

CITOCHININE

1913 Haberlandt



il tessuto vascolare contiene una sostanza in grado di stimolare la divisione cellulare (tubero patata)



1930 White

radici pomodoro possono essere coltivate in modo indefinito in un terreno minimo (saccarosio, vitamine, sali minerali)

tessuti isolati dal fusto non sono in grado di crescere (anche in presenza di auxina)

piantine private di radici non crescono in terreno minimo fino a quando non si formano le radici avventizie



un fattore prodotto dalla radice regola la crescita del germoglio

ricerca del fattore che regola la divisione cellulare

1930 White

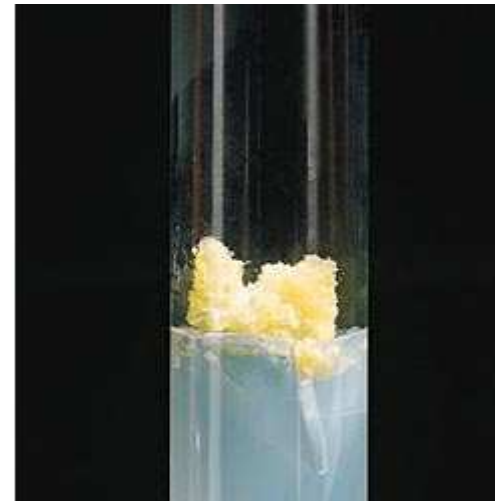
il succo pomodoro e il latte di cocco contengono una sostanza in grado di promuovere la divisione cellulare (non identificata)

'50 Skoog

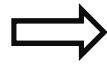
Ricerca di fattori in grado di stimolare la divisione in tessuti di tabacco in coltura

adenina → + stimolo

DNA autoclavato → ++++ stimolo

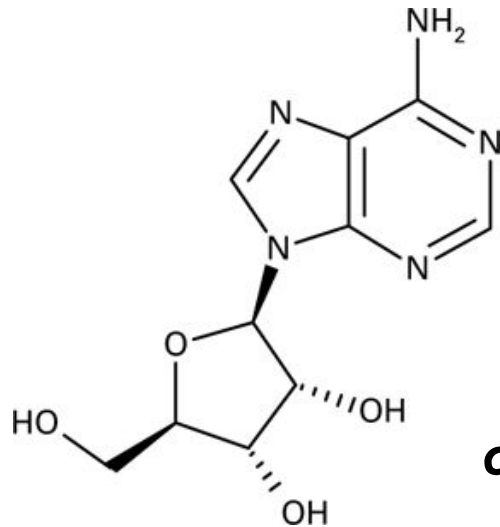
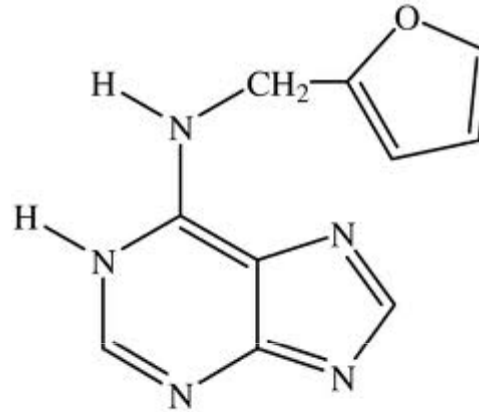


DNA autoclavato



chinetina
(6-furfuril-aminopurina)

In presenza di auxina la
chinetina stimola la
proliferazione del
tessuto parenchimatico
di tabacco



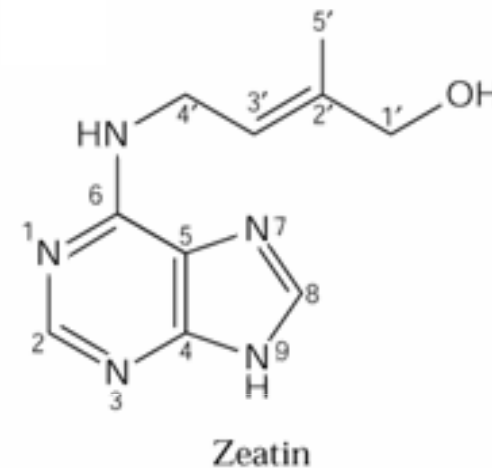
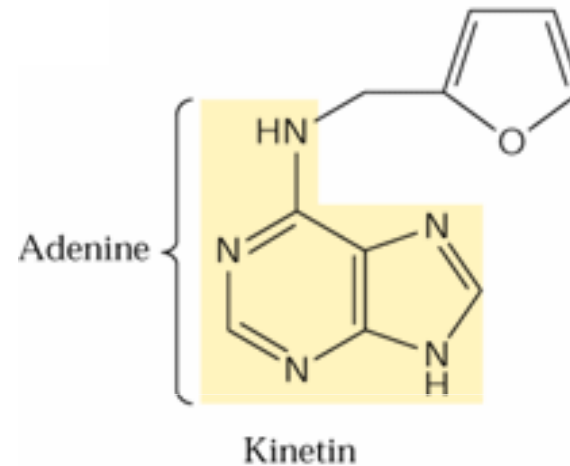
adenosina

**esiste nelle piante una
sostanza simile alla chinetina?**

1973

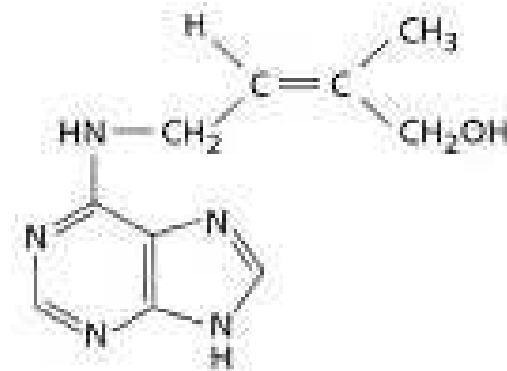
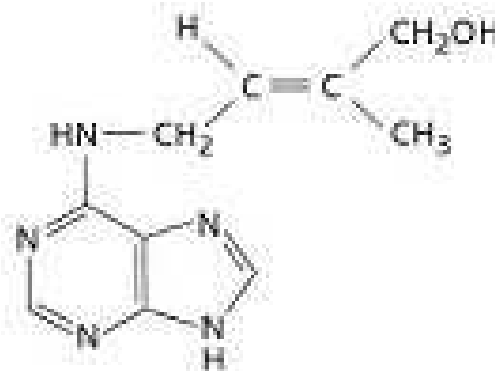
identificazione dell'endosperma di mais della **ZEATINA**
(stimola divisione insieme ad auxina)

Struttura simile
alla chinetina

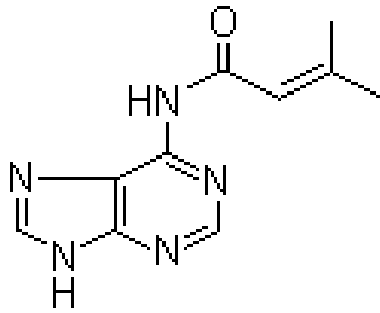


configurazione
cis/trans

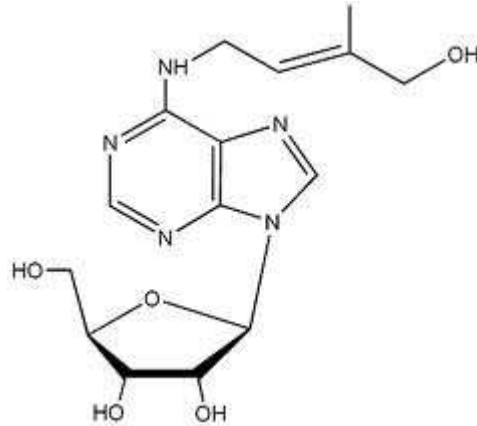
trans = forma attiva



6-(4-Hydroxy-3-methylbut-2-enylamino)purine



Isopentenil adenina

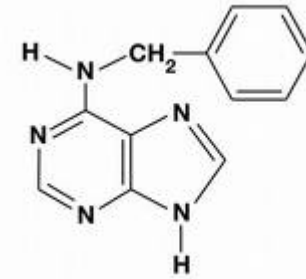


Zeatina riboside

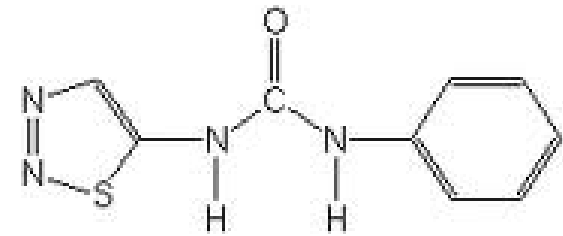
Citochinine: composti con attività biologica simile a quella della trans-zeatina

- Induzione divisione cellulare in calli in coltura in presenza di auxina
- Induzione della formazione di gemme in calli in coltura in presenza di auxina
- Ritardo senescenza fogliare
- Espansione cotiledoni

