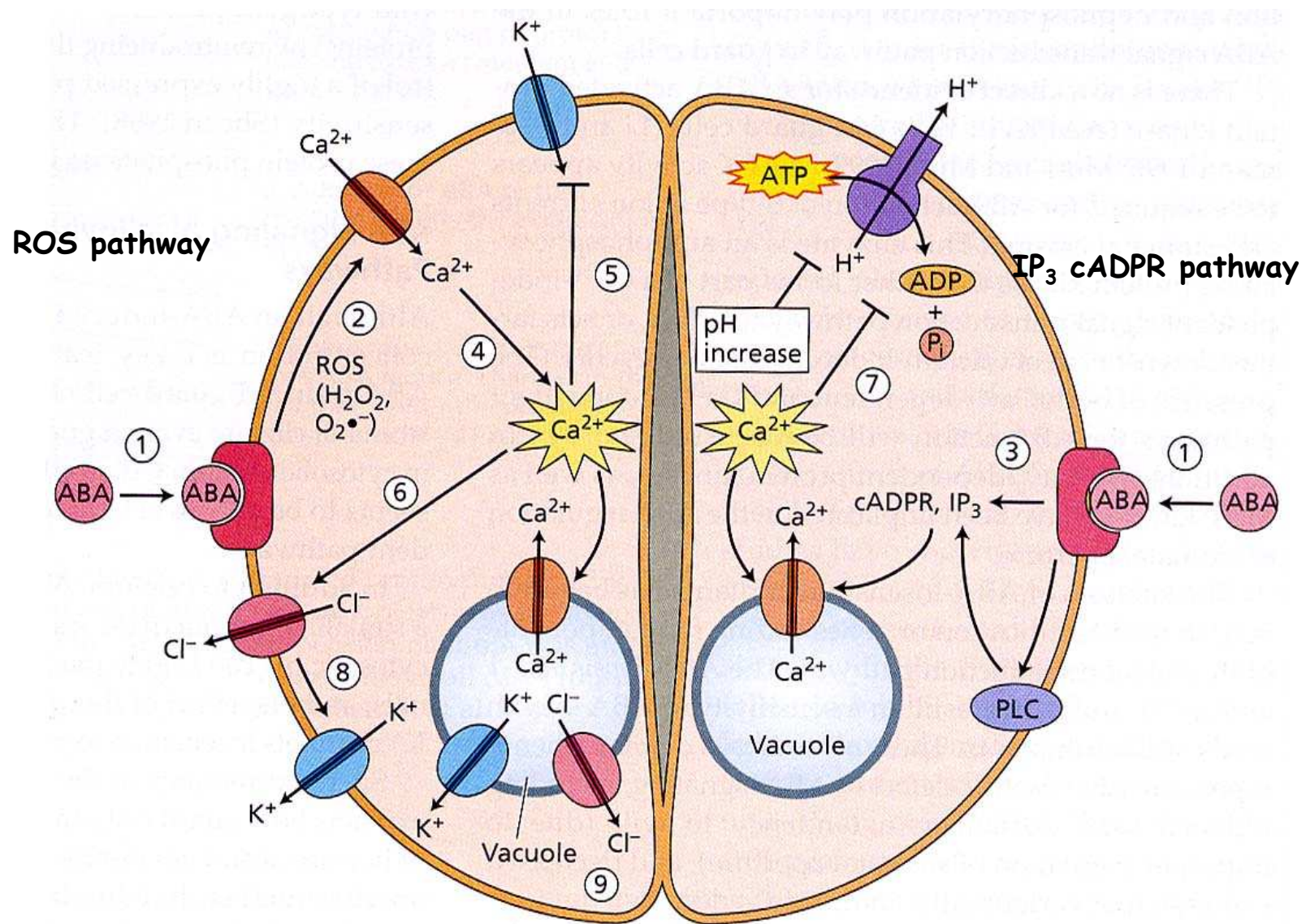
Influsso dall'esterno: trasduzione mediante ROS (O_2^- H_2O_2) come secondi messaggeri che attivano i canali di ingresso del Calcio

Efflusso dal vacuolo: diversi secondi messaggeri: IP3, ADP-ribosio ciclico, fosfolipidi (sfingosina 1-P, acido fosfatidico)NO

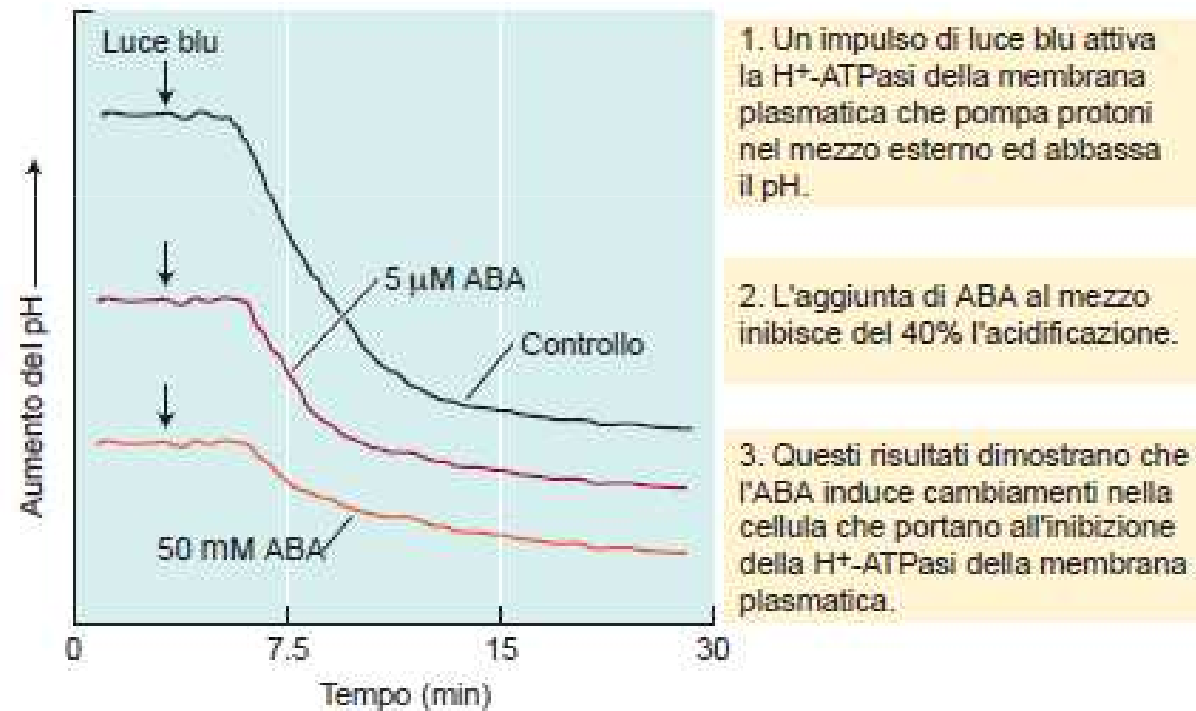
ABA causa anche alcalinizzazione del pH citoplasmatico
L'aumento del pH citoplasmatico attiva i canali di uscita di K^+

