

CURRICULUM VITAE

La dott. Francesca Dalla Vecchia nasce a Vicenza il 27.05.1960.

Si laurea in Scienze Biologiche presso l'Università di Padova il 7.12.1983, con una tesi sperimentale dal titolo "Senescenza dei plastidi di mais in differenti condizioni di coltura".

Dal Marzo 1984 al Marzo 1985 svolge presso il Dipartimento di Biologia dell'Università di Padova il tirocinio pratico, al termine del quale sostiene l'esame di stato con cui si abilita alla professione di Biologo nella prima sessione relativa all'anno 1985.

Durante il 2° semestre dell'A.A. 1983-1984 collabora alle esercitazioni di Botanica Farmaceutica per i corsi di Laurea in Farmacia e in Chimica e Tecnologie Farmaceutiche.

Durante il 1° semestre dell'A.A. 1984-1985 è laureata frequentatrice presso il Dipartimento di Biologia e collabora alle esercitazioni di Botanica Generale e di Fisiologia Vegetale.

Nel 1987 vince la borsa di studio del Dottorato di Ricerca in Biologia Evoluzionistica e conduce l'attività sperimentale inerente al programma di ricerca presso il Dipartimento di Biologia, per i tre anni previsti, fino al 31.10.1989.

Nell'Ottobre 1990 discute la tesi di Dottorato, riportando giudizio pienamente positivo.

Nello stesso anno vince il concorso per Ricercatore Universitario (gruppo disciplinare 73 - Botanica) prendendo ufficialmente servizio presso il Dipartimento di Biologia - sezione di Biologia Cellulare e Molecolare delle piante - della Facoltà di Scienze MM. FF. NN. dell'Università di Padova, il 5 Giugno 1991.

In congedo per maternità dal 5 Giugno 1991 al 27 Novembre 1991, riprende servizio il 28 Novembre 1991.

Nel 1995 diventa Ricercatore Confermato presso il Dipartimento di Biologia dell'Università di Padova.

Nel 2002 vince concorso per Professore Associato (settore disciplinare BIO01 Botanica generale) prendendo ufficialmente servizio presso il Dipartimento di Biologia. Nel 2006 diventa Professore Associato confermato presso il Dipartimento di Biologia dell'Università di Padova dove attualmente presta servizio.

ATTIVITA' DIDATTICA

La Prof. Francesca Dalla Vecchia ha svolto dal 1991 ad oggi le seguenti attività didattiche.

Ha collaborato alla preparazione e allo svolgimento dei **Laboratori di Botanica** del corso di Laurea in Scienze Forestali della Facoltà di Agraria negli A.A. '93-'94 e '94-'95. Ha inoltre tenuto **lezioni seminariali** (argomenti di Citologia e Fisiologia vegetale nell'A.A. '93-'94 e '94-'95) nell'ambito dell'insegnamento di Botanica per il Corso di Laurea in Scienze Forestali della Facoltà di Agraria.

Ha collaborato con i docenti di Fisiologia Vegetale e di Botanica generale del Corso di Laurea in Scienze Biologiche per la preparazione e lo svolgimento dei **Laboratori di Fisiologia Vegetale**, dei **Laboratori di Botanica generale** e dei **Laboratori di Biologia Sperimentale I e II**, previsti dal piano di studi del suddetto Corso di Laurea.

E' stato **membro della commissione d'esame di profitto** degli insegnamenti di Fisiologia Vegetale per Scienze Biologiche. Titolari dei corsi Proff. N. Rascio e G. Casadoro.

Ha svolto **attività tutoriale** per lo svolgimento di tesi di laurea per studenti interni e per lo svolgimento del tirocinio pratico-applicativo per il conseguimento dell'abilitazione all'esercizio della professione di Biologo di laureati tirocinanti.