Citochinine sintetiche

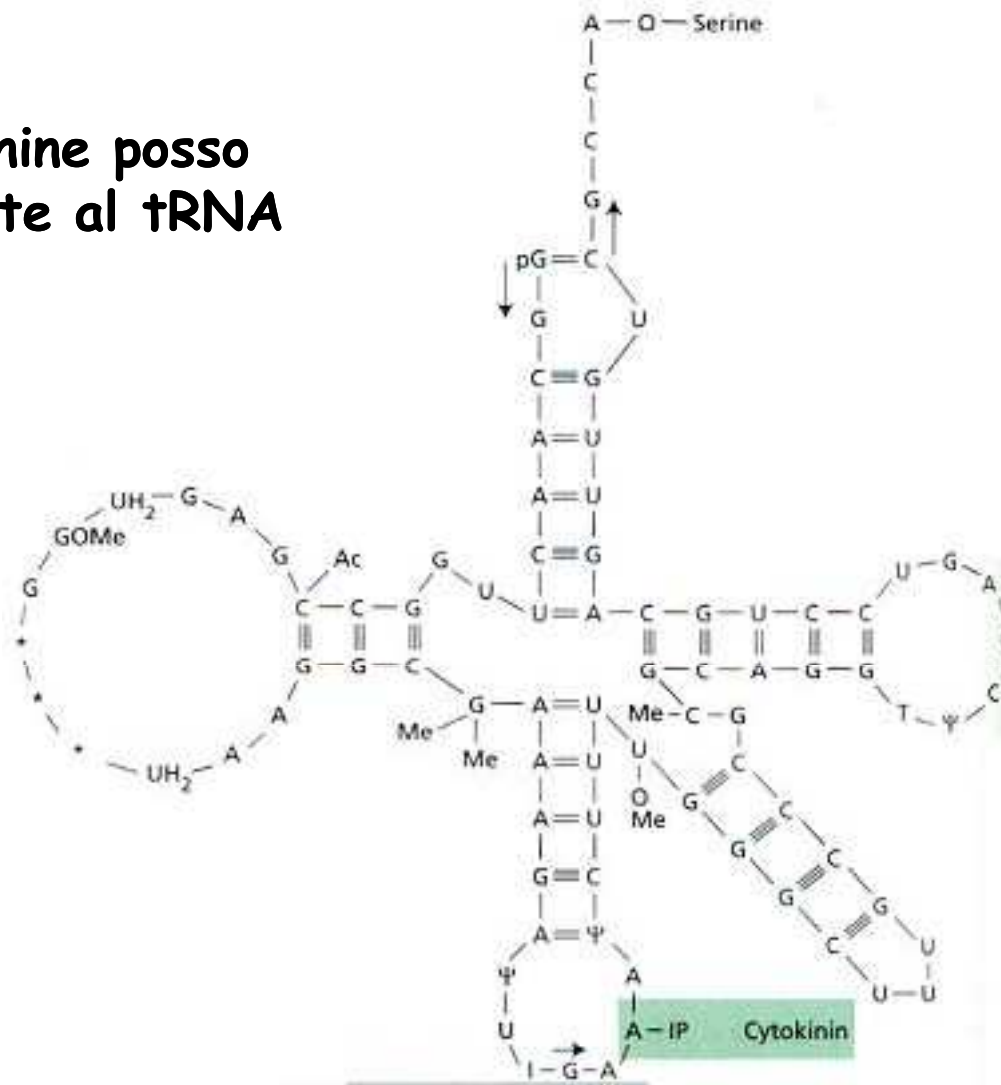


benziladenina



thidiazuron

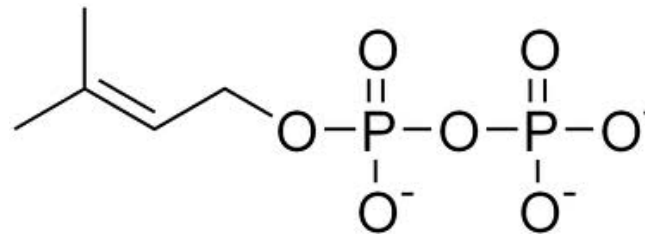
Le citochinine posso
essere legate al tRNA



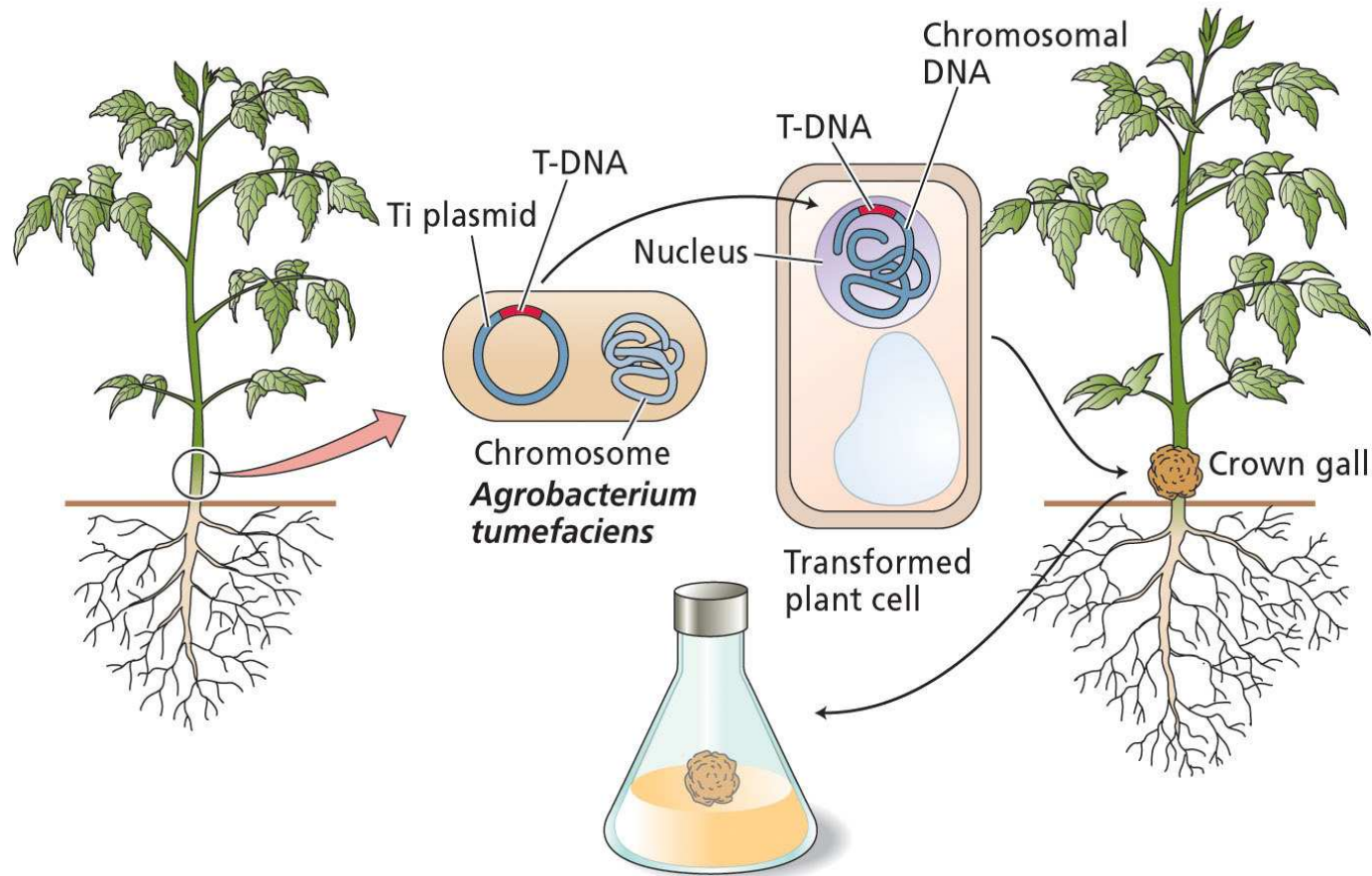
preniltransferasi → aggiunge gruppi isopentenilici
all'adenina

BIOSINTESI DELLA ZEATINA

Il precursore è il DMAPP

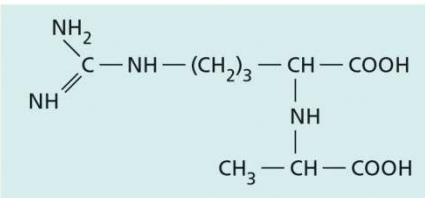


***Agrobacterium tumefaciens* induce la formazione della galla del colletto, tumore capace di sintetizzare elevate quantità di citochinine**

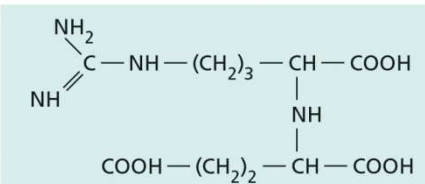


T-DNA contiene geni per la biosintesi di:

- zeatina (**isopentenil transferasi**) e auxina
- opine, derivati di aminoacidi che il batterio, ma non la pianta, utilizza come fonte di azoto