RIDONDANZA delle vie di trasduzione del segnale dell'ABA nella chiusura stomatica

forse per l'integrazione di diversi segnali ambientali



L'ABA inibisce la H⁺-ATPasi della membrana plasmatica



ABA

effetti fisiologici a
breve termine



chiusura stomi



alterazione
flussi ionici

effetti fisiologici a
lungo termine

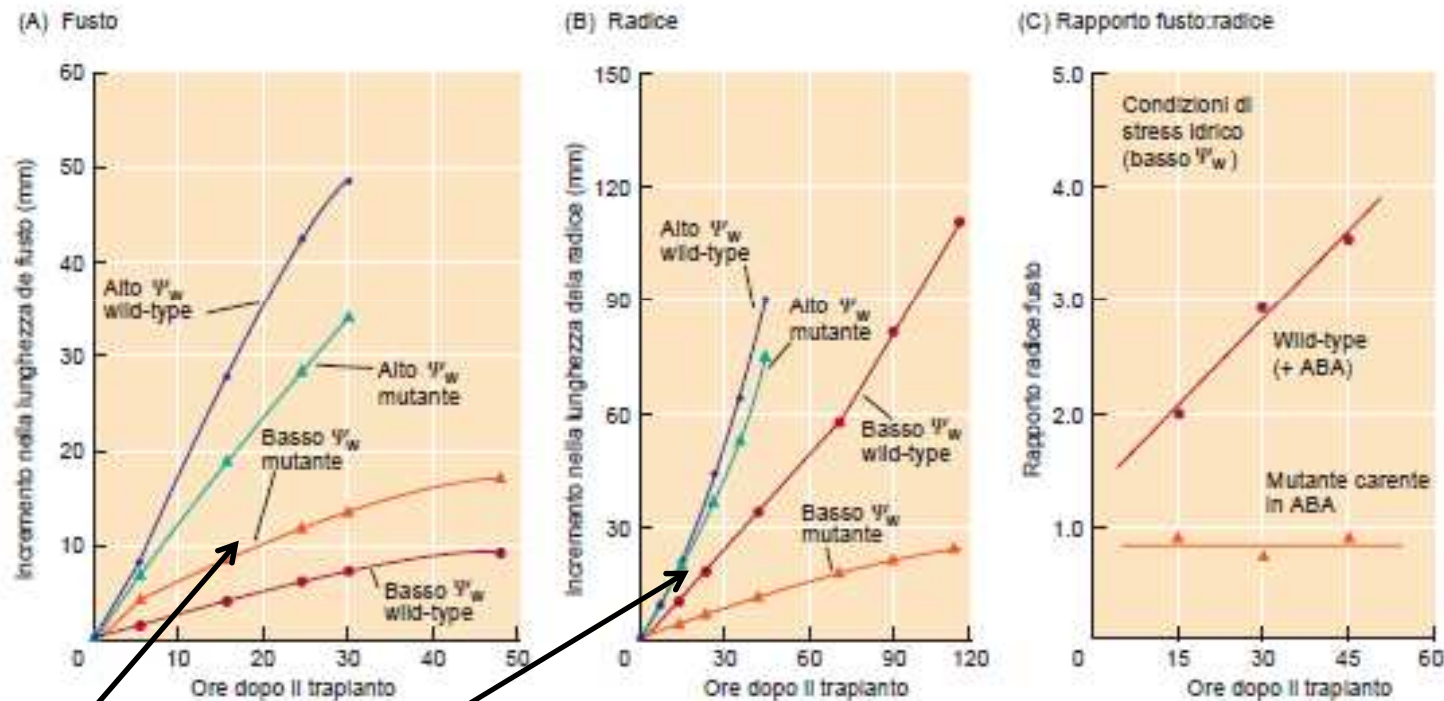


maturazione semi



regolazione
espressione
genica

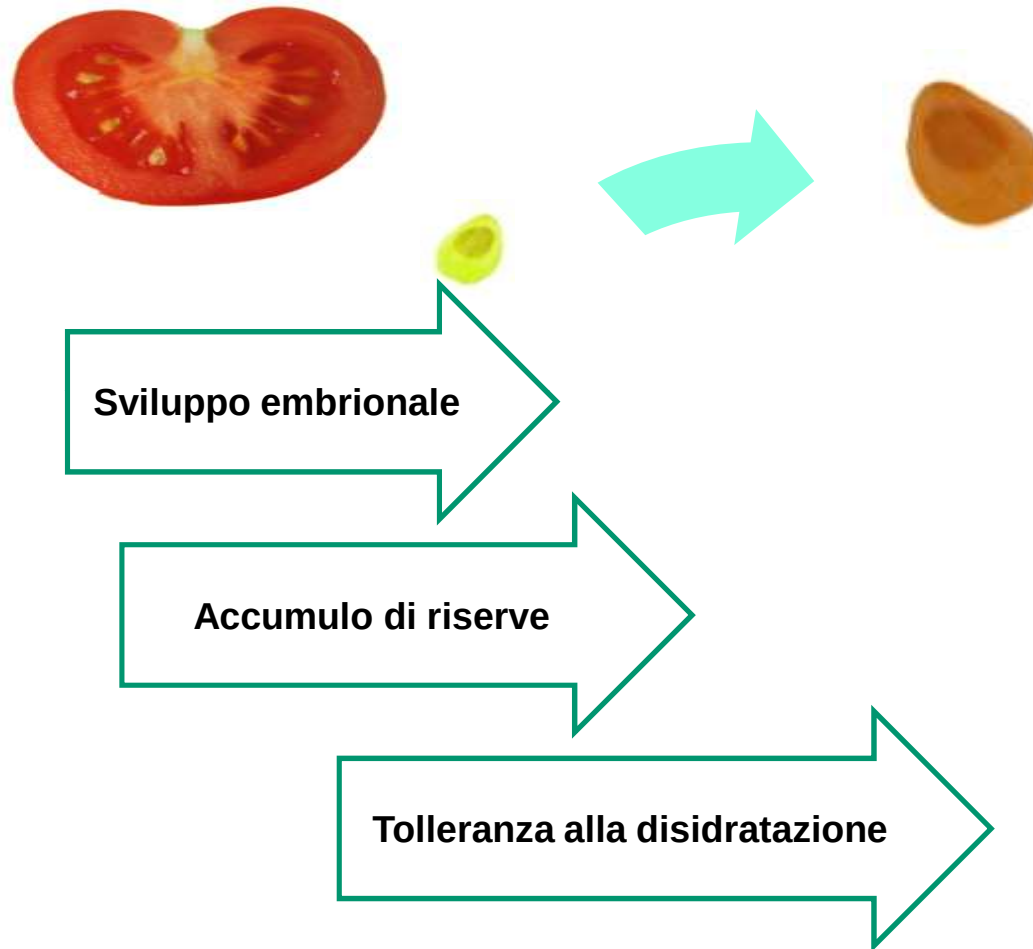
Stimolo della crescita delle radici e inibizione della crescita del germoglio in risposta a stress idrico



A bassi ψ cresce di più il mutante carente in ABA: ABA inibizione crescita germoglio

A bassi ψ cresce di più il wild type: ABA stimolo crescita radici

Regolazione della maturazione dei semi