Nell'A.A. 1996/1997 le è stato attribuito l'affidamento dell'insegnamento del Modulo di **Botanica Generale** nell'ambito del corso integrato di Biologia Vegetale e Fisiologia del corso di laurea in Scienze Agrarie presso la Facoltà di Agraria dell'Università di Padova.

Negli A.A. 1997/1998 , 1998/1999, 1999/2000 le è stato attribuito l'affidamento dell'insegnamento del Modulo di **Laboratorio di Metodologie Botaniche** nell'ambito del corso integrato di Biologia Cellulare Vegetale e Laboratorio di Metodologie Botaniche del Corso di Diploma in Biotecnologie Agro-Industriali dell'Università di Padova.

Negli A.A. 1998/99 e 1999/2000 le è stato attribuito l'affidamento dell'insegnamento di **Laboratorio di Metodologie Botaniche** del Corso di Laurea in Scienze Biologiche dell'Università di Padova.

Nell'A.A. 2000/2001 ha collaborato alla preparazione e allo svolgimento delle Esercitazioni degli insegnamenti di **Botanica I (Generale)** del Corso di Laurea in Scienze Biologiche.

Nell' A.A. 2001/2002 le è stata attribuita la parte riguardante argomenti di Botanica nel corso di **Laboratorio di Metodologie Biologiche** del Corso di Laurea triennale in Biologia. Inoltre è stata inserita come collaboratore del corso di **Organizzazione e Diversità delle Piante** e del **Corso Integrato di Macromolecole Biologiche e Biologia Cellulare** del Corso di Laurea triennale in Biologia, con il compito di svolgere una serie di lezioni e esercitazioni.

Nell'A.A. 2002/2003 la prof. F. Dalla Vecchia ha tenuto come compiti istituzionali il corso di **Metodologie Biologiche** (Laurea triennale in Biologia) e il corso di **Organizzazione e diversità delle piante** (Laurea triennale in Biologia). Ha inoltre collaborato al corso di **Macromolecole e Biologia cellulare** (Laurea triennale in Biologia).

Negli A.A. 2003/2004 e 2004/2005 la prof. F. Dalla Vecchia ha tenuto come compito istituzionale il corso di **Metodologie Biologiche** (Laurea triennale in Biologia) Ha inoltre collaborato al corso di **Macromolecole e Biologia cellulare** (Laurea triennale in Biologia), al corso di **Organizzazione e diversità delle piante** (Laurea triennale in Biologia) e al corso di **Interazione tra organismi** (Laurea specialistica in Biologia Evoluzionistica).

Nell'A.A. 2005/2006 la prof. F. Dalla Vecchia ha tenuto come compito istituzionale il corso di **Metodologie Biologiche** (Laurea triennale in Biologia) e il corso di **Morfologia funzionale vegetale** (Laurea Magistrale in Biologia Evoluzionistica). Ha inoltre collaborato al corso di **Macromolecole e Biologia cellulare** (Laurea triennale in Biologia) e al corso di **Interazione tra organismi** (Laurea specialistica in Biologia Evoluzionistica).

Nell'A.A. 2006/2007 la prof. F. Dalla Vecchia ha tenuto come compito istituzionale il corso di **Metodologie Biologiche** (Laurea triennale in Biologia) e il corso di **Morfologia funzionale vegetale** (Laurea Magistrale in Biologia Evoluzionistica). Ha inoltre collaborato al corso di **Macromolecole e Biologia cellulare** (Laurea triennale in Biologia) e al corso di **Interazione tra organismi** (Laurea specialistica in Biologia Evoluzionistica).

Nell'A.A. 2007/2008 la prof. F. Dalla Vecchia ha tenuto come compito istituzionale il corso di **Metodologie Biologiche** (Laurea triennale in Biologia) e il corso di **Morfologia funzionale vegetale** (Laurea Magistrale in Biologia Evoluzionistica). Ha inoltre collaborato al corso di **Macromolecole e Biologia cellulare** (Laurea triennale in Biologia) e al corso di **Interazione tra organismi** (Laurea specialistica in Biologia Evoluzionistica).