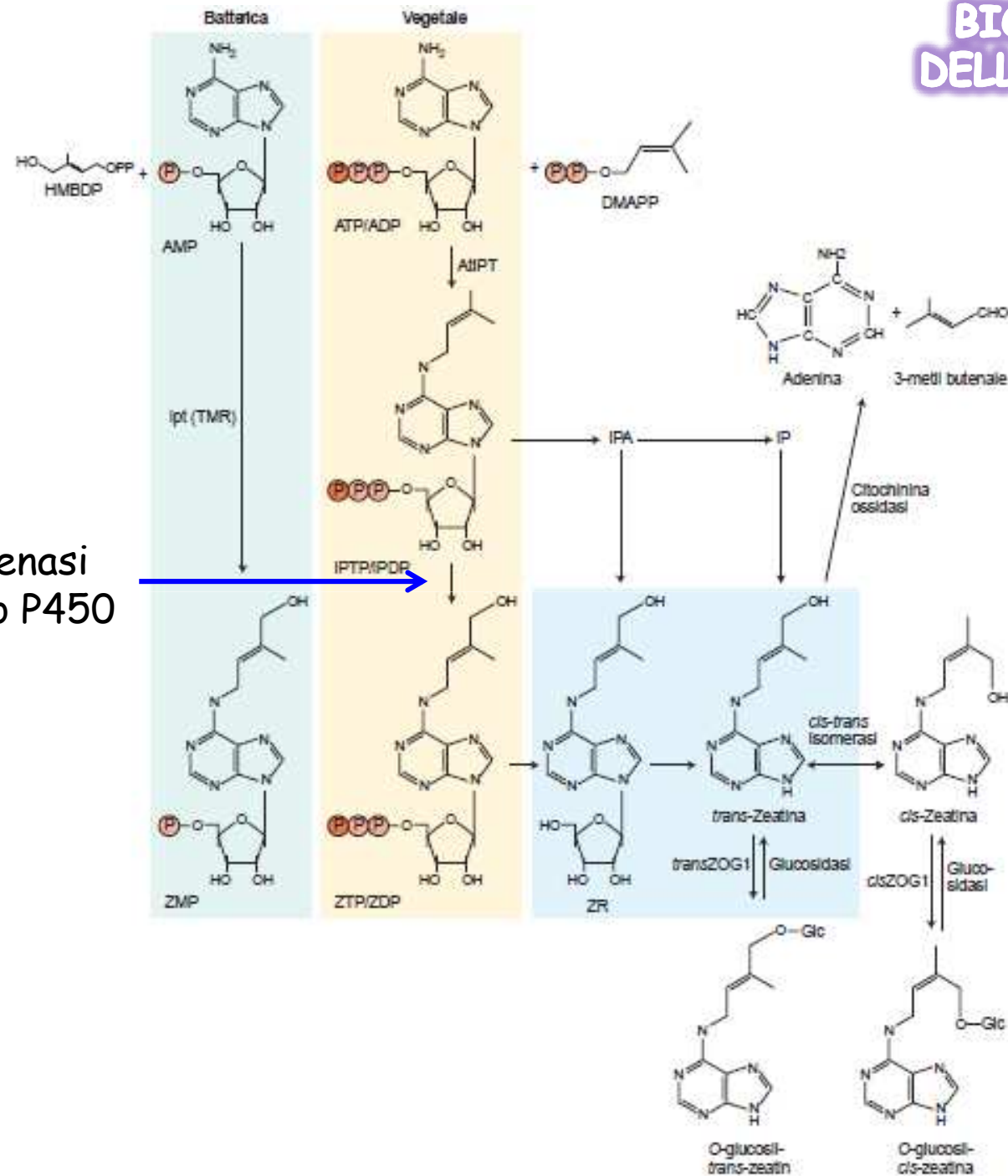
Octopine



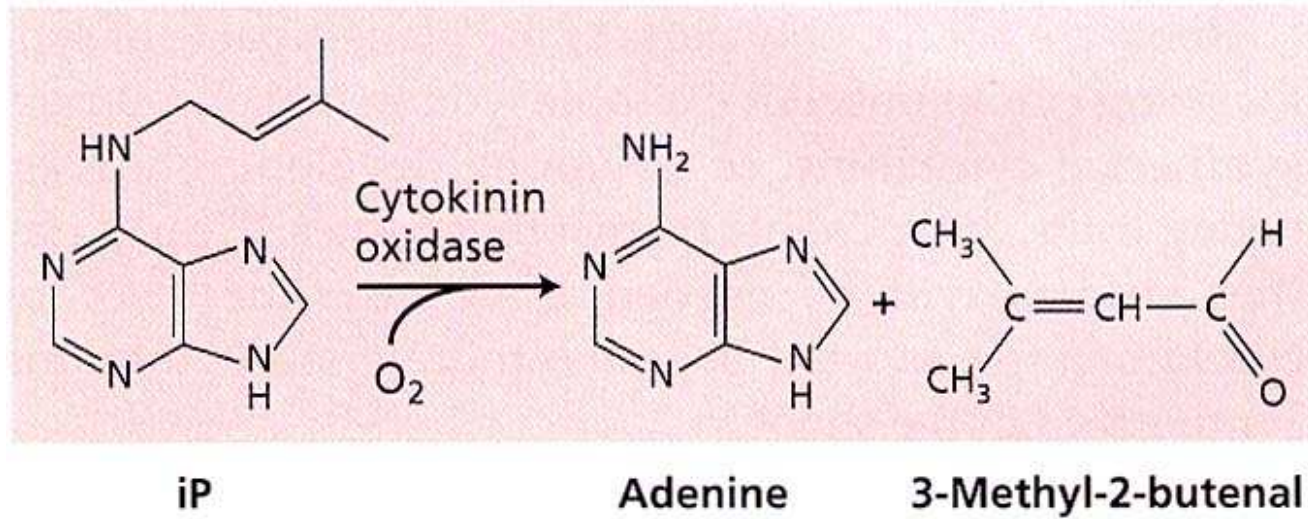
Nopaline

BIOSINTESI DELLA ZEATINA

Monossigenasi
citocromo P450



degradazione citochinine



gene **citochinina ossidasi** $\longrightarrow$ indotto da citochinine

Il principale sito di sintesi delle citochinine è la radice

meristema apicale radice



zeatina riboside

xilema



foglie
semi

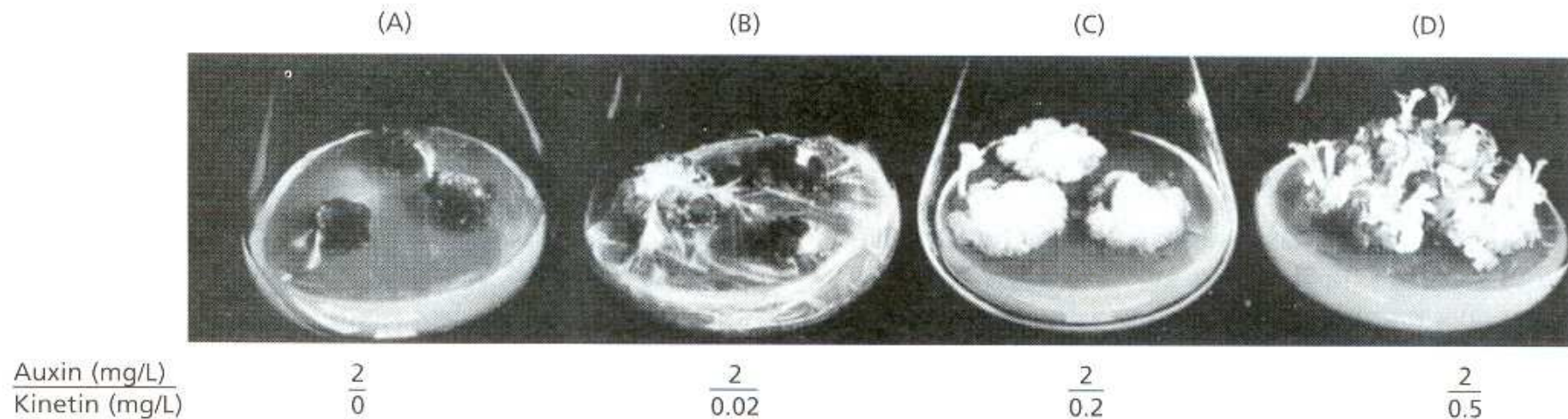
glucosidi

Il trasporto della zeatina
dipende da un **segnale
prodotto dal germoglio**
(prove con innesti con
mutanti *rms4*)

In *Arabidopsis* i geni IPT sono espressi in molti tessuti.
Esistono anche altri siti di sintesi?