Sviluppo del seme: sviluppo dell'embrione
accumulo sostanze di riserva
tolleranza alla disidratazione

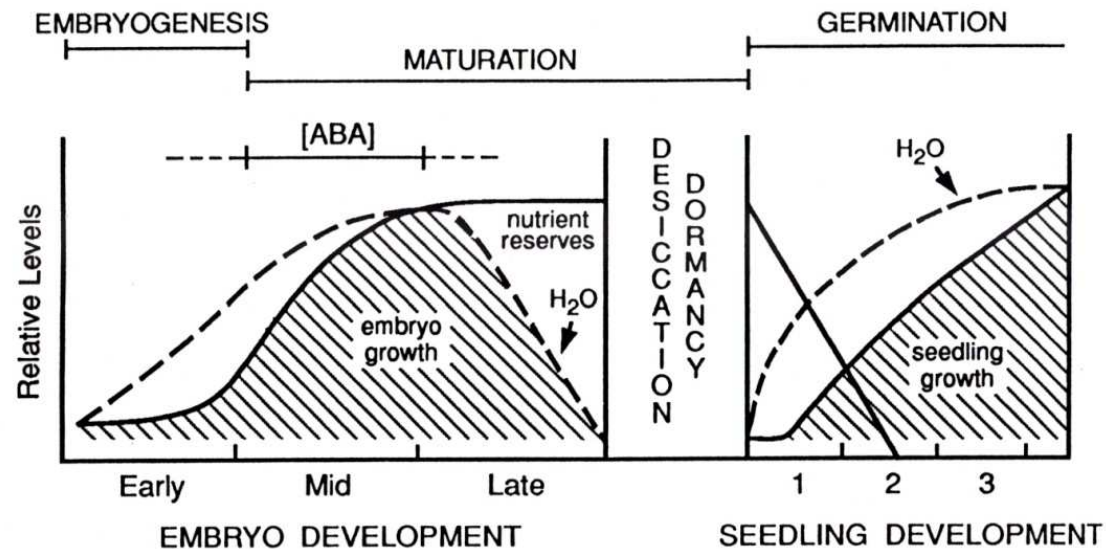


Fig. 1. A generalized graph showing the relative levels of nutrient reserves, water content and growth during the embryonic, maturation and germination stages of embryo and seedling development. Time periods of embryo development vary with species and are not included. Times stated for seedling development are in days. Desiccation separates the end of maturation from the initiation of seedling growth; dormancy is not found in all species. High ABA levels are temporally correlated with the onset of maturation and prevention of precocious germination during mid-embryo development.