Dall'A.A. 2008/2009 ad oggi la prof. F. Dalla Vecchia tiene come compito istituzionale il corso di **Botanica generale** (Laurea triennale in Biologia) e il corso di **Morfologia funzionale vegetale** (Laurea Magistrale in Biologia Evoluzionistica).

E' stata correlatore e relatore di numerose tesi di laurea in Scienze Biologiche, in Biologia e in Biologia Evoluzionistica.

E' stato membro della Commissione esaminatrice per il conseguimento dell'abilitazione alla professione di Biologo.

L'attività di ricerca della Prof. Francesca Dalla Vecchia si è inquadrata prevalentemente nei seguenti ambiti:

- differenziazione dell'apparato fotosintetico in piante superiori in differenti condizioni ambientali;
- effetti dei diserbanti inibenti la carotenogenesi in graminacee;
- studi morfologici e fisiologici di specie appartenenti alle "piante della resurrezione";
- fotosintesi in piante acquatiche;
- studio di mutanti di mais e di girasole, con particolare riguardo alla loro caratterizzazione ultrastrutturale;
- studio in piante superiori dell'effetto di diversi tipi di stress;
- effetto di metalli in piante superiori;
- effetto di metalli in macrofite e macroalghe;

Altri argomenti trattati sono stati:

- indagini sul metabolismo e la produzione di plantule in colture cellulari;
- eventi di separazione cellulare in piante superiori.

DIFFERENZIAZIONE DELL'APPARATO FOTOSINTETICO IN PIANTE SUPERIORI IN DIFFERENTI CONDIZIONI AMBIENTALI

In foglie di spinacio è stato seguito il ciclo vitale dei cloroplasti. Ciò ha portato all'evidenziazione di cristalli intratilacoidali (probabilmente di RUBISCO), la cui formazione sembra essere associata a stati di bassa efficienza fotosintetica (plastidi giovani o senescenti). Il modello ontogenetico di questi plastidi è molto rapido in piante cresciute in estate e porta alla formazione di membrane tilacoidali, senza la comparsa di corpi prolamellari. In piante sviluppatesi da semi germinati in autunno, invece, l'ontogenesi del sistema membranale interno dei cloroplasti è più lenta e passa attraverso lo stadio tubuliforme dei corpi prolamellari.

In mais è stato seguito il ciclo vitale degli ezioplasti che si differenziano al buio nei tessuti fogliari eziolati. Dalle indagini svolte è risultato che l'ontogenesi degli ezioplasti avviene secondo un modello caratterizzato da progressivo aumento della regolarità e compattezza dei corpi prolamellari. Anche la componente protilacoidale subisce modificazioni nel tempo. Negli organelli

giovani i protilacoidi sono perforati mentre, negli ezioplasti maturi, si formano membrane lamellari continue e regolarmente distanziate. La senescenza di questi organelli porta ad una riduzione del sistema protilacoidale ed alla comparsa di aree di disgregazione nel corpo prolamellare, con aumento del numero e delle dimensioni dei globuli osmiofilari, contenenti plausibilmente materiale lipidico perso dalle membrane demolite. La comparsa del segnale chimico della senescenza degli ezioplasti (caduta del contenuto in protoclorofillide) e quindi dei tessuti fogliari è molto precoce nel mais ed è da correlare alla attivazione di un programma di senescenza, piuttosto che ad uno stato di carenze nutrizionali delle piante eziolate. Ciò è dimostrato dalla risposta del mais al rifornimento di saccarosio che può infatti spostare nel tempo le alterazioni ultrastrutturali dell'ezioplasto ma non ritardare la comparsa dei segnali chimici della senescenza.