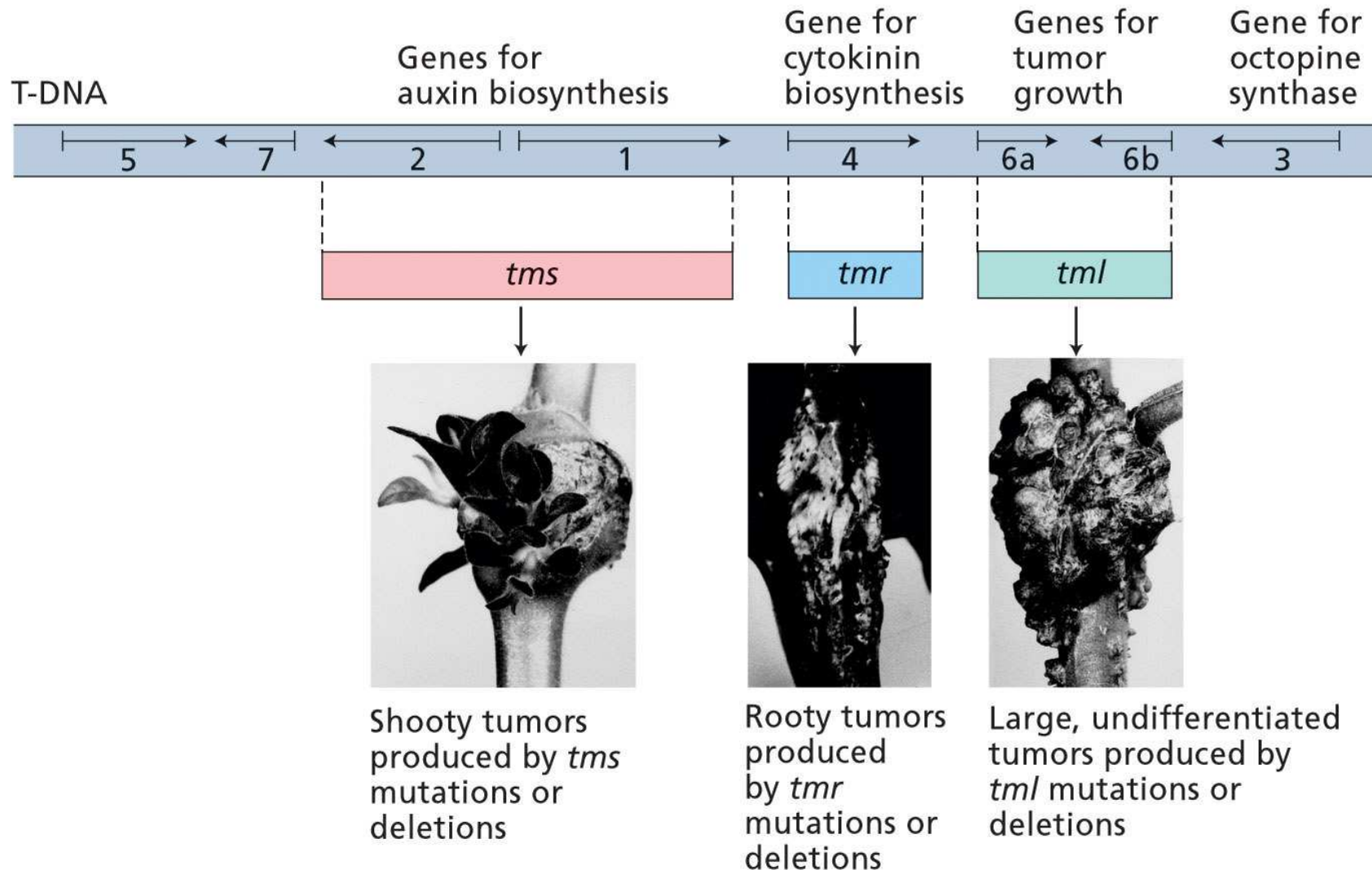
RUOLO BIOLOGICO DELLE CITOKININE

il rapporto **auxina:citochinina** regola la
morfogenesi in tessuti in coltura



- A) no division cellulare
- B) formazione radici
- C) sviluppo callo indifferenziato
- D) formazione germogli

il rapporto **auxina:citochinina** regola la morfogenesi in tessuti in coltura



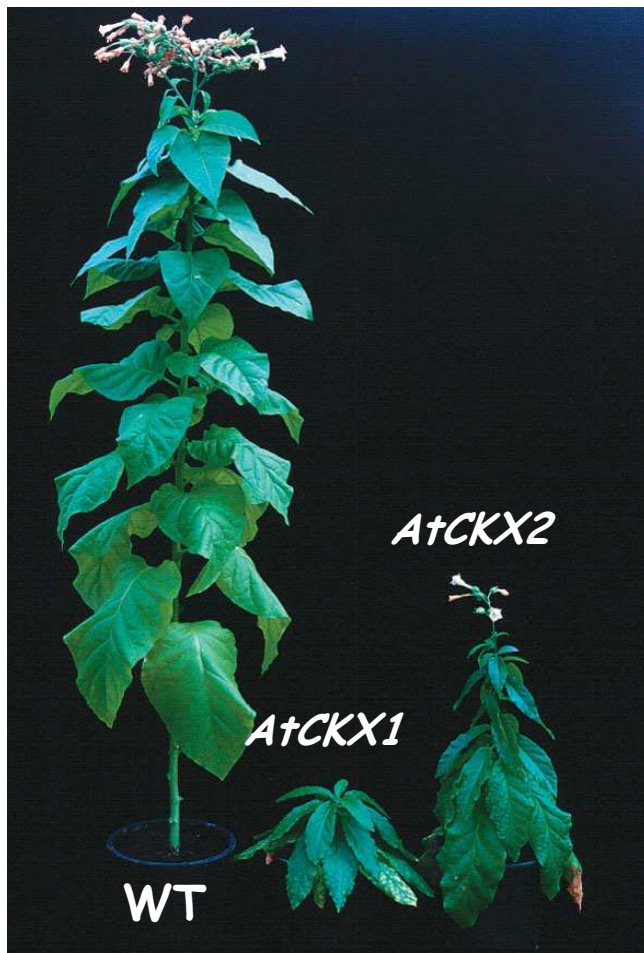
Le citochinine regolano la divisione cellulare nei germogli e nelle radici

Sovraespressione del gene della CITOCHININA OSSIDASI



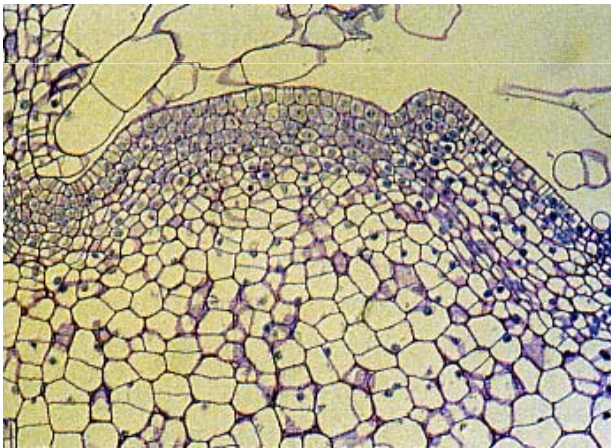
Ridotti livelli di citochinine

Le citochinine stimolano la
divisione cellulare nel germoglio

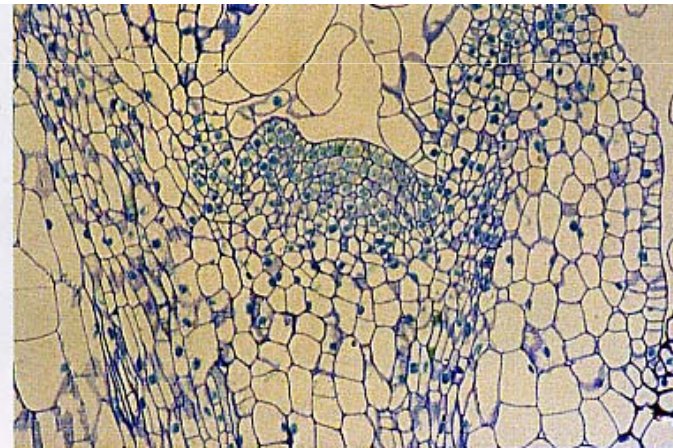


Le citochinine regolano la divisione cellulare nei germogli e nelle radici

le piante AtCKX hanno una ridotta attività del
meristema apicale del germoglio



C



AtCKX

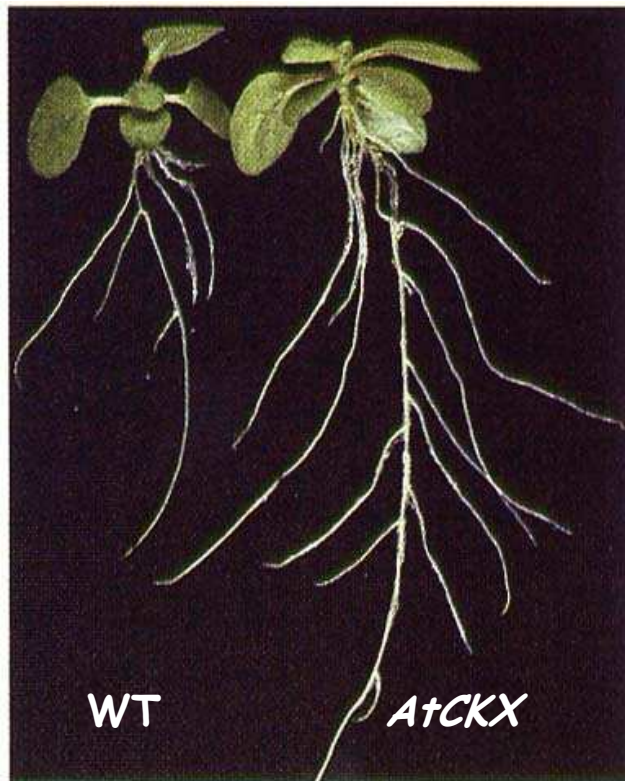
Le citochinine regolano la divisione cellulare nei germogli e nelle radici