I livelli di ABA si innalzano nella parte finale dell'embriogenesi, sono alti durante la maturazione e l'acquisizione della tolleranza alla disidratazione per poi riabbassarsi nel seme maturo

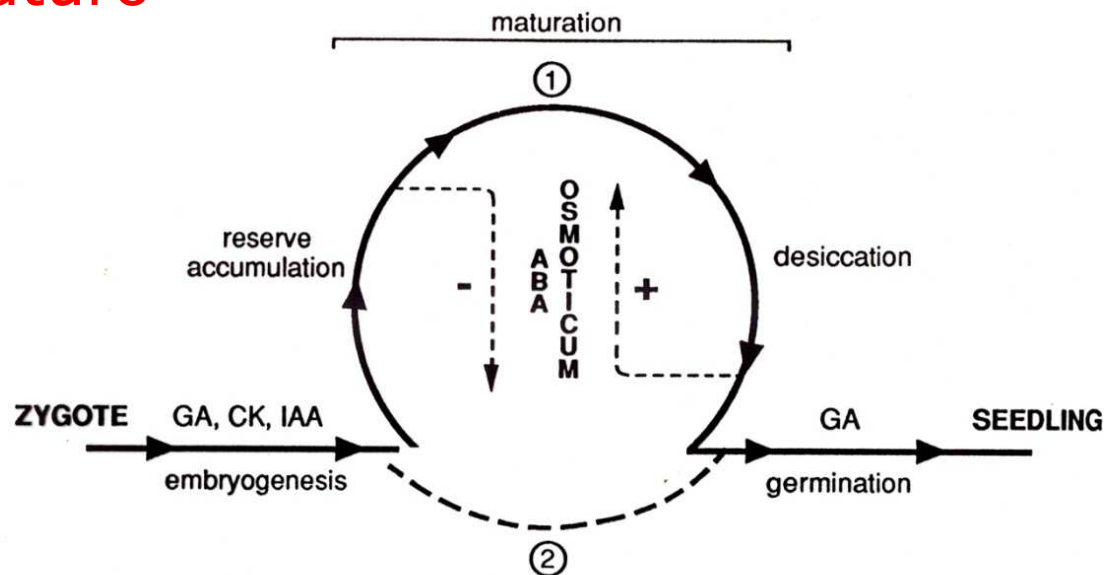
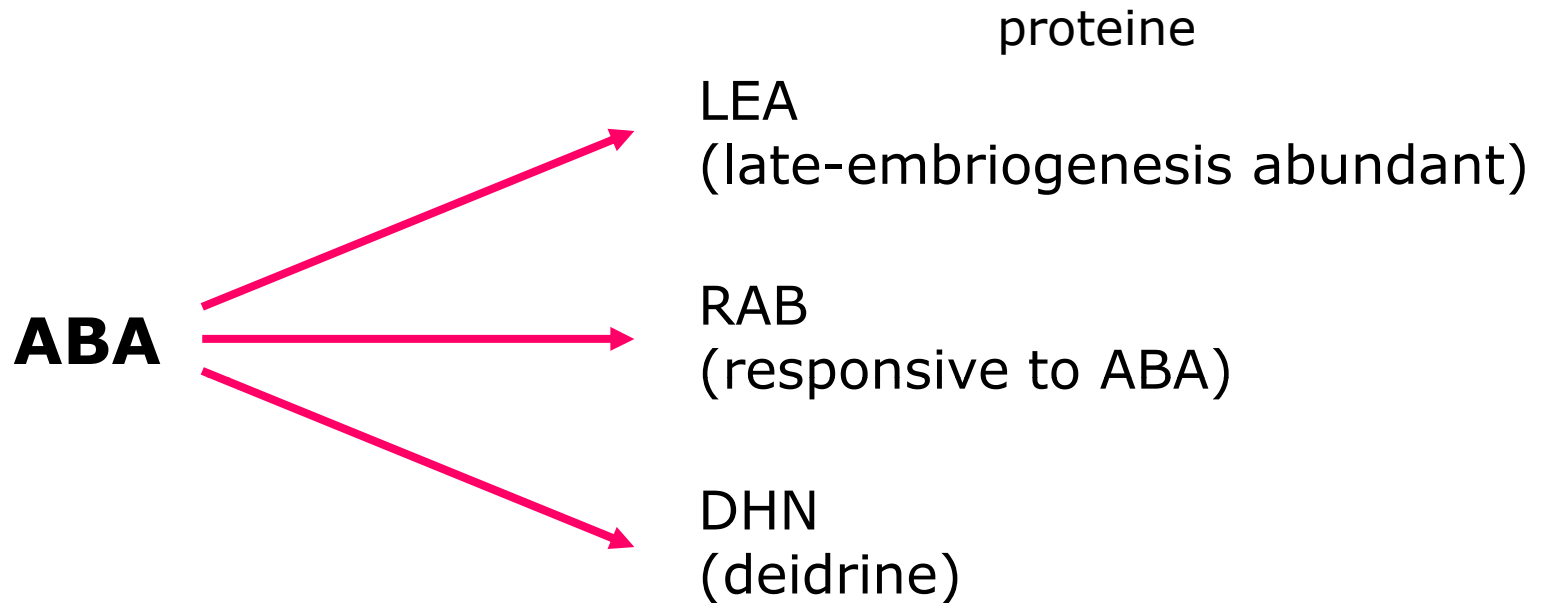


Fig. 2. A generalized representation of embryo development in angiosperms, showing three major stages from zygote to seedling: embryogenesis, maturation, and germination, and the importance of plant hormones in development. The maturation "loop" (1) can be by-passed in culture by precocious germination of embryos (2). This occurs in the absence of ABA and the presence of reduced nitrogen (e.g., glutamine) and carbon (e.g., sucrose), and in some cases by premature desiccation. In the presence of high osmoticum and/or ABA, maturation is promoted and precocious germination inhibited. Upon desiccation these processes are finalized, and normal germination will occur in response to imbibition. In culture, embryos can reversibly enter or leave the maturation loop by application (+) or removal (-), respectively, of high osmoticum or ABA.