E' stato studiato anche l'effetto del rifornimento di saccarosio sul differenziamento dei cloroplasti in organi diversi di piante di avena cresciute alla luce. In questo caso è stato visto che il rifornimento dello zucchero stimola l'inverdimento della radice mentre nella foglia esso accelera il declino della clorofilla e le alterazioni ultrastrutturali dei cloroplasti. Questo effetto negativo è probabilmente dovuto al fatto che nei tessuti fogliari al saccarosio esogeno si somma a quello prodotto dalla fotosintesi. E' noto, infatti, che concentrazioni troppo elevate dello zucchero possano danneggiare l'apparato fotosintetico.

Uno studio sulla differenziazione alla luce dei cloroplasti è stato effettuato su diverse specie di cloroembriofite, di piante cioè in grado di produrre clorofilla durante l'embriogenesi. Sono state scelte specie con germinazione epigea (*Phaseolus vulgaris* L.) o ipogea (*Phaseolus multiflorus* Willd., *Pisum sativum* L., *Pistacia vera* L.) per stabilire la capacità di inverdimento dei tessuti cotiledonari esposti alla luce dopo la germinazione. E' stato osservato che non tutte le plantule di cloroembriofite cresciute in luce sono capaci di differenziare cloroplasti nei cotiledoni e che, per quelle che manifestano tale capacità, questa risulta indipendente dal modello di germinazione del seme, ma è piuttosto specie o genere specifica.

La capacità di formare tessuti verdi è stata studiata anche in organi, come le radici, che in condizioni naturali non differenziano cloroplasti.

Le radici di limone alla luce inverdiscono producendo cloroplasti ultrastrutturalmente simili a quelli delle foglie. Il pattern polipeptidico delle membrane tilacoidali, però, presenta differenze organo-

specifiche. In particolare, nei cloroplasti della radice, non è rilevabile la presenza di un complesso antenna del PSII, chiaramente riconoscibile, al contrario, nei cloroplasti fogliari. E' interessante notare come questa organo specificità della composizione delle membrane tilacoidali non si riscontri, invece, nelle orchidee epifite (*Renanhera coccinea* Lour.), le cui radici sono naturalmente programmate per inverdire.

EFFETTI DEI DISERBANTI INIBENTI LA CAROTENOGENESI IN GRAMINACEE

In piante di orzo eziolate e coltivate a 20°C e a 30°C sono stati studiati gli effetti della inibizione della sintesi dei carotenoidi, indotta dall'erbicida amitrolo, sulla composizione ed organizzazione dei plastidi.

Le indagini hanno dimostrato che la mancanza di β -carotene e xantofille determina profonde alterazioni degli ezioplasti, con disorganizzazione delle membrane del corpo prolamellare e riduzione dei protilacoidi. La sintesi di protoclorofillide è molto più elevata che nel controllo, ma il pigmento non è correttamente inserito nelle membrane e, per la maggior parte, non è legato alla protoclorofillide ossidoreduttasi e al NADPH in un complesso ternario. Questo è dimostrato dalla netta predominanza, negli ezioplasti, della forma non fotoconvertibile del pigmento. Tutte le alterazioni descritte sono state rilevate negli organelli delle foglie di piante trattate con il diserbante e coltivate a 20°C.

Nelle piante coltivate a 30°C, invece, nonostante la presenza dell'amitrolo, si è riscontrato un forte incremento della sintesi dei carotenoidi a cui ha fatto riscontro un recupero altrettanto evidente della struttura e composizione degli ezioplasti.

Tutto ciò conferma l'esistenza di una via alternativa e termosensibile di sintesi dei carotenoidi e dimostra che, anche al buio, questi pigmenti svolgono un'importante funzione strutturale, necessaria per la corretta biogenesi e il mantenimento della organizzazione del sistema membranale interno dei plastidi.