Sovraespressione del gene della CITOCHININA OSSIDASI

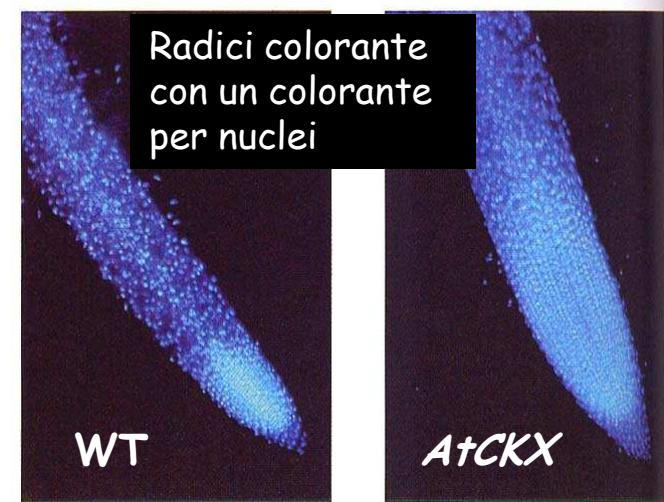


Ridotti livelli di citochinine

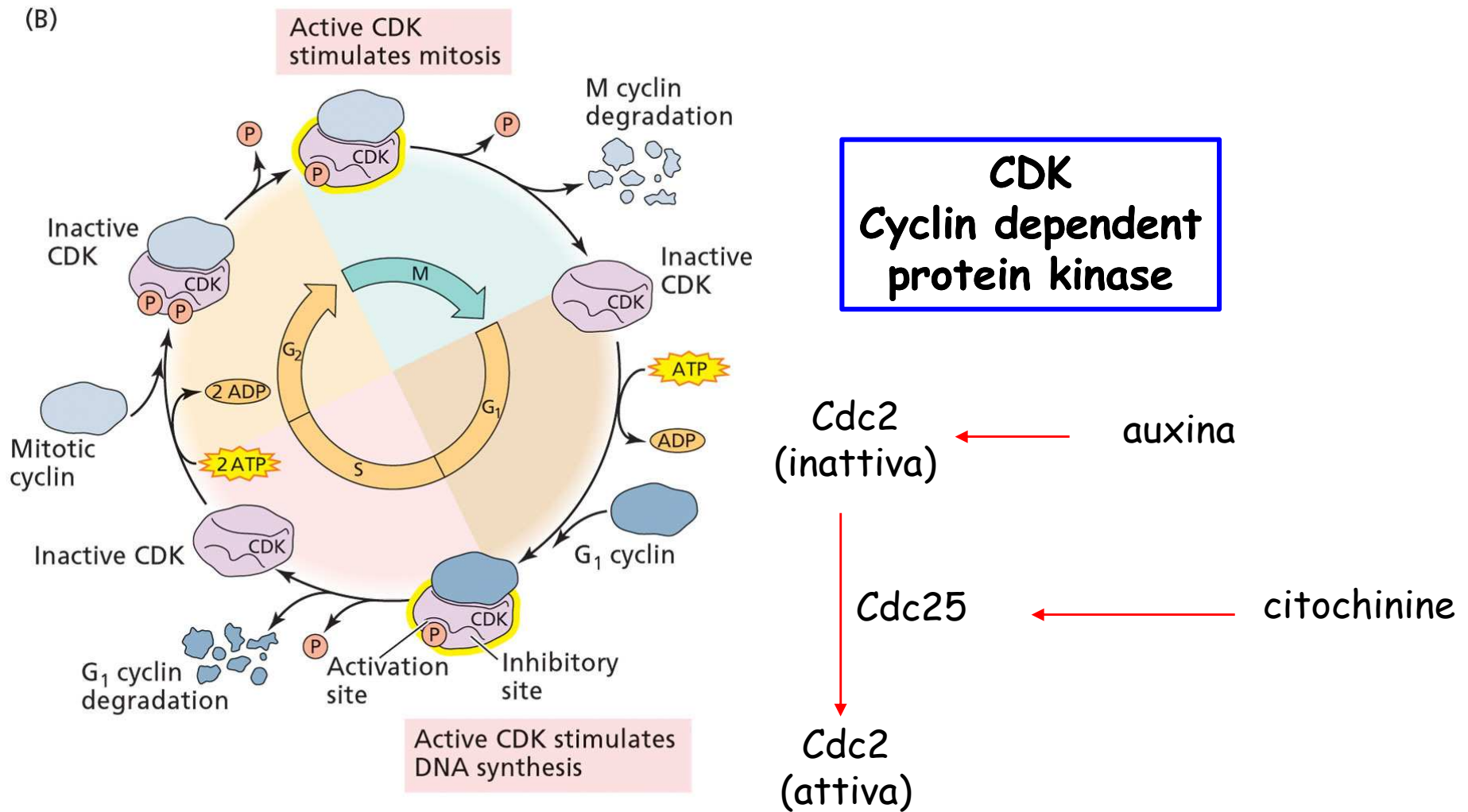
Le citochinine inibiscono la
divisione cellulare nella radice



aumento dimensioni
meristema apicale
della radice



le citochinine regolano componenti del ciclo cellulare

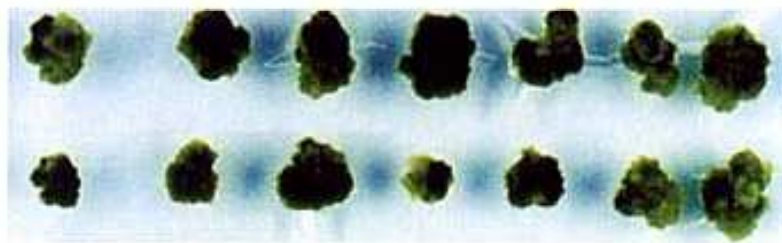


le citochinine regolano componenti del ciclo cellulare

citochinine $\longrightarrow$ **CYCD3**

regola il passaggio dalla fase G1 alla fase S

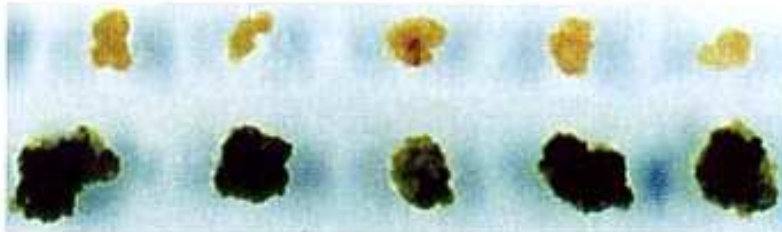
Auxin + cytokinin



wild type

CYCD3
overexpressor

Auxin



wild type

CYCD3
overexpressor

La sovrapproduzione di citochinine determina tumori genetici

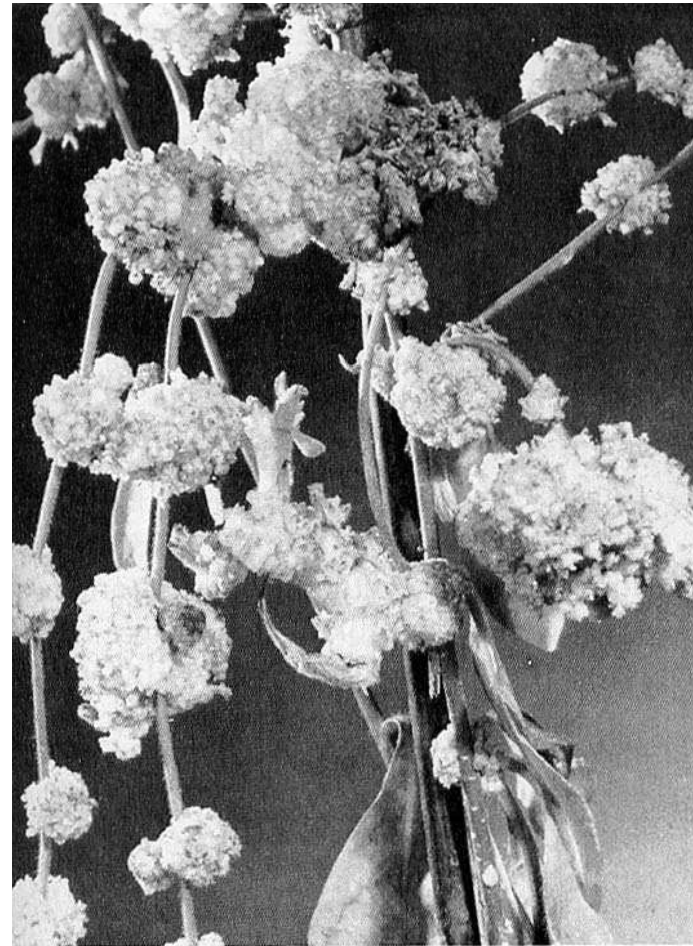
Nicotiana

ibridi interspecie

300 ibridi

90% fenotipo normale

10% tumori genetici



Nicotiana langsdorfii x *Nicotiana glauca*

Analisi di piante con aumentati livelli di citochinine

piante che sovraesprimono il gene *IPT*



gli apici generano più foglie

+ clorofilla

apici avventizi dai piccioli

ritardata senescenza

ridotta dominanza apicale

ridotta capacità di produrre radici
avventizie da fusti recisi

Mutante *amp 1*

Aumento livelli citochinine

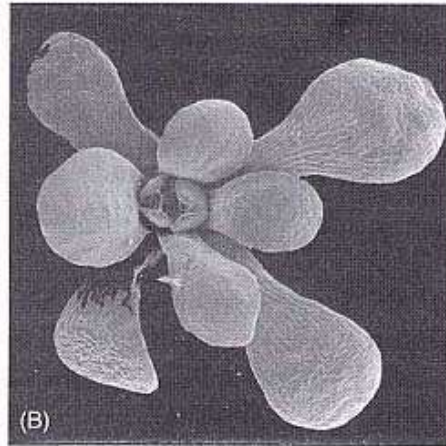
Alterazione meristema apicale del germoglio