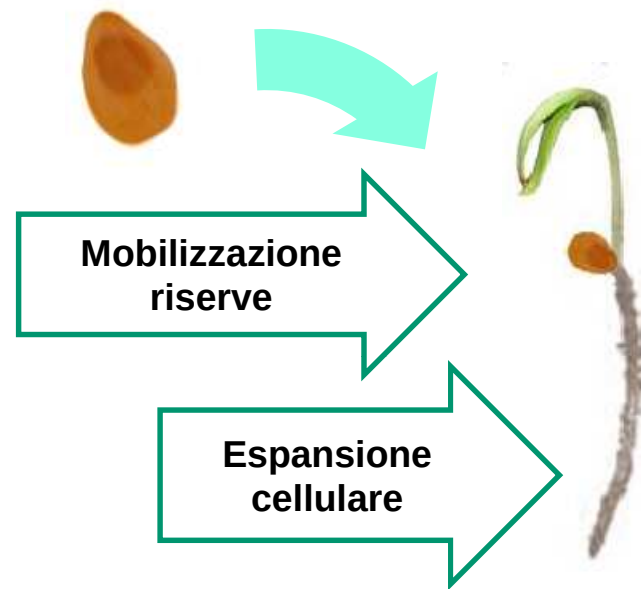
L'ABA promuove l'accumulo di sostanze di riserva e la tolleranza alla disidratazione



ricche in lisina
- AA idrofobici

prevencono cristallizzazione
componenti cellulari

GERMINAZIONE



Seme maturo disidratato: **quiescente**
(reidratato germina)

Se reidratato non germina: **dormiente**
(necessario segnale o trattamento)

Dormienza imposta dal tegumento
(barriere meccaniche per lo più)

Dormienza dell'embrione
(presenza di inibitori, ABA o assenza di promotori GA)

Dormienza primaria: dormienti prima della dispersione

Dormienza secondaria: acquisita dopo la dispersione

Fattori ambientali portano alla perdita della dormienza

Post-maturazione (super disidratazione)

Freddo

Luce

L'ABA inibisce la germinazione precoce e la viviparia

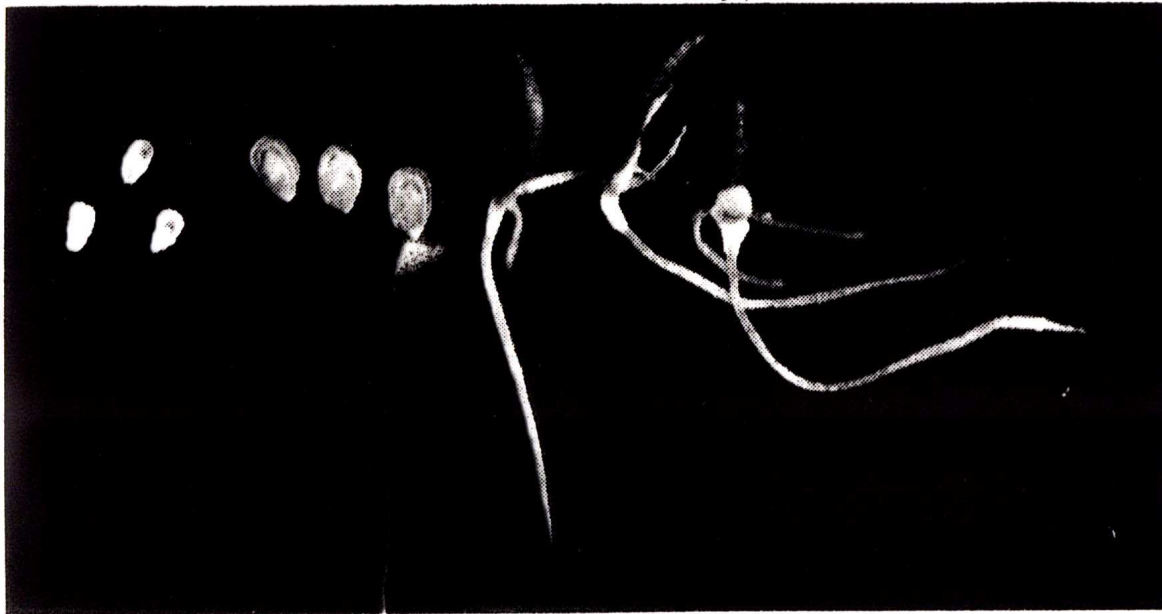


Fig. 3. Stage III wheat embryos (1.5 mm length) at the beginning of incubation (left), after 5 days in culture + 100 μ M ABA (middle), and after 5 days in culture - ABA (right). Note embryo growth and scutellum enlargement in + ABA embryos. From Rogers and Quatrano, *Am. J. Bot.* 70, 308-311 (1983).

Embrioni maturi rimossi dai semi prima della dormienza germinano precocemente; L'ABA inibisce la germinazione

I mutanti di mais *vp* hanno un blocco nella via dei carotenoidi, hanno quantità ridotte di ABA e presentano il fenomeno della *viviparia*



vp2

I semi
germogliano
quando sono ancora
sul frutto



vp14

Il rapporto ABA/GA nell'embrione regola la dormienza del seme

ruolo dell'ABA: mutanti aba arabidopsis non dormienti
mutanti vp di mais viviparia

Rapporto ABA/GA:

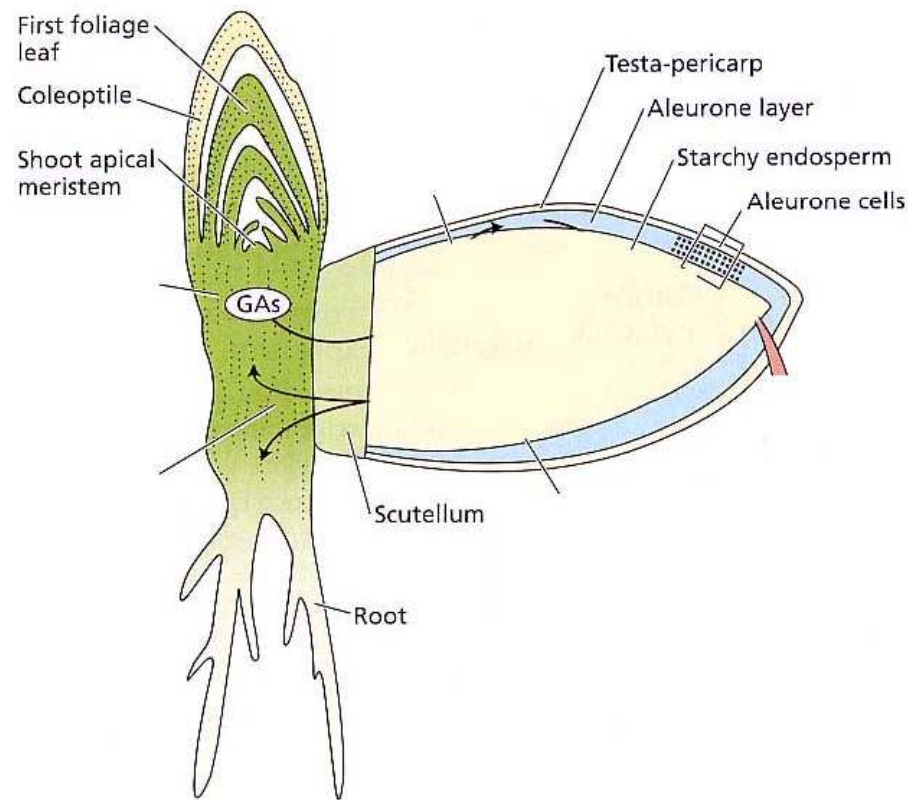
Mutagenesi di un mutante di arabidopsis carente in GA
incapace di germinare