STUDI MORFOLOGICI E FISIologici DI SPECIE APPARTENENTI ALLE PIANTE PIANTE DELLA RESURREZIONE

In *Sporobolus stapfianus* sono emersi alcuni interessanti eventi morfologici ed ultrastrutturali che avvengono durante la disidratazione delle foglie, con la tipica anatomia a corona, di questa pianta C4 della "resurrezione". In particolare è stato notato che, durante questo processo, si ha una perdita della compartimentazione sia delle cellule della guaina che di quelle del mesofillo fogliare. I cloroplasti delle cellule di quest'ultimo tessuto, inoltre, cambiano forma, pur mantenendo integro l'envelope e il sistema di membrane tilacoidali che risulta, però, irregolarmente organizzato. Inoltre nelle cellule si osserva la frammentazione del grosso vacuolo centrale in numerose vescicole. Nella foglia reidratata, invece, si ha un completo recupero della corretta compartimentazione cellulare. I cloroplasti, in particolare, mostrano un sistema tilacoidale organizzato. Questa capacità di recupero dei parametri morfologici e fisiologici nel corso della reidratazione è stata osservata solo per le foglie disidratate e quindi reidratate sulla pianta, mentre quelle staccate non sono in grado di farlo. Ciò è dimostrato dalle modificazioni ultrastrutturali della cellula e dai cambiamenti nella composizione lipidica della membrana che accompagnano gli eventi di disidratazione e reidratazione nelle due diverse situazioni.

FOTOSINTESI IN PIANTE ACQUATICHE

. È stata studiata la capacità fotosintetica da parte di angiosperme acquatiche sommerse, viventi in una condizione stressante in cui la disponibilità di carbonio inorganico è più bassa che in aria.

È noto che numerose specie appartenenti, ad esempio, ai generi *Potamogeton* ed *Elodea* hanno evoluto dei meccanismi che permettono loro di utilizzare, oltre alla CO_2 , anche lo ione HCO_3^- presente nell'ambiente acquatico, come fonte di carbonio inorganico per la fotosintesi.

La maggior parte dei corsi d'acqua ha valori di pH basici, per cui la forma di carbonio disponibile predominante è rappresentata dall' HCO_3^- : ciò costituisce un notevole vantaggio per queste specie.

Generalmente gli studi condotti sulle specie che utilizzano oltre alla CO_2 anche HCO_3^- (HCO_3^- -user) e su quelle che utilizzano solo la CO_2 (CO_2 -user) per condurre la fotosintesi hanno riguardato la capacità delle foglie come organo in grado di sfruttare le diverse forme di carbonio disponibile. Una caratteristica delle cormofite sommerse, però, è di avere, oltre alle foglie, anche i fusti verdi e quindi potenzialmente fotosintetizzanti.

Sono stati analizzati, perciò, separatamente il comportamento fotosintetico e gli adattamenti morfologici delle foglie e dei fusti in alcune cormofite sommerse, quali: *Callitriche stagnalis* Scop., *Nasturtium officinale* R.Br., *Veronica anagallis aquatica* L. e *Elodea canadensis* Michx. e quelli delle foglie di *Potamogeton nodosus* Poiret, *Potamogeton crispus* L., *Potamogeton pectinatus* L. e *Groenlandia densa* L..

Dagli esperimenti eseguiti, sia di tipo ultrastrutturale che funzionale, emergono alcuni interessanti dati ecofisiologici che riguardano le diverse strategie fotosintetiche messe in atto dai due diversi organi verdi delle specie considerate.

I risultati ottenuti nelle tre specie "anfibia", *Callitriche stagnalis* Scop., *Nasturtium officinale* R.Br., *Veronica anagallis aquatica* L. indicano che le foglie di queste specie, grazie alla presenza di particolari caratteristiche morfo-fisiologiche, sono in grado di mantenere livelli piuttosto elevati di fotosintesi, anche con concentrazioni di CO₂ limitanti. Anche i fusti di queste specie sono in grado di compiere la fotosintesi, anche se a livelli molto bassi, a causa essenzialmente del basso contenuto in clorofille di questi organi, e di partecipare, così, al bilancio energetico della pianta.