Aumento proliferazione cellulare

Aumento espressione *cycD3*

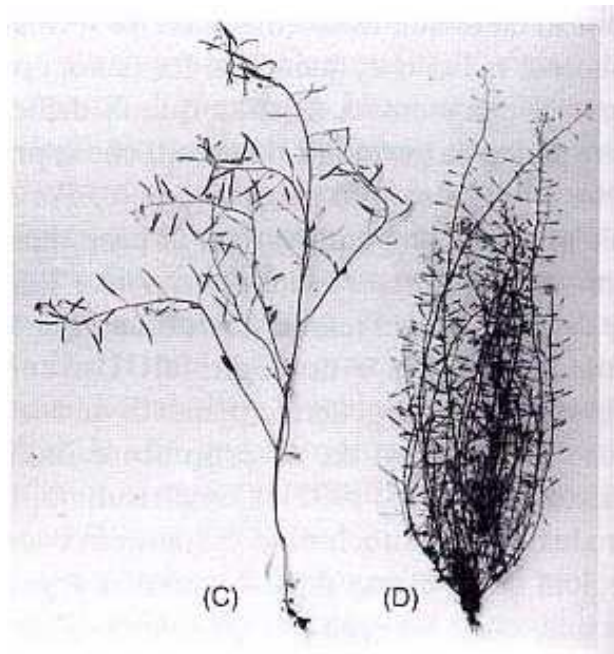


Wt



amp 1

le piante *amp1* hanno una ridotta dominanza apicale



Wt

amp 1



Abete infettato da
*Corynebacterium
fascians*

Witches' broom

L'auxina sopprime lo sviluppo delle gemme ascellari

Le citochinine stimolano la divisione cellulare delle gemme ascellari

Mutanti che sovrapprodcono citochinine sono cespugliosi

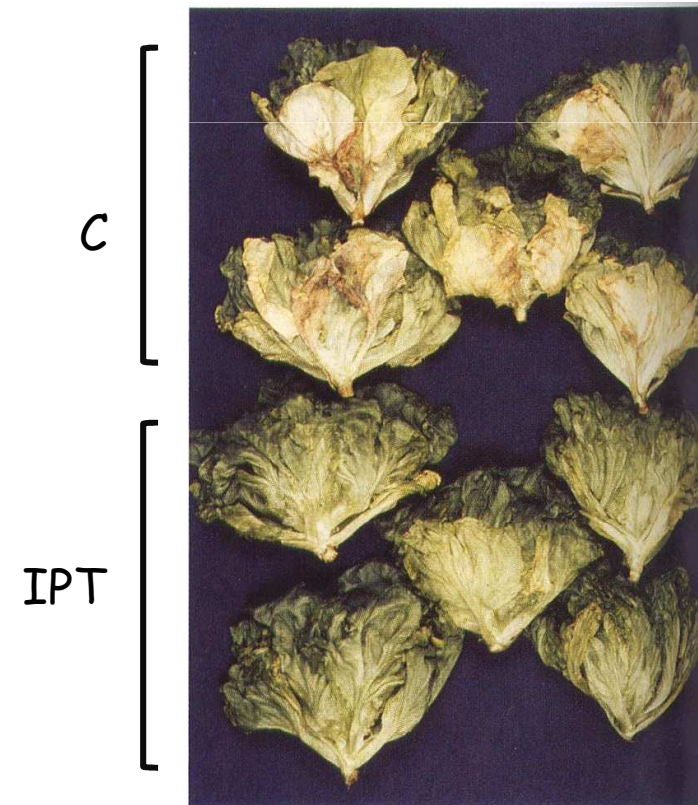
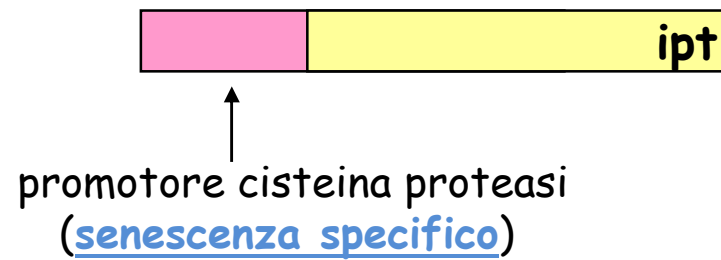
le citochinine ritardano la senescenza fogliare

applicazione citochinine → ritardo senescenza

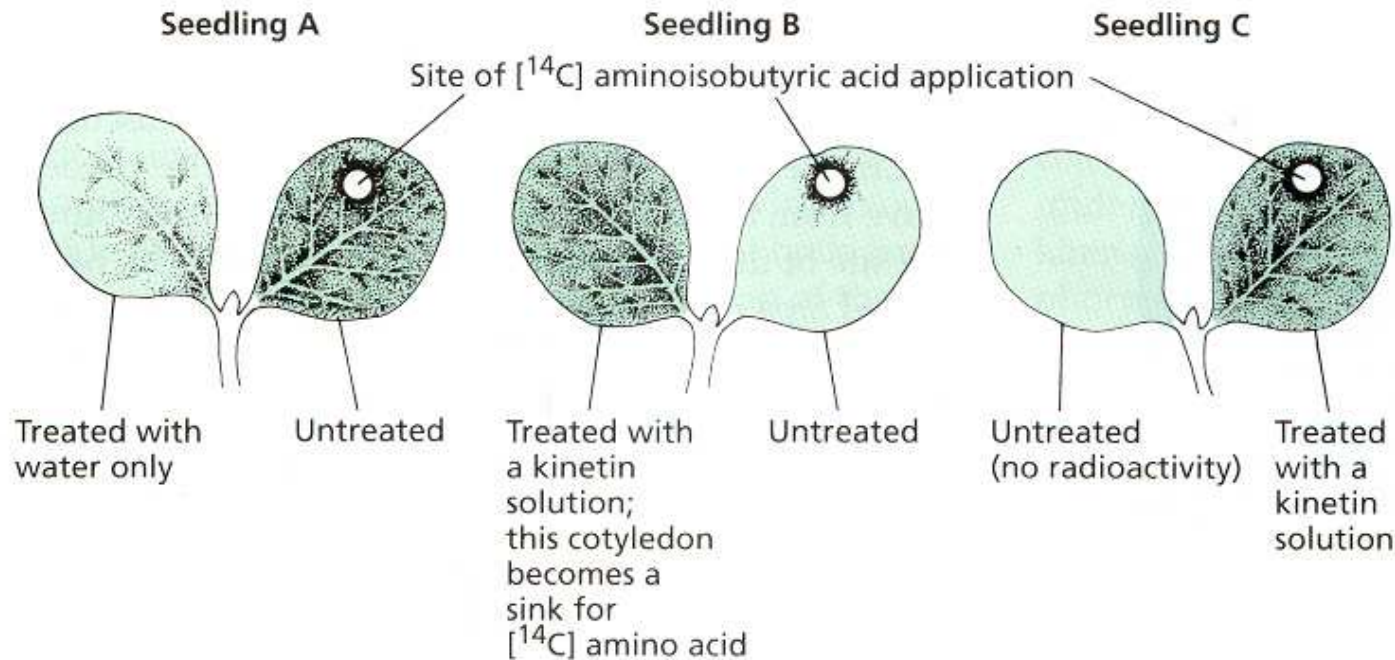


ipt

C



le citochinine promuovono la mobilitazione dei nutrienti



La concentrazione di citochinine è correlata allo stato nutrizionale della pianta

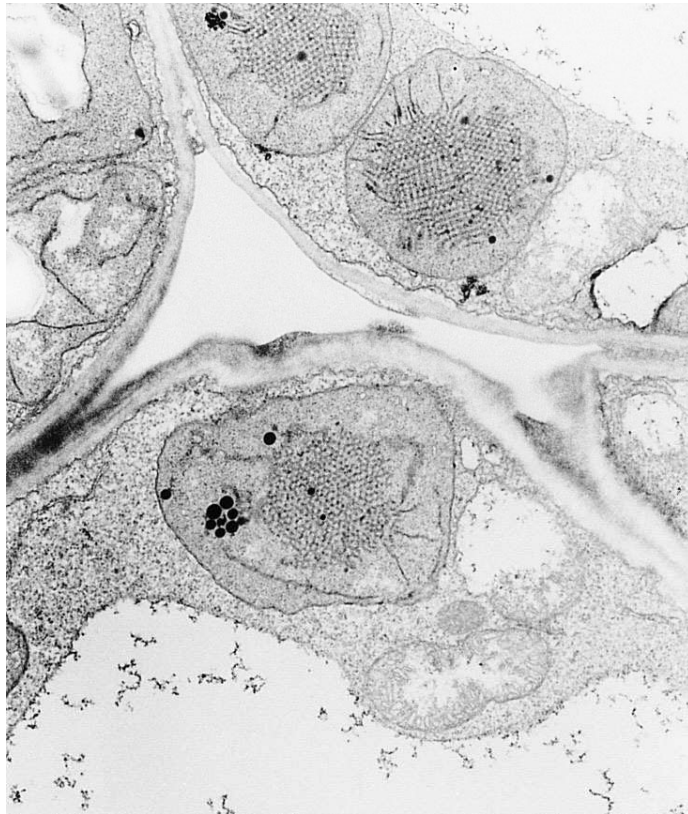
Rapporto **auxina/citochina** → Rapporto **crescita radici/germoglio**