La seconda mutazione ripristina la capacità di
germinare

La mutazione è una mutazione **aba** (il mutante è
carente anche in ABA)

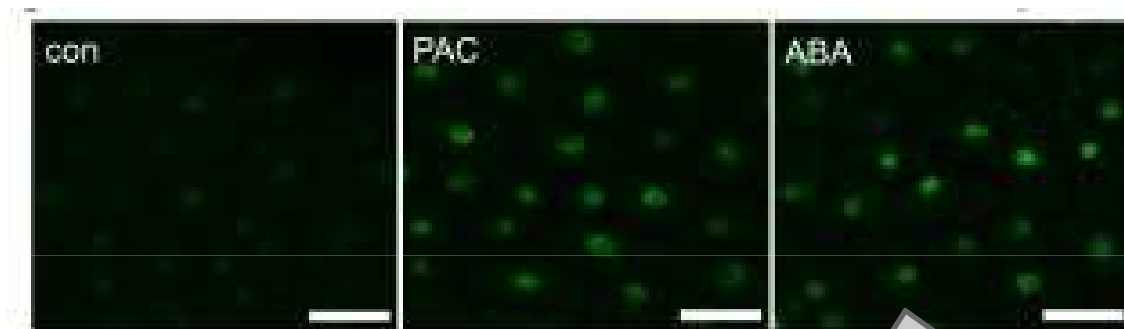
Nel seme dei cereali l'ABA antagonizza la produzione di enzimi idrolitici dell'endosperma (α -amilasi).

Inibisce la trascrizione dell'mRNA dell' α -amilasi



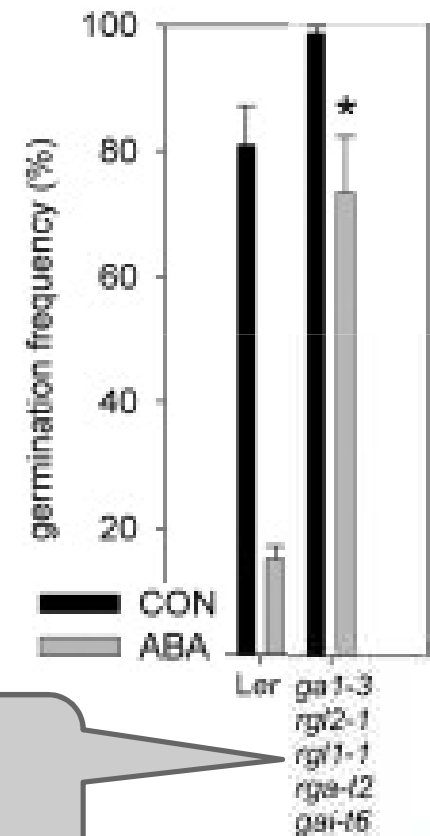
L'effetto dell'ABA richiede le proteine DELLA

Espressione di *pRGA:GFP-RGA* in semi a bagno 24 ore in acqua (con), paclobutrazolo (PAC) o ABA



**ABA stabilizza le
proteine DELLA**

**L'inibizione della
germinazione da parte
del'ABA richiede le proteine
DELLA**



PERCEZIONE E TRASDUZIONE DEL SEGNALE

(negli effetti sulla trascrizione genica)

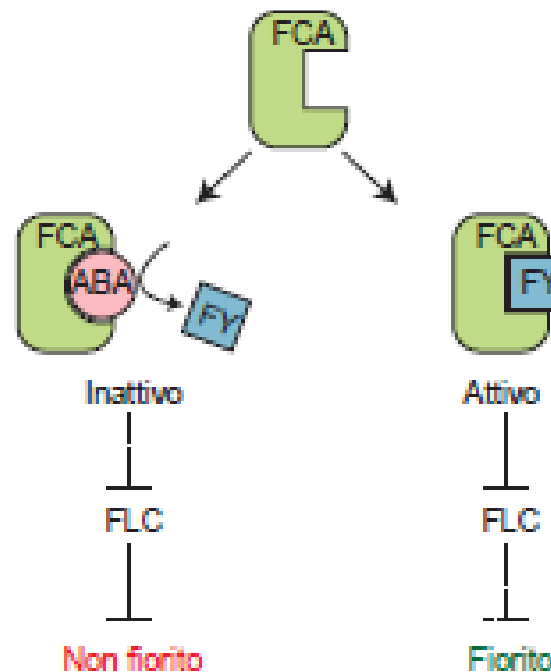
PERCEZIONE

Recettore

In tessuti di aleurone di orzo **ABAP1** apparentemente

localizzato sulla Membrana plasmatica

Forte omologia con **FCA** (flovering time control A) proteina nucleare implicata nel controllo della fioritura



Mutazioni *abi1* e *abi2* di arabidopsis:

Risposta diminuita all'ABA (riduzione dormienza, appassimento)

mutazioni dominanti

Codificano per protein fosfatasi di tipo 2C
(PP2C)

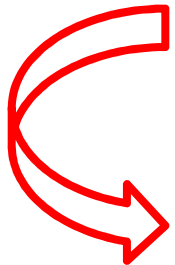
(mutazioni recessive *abi1* e *abi2* portano ad un aumento di sensibilità all'ABA)

PP2C= regolatori negativi della via di trasduzione
dell'ABA

Recettore

Più recentemente identificata una famiglia di 14 proteine
START in arabidopsis mediante studi di resistenza alla
pirabactina un inibitore sintetico della germinazione

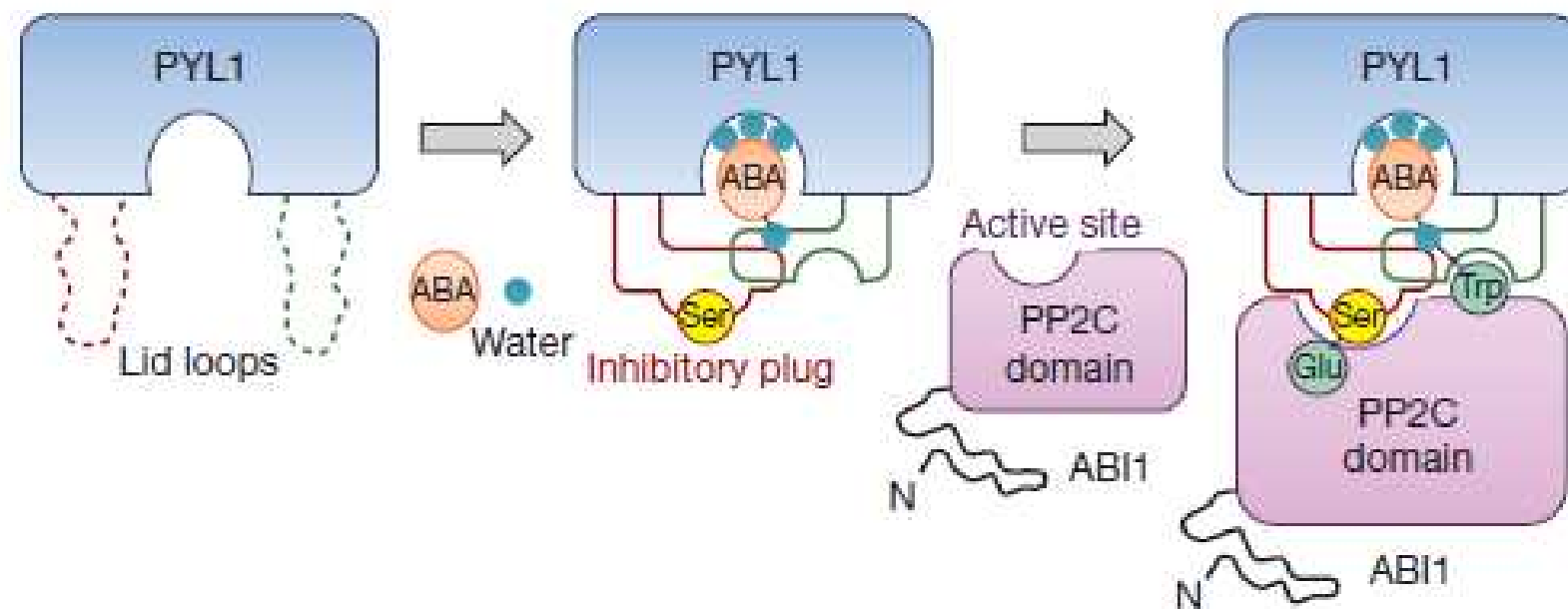
Proteine PYR/PYL



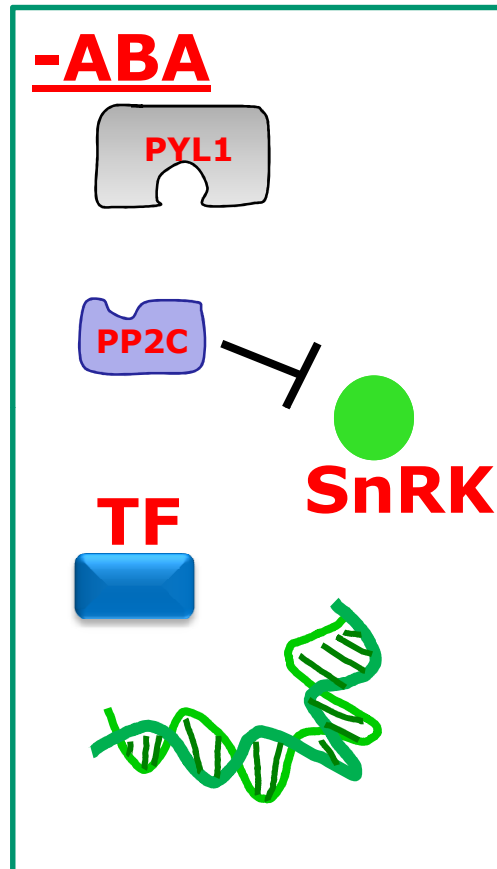
Recettori dell'ABA

Trasduzione

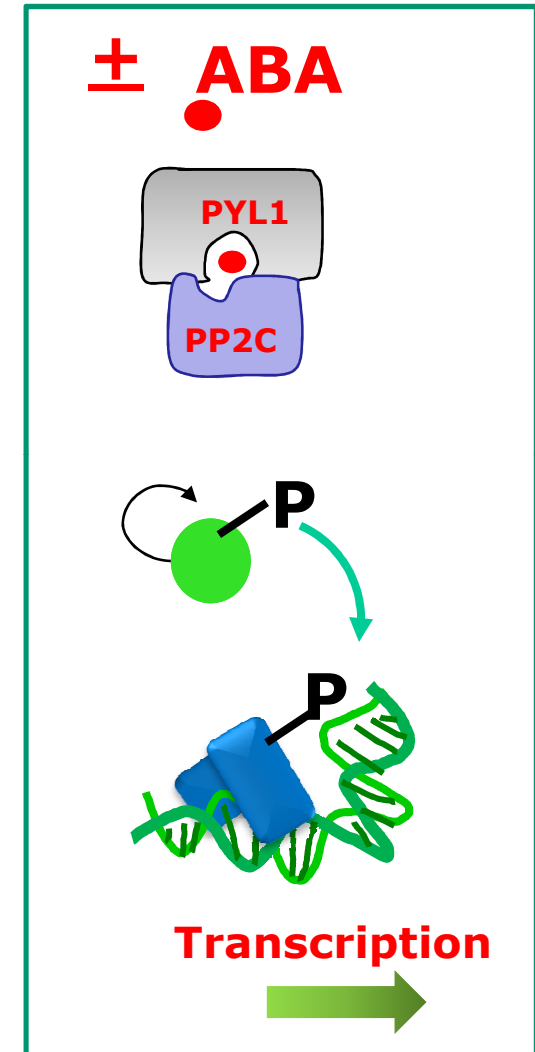
Il legame dell'ABA a PYL1 determina l'associazione della fosfatasi PP2C e la sua inibizione



Trasduzione



L'inattivazione di **PP2C** determina l'attivazione della chinasi **SnRK** e l'attivazione di fattori di trascrizione



L'ABA regola la trascrizione genica

- Durante la maturazione del seme
- In risposta a stress (siccità, basse T, salinità)

In arabidopsis e riso 5-10% del genoma
regolato da ABA in risposta a stress

Identificate 4 classi di sequenze regolative *cis*

TABELLA S23.10.1		