I risultati ottenuti su *Elodea canadensis* Michx. mostrano che le foglie di questa pianta, che sono completamente sommerse, hanno caratteristiche ultrastrutturali che permettono loro di utilizzare sia la CO₂ che il HCO₃⁻ come fonte di carbonio inorganico.

Il fusto, invece, appare comportarsi come un organo "terrestre", e la sua capacità fotosintetica dipende dalla disponibilità della CO₂ intrappolata negli spazi intercellulari dei suoi tessuti.

Un ulteriore studio ha riguardato gli adattamenti fotosintetici messi in atto dalle foglie di alcune Potamogetonaceae, comparando le caratteristiche fotosintetiche e l'ultrastruttura fogliare di *Potamogeton nodosus* Poiret, che presenta foglie galleggianti, e *Potamogeton crispus* L., *Potamogeton pectinatus* L. e *Groenlandia densa* L., che presentano foglie sommerse. Queste ultime specie mostrano caratteristiche fisiologiche tipiche delle specie "HCO₃-users" e specializzazioni morfologiche ed ultrastrutturali atte a aumentare gli scambi fra l'ambiente esterno e quello intracellulare. *Potamogeton nodosus*, pur avendo foglie galleggianti, sembra essere anch'esso in grado di usare sia la CO₂ che l'HCO₃⁻ per condurre il processo fotosintetico se messo in sommersione.

Sempre nell'ambito di studi di strategie adattative di macrofite acquatiche alla carenza di CO₂ nell'ambiente acquatico, in un ulteriore lavoro sono stati analizzati la morfologia, l'ultrastruttura e le caratteristiche biochimiche di una dicotiledone totalmente sommersa, *Ceratophyllum demersum* L., e di una monocotiledone con foglie parzialmente galleggianti, *Sparganium emersum* L., dimostrando come queste due specie si siano adattate in modi molto diversi alla scarsa disponibilità di CO₂ nell'ambiente acquatico. La prima, infatti, risulta in grado di utilizzare lo ione HCO₃⁻ oltre alla CO₂ come fonte di carbonio inorganico, grazie alla presenza di un'anidrasi carbonica apoplastica che accelera la conversione di HCO₃⁻ in CO₂ a livello della parete cellulare. La seconda, invece, ha sviluppato peculiari caratteristiche morfo-funzionali della foglia che ne

assicurano il galleggiamento e un'alta efficienza negli scambi gassosi con l'ambiente aereo grazie alla presenza di stomi su entrambe le pagine fogliari e all'esistenza di grandi cavità interne delimitate da setti cellulari lungo cui corrono i fasci vascolari.

Da studi sugli adattamenti morfo-funzionali di un'altra macrofita sommersa, *Ranunculus trichophyllus* Chaix. è risultato che in questa specie, caratterizzata da foglie finemente settate, la fotosintesi viene condotta principalmente a livello delle cellule epidermiche che sono caratterizzate da un alto numero di cloroplasti. Con la microscopia elettronica e con test citochimici è stata caratterizzata la struttura e la composizione della parete di queste cellule che mostra di essere ricca in pectine e di organizzarsi al di sotto di uno strato superficiale compatto, come in una transfer-cell, con proliferazioni che portano ad un aumento dell' area del plasmalemma. Ciò fa sì che i contatti e gli scambi cellula-ambiente risultino molto amplificati. In questa zona viene favorito l'accumulo di CO₂ grazie sia all'azione di un'anidrasi carbonica apoplastica che all'acidificazione del mezzo indotta dall'attività di una H⁺-ATPasi fotodipendente presente a livello della membrana plasmatica. Con questo studio viene dimostrata per la prima volta l'esistenza di questo secondo meccanismo di concentrazione della CO₂ in una macrofita sommersa con foglie non polari.