basse concentrazioni di nutrienti → basse concentrazioni di citochinine

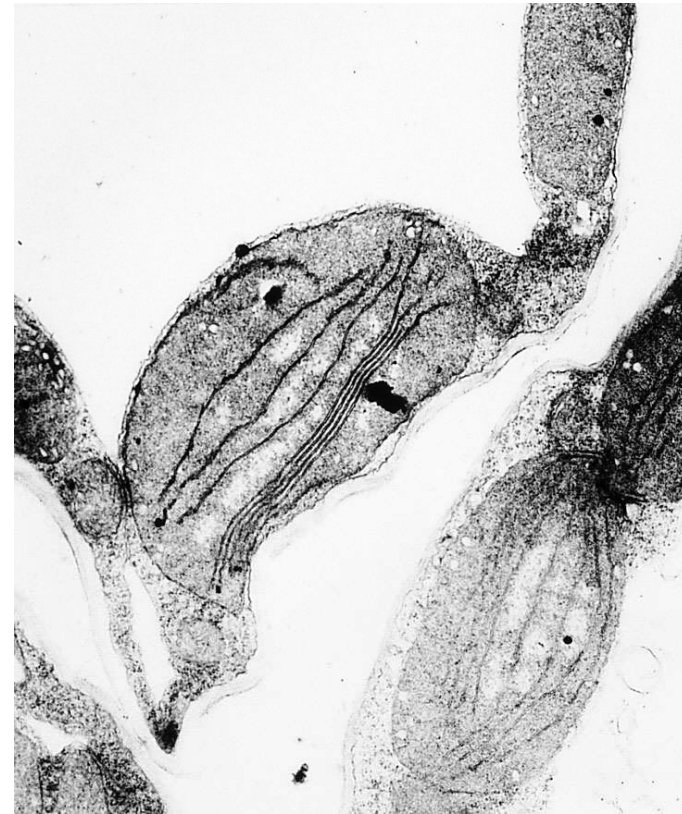


Stimolo crescita delle radici rispetto al germoglio

le citochinine promuovono la maturazione dei cloroplasti



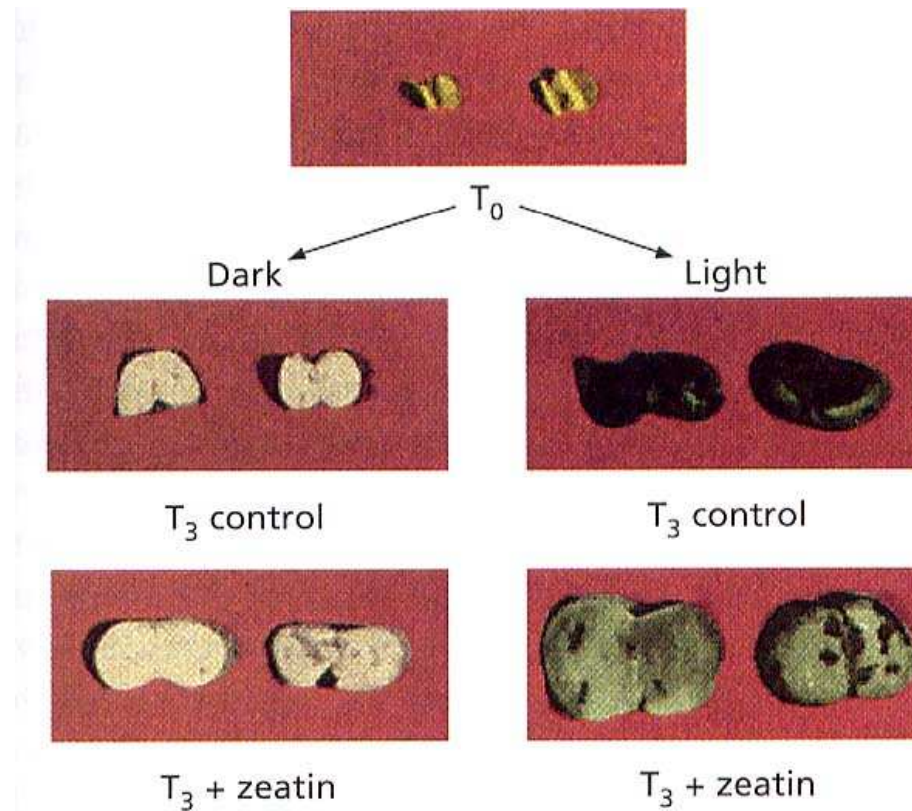
In piantine cresciute al buio, i plastidi si sviluppano come ezioplasti



In piantine cresciute al buio, l'aggiunta di citochinine stimola la formazione dei tilacoidi

le citochinine promuovono l'espansione dei cotiledoni anche al buio

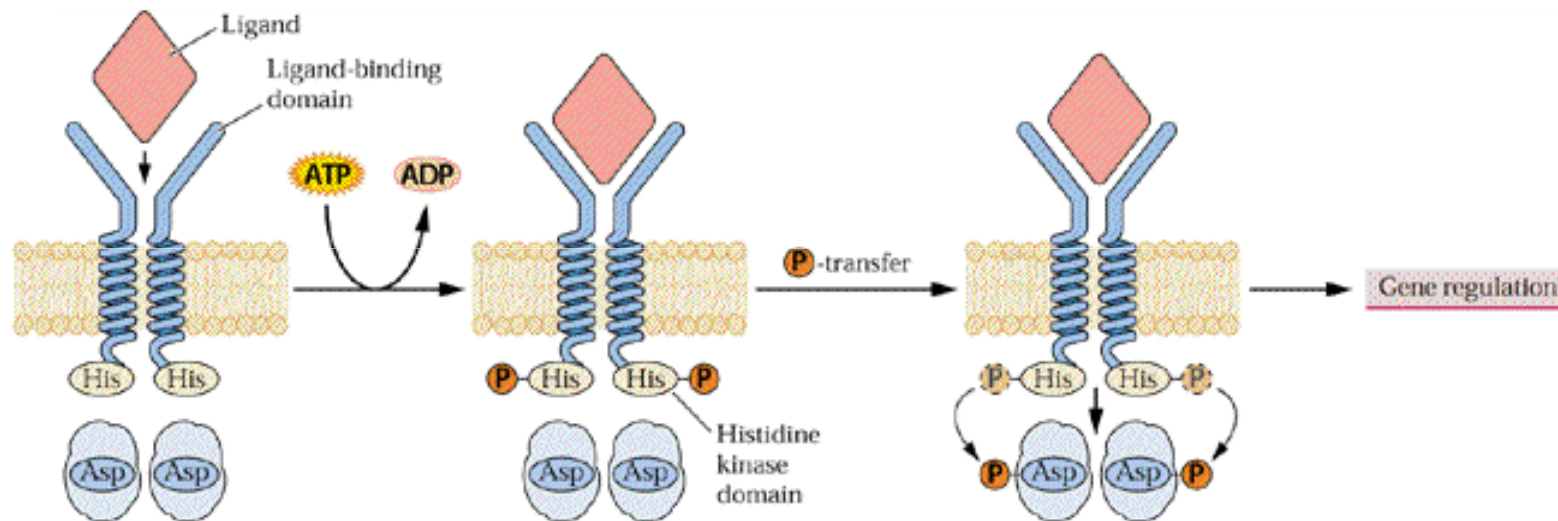
cotiledoni $\xrightarrow{\text{luce}}$ espansione cellulare



MECCANISMO DI AZIONE

Le citochinine attivano l'espressione di alcuni geni

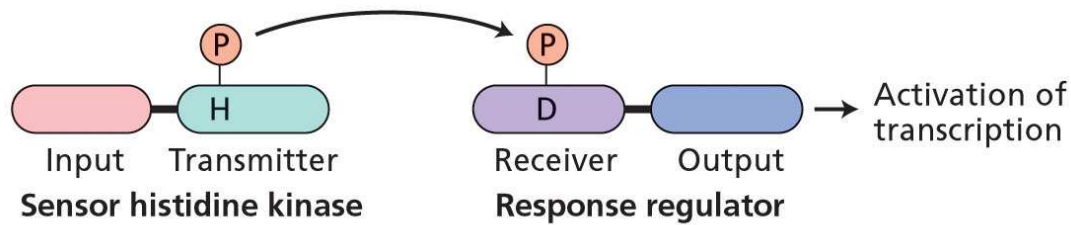
Il recettore delle citochinine è una proteina simile ai recettori
a due componenti batterici



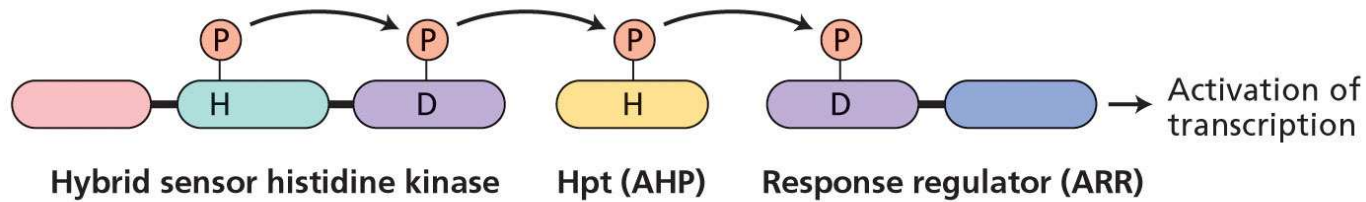
Il recettore delle citochinine è codificato da una famiglia multigenica
CRE1, AHK2, AHK3