<i>Classe di elementi promotori cis-acting</i>	<i>Sequenze di consenso</i>	<i>Classe di proteine che legano il DNA</i>
Elementi di risposta all'acido abscissico (ABRE): ACGT- (G/ABRE)	GaC <u>ACGTG</u> (G/T)C	Basic leucine zipper (BZIP), per esempio EmBP1, GBF3 e famiglia ABIS/ABF/AREB
Non ACGT- (C/ABRE) DPBF ABF CE3- Elementi Sph/RV	CGCGTGgc ACA <u>CNNG</u> GNTGA <u>ACGTG</u> (G/T)C RCGY(C(G)T(C/G) CATGCATG	Dominio B3, per esempio VP1/ABI
Elementi di riconoscimento Myb	YAAC(G/T)G	MYB, per esempio AtMyb2
Elementi di riconoscimento Myc	CANNTG	MYC, per esempio AtMyc1

I geni regolati dall'ABA presentano combinazioni diverse di questi elementi

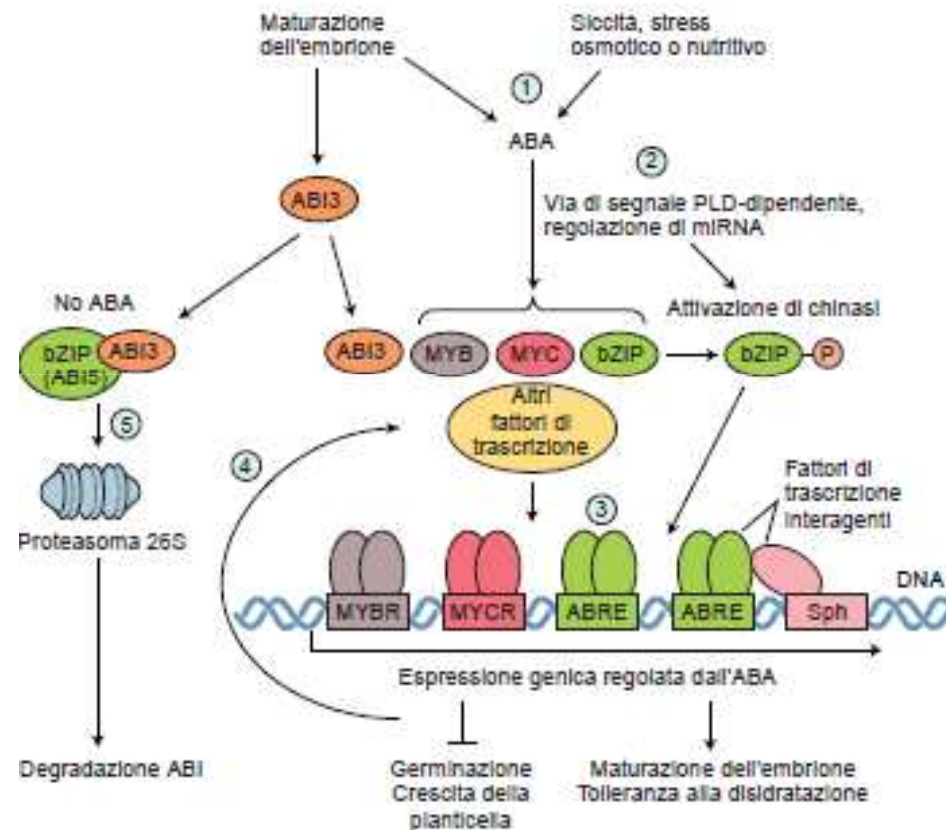
Identificati anche diversi fattori di trascrizione che si legano alle sequenze *cis*

Appartengono a diverse classi: bZIP, B3, MYB, MYC, HdZIP, WRKY

Identificati 4 FT coinvolti nella maturazione del seme

Mutazioni *vp1*, *abi3*, *abi4*, *abi5*.

I FT possono formare omo o eterodimeri all'interno delle varie classi o in alcuni casi si hanno interazioni tra membri di classi diverse
Le diverse combinazioni determinano l'espressione di geni diversi



In assenza di ABA i FT sono degradati dalla via del proteosoma