Utilizzando tecniche di microscopia ottica a fluorescenza ed elettronica è stata individuata, inoltre, in *Ranunculus trichophyllus* Chaix. la presenza di uno strato cellulare endodermide-simile reso impermeabile dalla suberificazione delle pareti cellulari attorno all'eustele nel fusto e a ogni singolo fascio vascolare nelle foglie. Queste guaine impermeabili che interrompono il flusso apoplastico delle soluzioni hanno un importante ruolo fisiologico, prevenendo la perdita incontrollata nell'apoplasto dei metaboliti e dei sali minerali distribuiti alla pianta attraverso il flusso xilematico sostenuto dalla pressione radicale e impedendo l'allargamento delle cavità aerenchimatiche degli organi sommersi.

STUDIO IN PIANTE SUPERIORI DI DIVERSI TIPI DI STRESS.

Phragmites australis (Cav) Trin. Ex Steudel è una specie vegetale endemica dotata di elevata adattabilità. Numerosi lavori hanno confermato il ruolo positivo di questa specie nella rimozione di nutrienti da acque reflue. Tuttavia sono ancora scarse le conoscenze in merito ai meccanismi fisiologici di assorbimento.

Le indagini relative all'assorbimento ottenute su rizomi prelevati in campo di *Phragmites* successivamente allevati sia in presenza di nitrato o di amminio che in carenza di azoto o zolfo hanno dimostrato l'adattabilità di questa specie alle condizioni riducenti. Infatti l'assorbimento netto di amminio è risultato significativamente maggiore rispetto a quello di nitrato.

L'umento negli ultimi anni degli UV-B nelle regioni temperate e polari della superficie terrestre ha un considerevole impatto sui processi biologici, a causa principalmente dell'alto livello energetico di questa piccola parte della radiazione solare. Le piante sono particolarmente vulnerabili a modificazioni del contenuto in UV-B nell'ambiente a causa della assoluta dipendenza dalla radiazione solare, necessaria per la loro sopravvivenza.

E' stato quindi studiato l'effetto degli UV-B sulla crescita, la fotosintesi, il contenuto in nitrato e l'attività della nitrato reduttasi in piante di mais. I risultati ottenuti dimostrano che, alle nostre condizioni sperimentali, il trattamento con UV-B determina una riduzione della evoluzione di O₂ fotosintetico e un calo del contenuto in zuccheri pur non alterando il contenuto in clorofille e l'ultrastruttura dei cloroplasti. Anche il contenuto in nitrato e l'attività della nitrato reduttasi risultano diminuite in presenza di UV-B.

Alcune pubblicazioni hanno riguardato gli effetti della luce e della radiazione UVB sull'organizzazione dei fotosistemi delle membrane tilacoidali, con particolare riguardo al fotosistema II che è notevolmente più sensibile alle condizioni di stress. In un primo lavoro effettuato su tilacoidi isolati di foglie di spinacio è stata saggiata la stabilità strutturale e topologica dei componenti tilacoidali in condizioni di fotoinibizione, mediante separazione dei complessi clorofilla-proteina del fotosistema I (PSI) e del fotosistema II (PSII) e analisi di immunoblotting di questi complessi con un set di anticorpi policlonali contro varie apoproteine dei due fotosistemi. Gli effetti della fotoinibizione a livello di PSII si traducono nella rottura della proteina D1 in siti specifici, nella dissociazione del CP43 dal core del PSII e nella migrazione dei componenti danneggiati del PSII dai grana ai tilacoidi stromatici. Gli effetti della fotoinibizione sul PSI si traducono essenzialmente nella dissociazione dell'LHCI dal centro di reazione del fotosistema.

Uno studio successivo effettuato su foglie intere di orzo ha riguardato gli effetti della radiazione UVB sul turnover della proteina D1 e sulla redistribuzione laterale del PSII nelle membrane tilacoidali. In presenza di UVB si determina una sintesi limitata della proteina D1, mentre è evidente una significativa degradazione delle proteine D1 e D2 del centro di reazione del fotosistema. I danni al PSII in seguito al trattamento con UVB appaiono essere differenti da quelle osservate in seguito a eventi di fotoinibizione da eccesso di luce. In particolare si verifica una demolizione più completa del core del PSII. I risultati ottenuti suggeriscono che gli UVB impediscano l'attivazione del ciclo di riparazione del PSII.