MECCANISMO DI AZIONE

Simple two-component signaling system



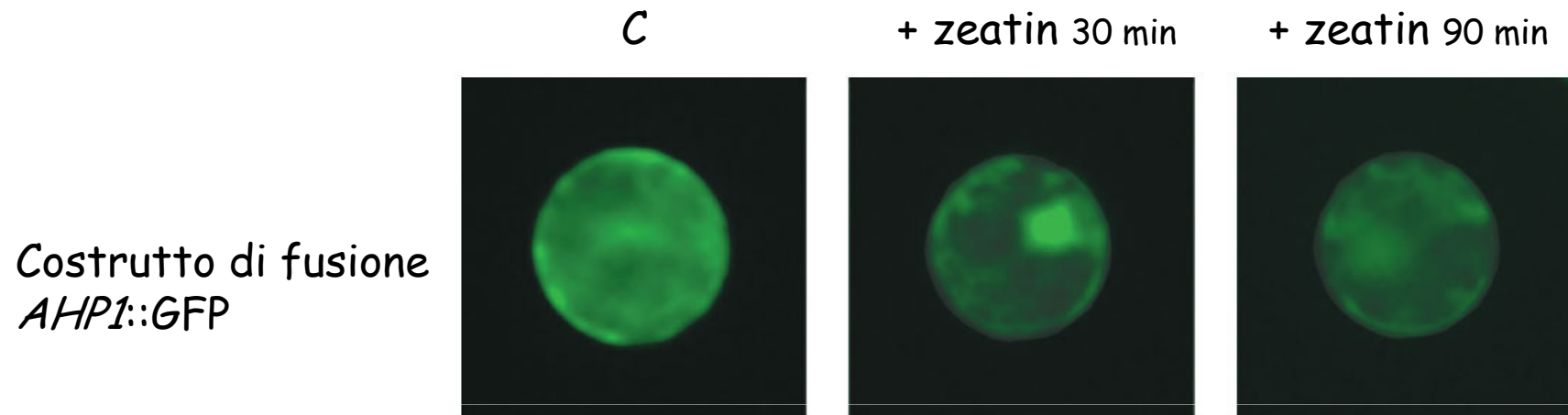
Phosphorelay two-component signaling system



PLANT PHYSIOLOGY, Third Edition, Figure 21.22 © 2002 Sinauer Associates, Inc.

Proteina istidina fosfotransferasi (Hpt)

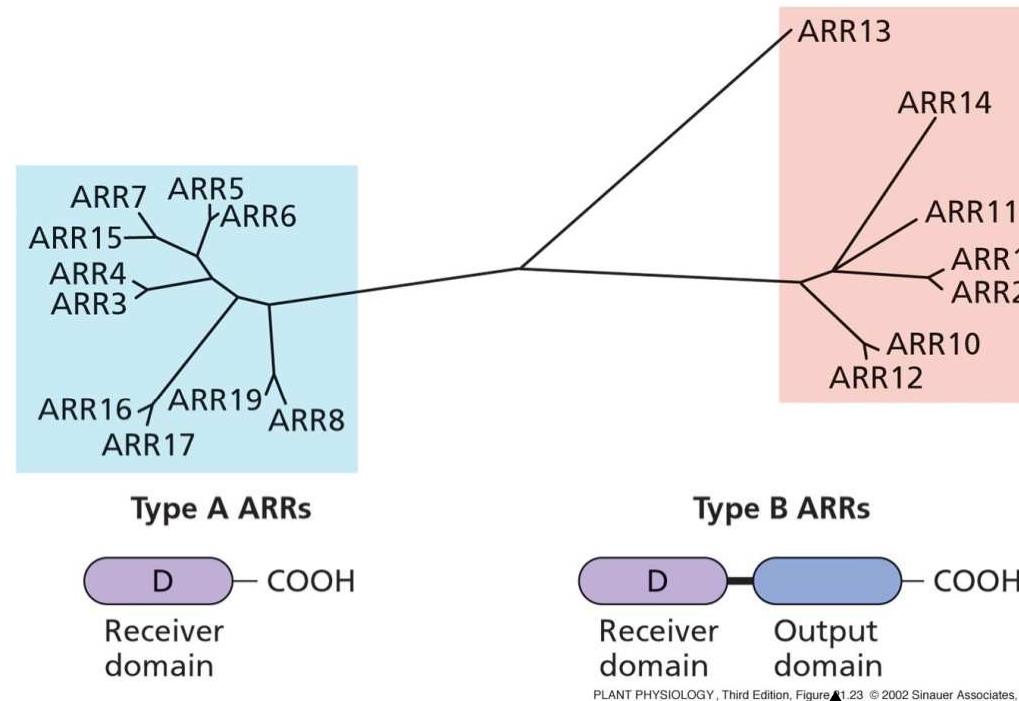
MECCANISMO DI AZIONE



La zeatina induce la traslocazione transiente di AHP nel nucleo

Le proteine AHP trasducono il segnale delle citochinine nel nucleo

ARR : Arabidopsis Response Regulator



La trascrizione dei geni ARR di tipo A è fortemente indotta da citochinine

Fattore di trascrizione

MECCANISMO DI AZIONE

1. Cytokinin binds to CRE1, which is likely to occur as a dimer. Cytokinin binds to an extracellular portion of CRE1 called the CHASE domain. Two other hybrid sensor kinases (AHK2 and AHK3) containing a CHASE domain are also likely to act as cytokinin receptors in *Arabidopsis*.

2. Cytokinin binding to these receptors activates their histidine kinase activity. The phosphate is transferred to an aspartate residue (D) on the fused receiver domains.

3. The phosphate is then transferred to a conserved histidine present in an AHP protein.

4. Phosphorylation causes the AHP protein to move into the nucleus, where it transfers the phosphate to an aspartate residue located within the receiver domain of a type-B ARR.

5. The phosphorylation of the type-B ARR activates the output domain to induce transcription of genes encoding type-A ARRs.

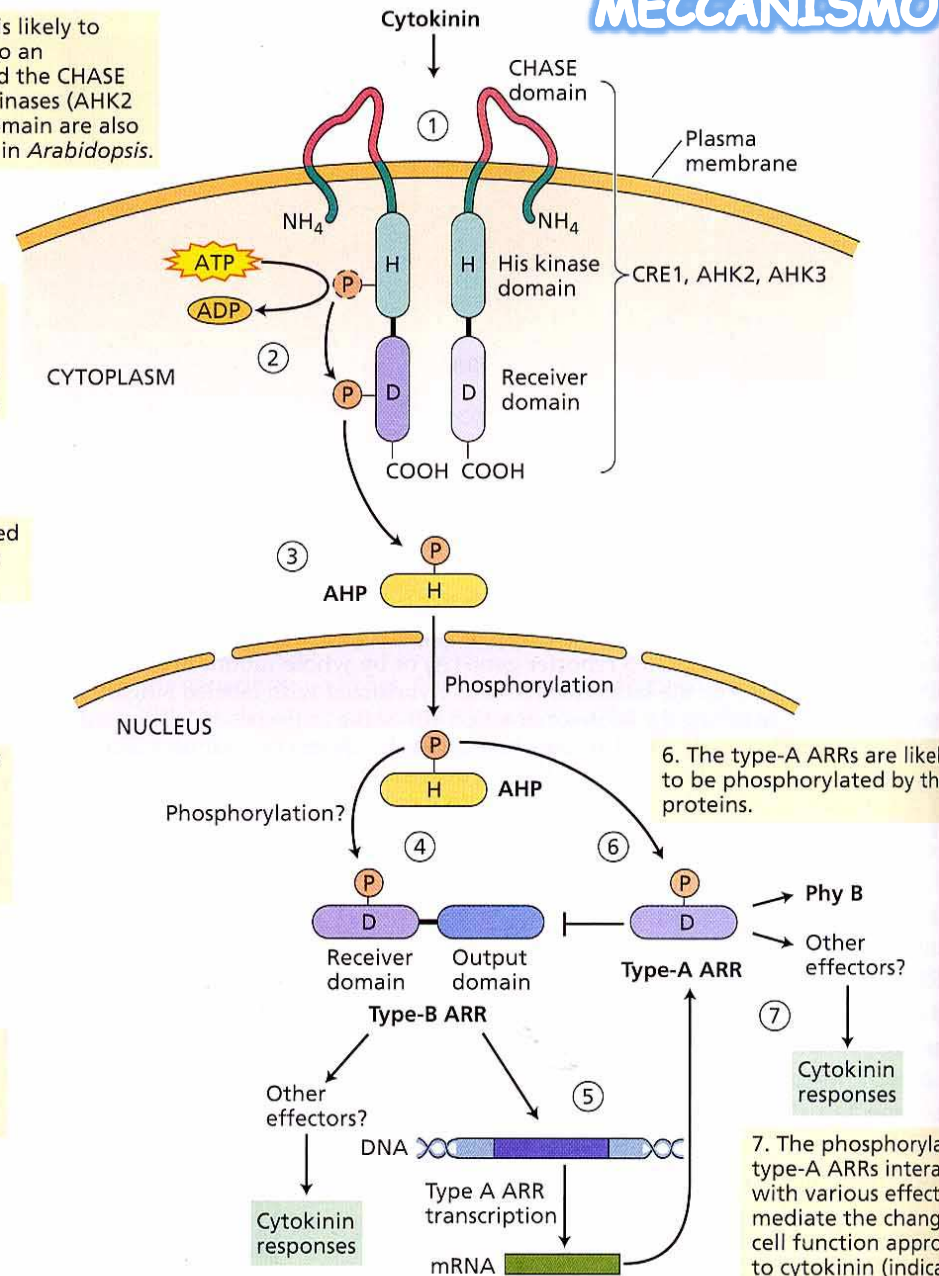


FIGURE 21.27 Model of cytokinin signaling. The near future should see significant refinement of this model, the tools are now in hand to analyze the interactions among these elements.