L'eccesso di temperatura può risultare stressante per gli organismi vegetali.

Molte piante, tra cui l'olivo, una specie mediterranea, possono essere sottoposte, nel corso dell'anno, ad alte temperature, con conseguente deficit idrico. Il risultato finale si traduce in una diminuzione della crescita con conseguente calo della produttività.

Dalle indagini ottenute su tre cultivars di olivo utilizzate a scopo produttivo in Sicilia quali Biancolilla, Cerasuola e Nocellara del Belice, è risultato che la presenza di condizioni stressanti quali alta temperatura e stress idrico determina unicamente in Nocellara del Belice modificazioni della struttura delle foglie e dell'ultrastruttura dei cloroplasti con conseguente calo del contenuto in pigmenti clorofilliani e dell'attività fotosintetica. Ciò conferma che questa specie, considerata ad elevata produttività in impianti di olivicoltura intensiva irrigua, risente maggiormente, rispetto alle altre due, di condizioni di stress termico ed idrico.

STUDI SULLA MORFOLOGIA E SULLA FISIOLOGIA DEI SEMI E SULLA SUCCESSIVA CRESCITA E SVILUPPO DELLE PLANTULE

Osservazioni ultrastrutturali condotte su semi di *Cercis siliquastrum* hanno dimostrato che tutte le riserve proteiche e lipidiche cotiledonari sono utilizzate durante la crescita delle piantine. Nelle cellule dell'endosperma, invece, rimangono grosse quantità di lipidi inutilizzati. Nelle pareti e negli spazi intercellulari delle cellule dell'endosperma sono immagazzinati grandi quantità di polisaccaridi di riserva. Tuttavia, solo i polisaccaridi accumulati nelle pareti cellulari vengono attaccati e demoliti dagli enzimi litici.

E' stato inoltre verificato che il trattamento dei semi dormienti di *Cercis siliquastrum* con GA₃ esogeno rompe la dormienza e induce la germinazione, causando però nel tempo effetti negativi sulla morfogenesi delle plantule. Queste, rispetto alle plantule prodottesi da semi non trattati con l'ormone e indotti a germinare mediante stratificazione, sviluppano un numero maggiore di foglie ed una ridotta quantità di radici, con una conseguente alterazione del bilancio idrico che non ne permette la sopravvivenza.

Sono state studiate le caratteristiche del seme di *Cercis siliquastrum* L., di *Ceratonia siliqua* L. e di *Cassia angustifolia* L. (Leguminosae, Cesalpinoideae), evidenziando in queste specie la presenza di metaboliti secondari protettivi di natura antrachinonica nelle cellule dell'epidermide dei cotiledoni nella fase precedente la cutinizzazione. Si è dimostrato come questa peculiarità sia tipica della sottofamiglia delle Cesalpinoideae e rappresenti un carattere con significato tassonomico.

Il mutante di mais *lilliputian (lil)* presenta un fenotipo caratterizzato da dimensioni della pianta ridotte, con una radice primaria di diametro notevole e foglie arrotolate. Analisi istologiche suggeriscono che difetti nel pattern di divisione cellulare possano provocare, già durante lo sviluppo embrionale di questo mutante, alterazioni morfologiche che diventano successivamente evidenti a livello di radice e di foglie.

Il mutante di mais *lsn1 (large scutellar node)* presenta una crescita abnorme del nodo scutellare. Le plantule del mutante presentano la radice primaria più corta e allargata, formata dalla apparente fusione di più radici, con un numero elevato di stele inserite in un'unica massa parenchimatosa; anche le foglie sono organizzate in modo anomalo. Le analisi istologiche suggeriscono che questi difetti morfologici siano dovuti ad un differenziamento irregolare degli elementi vascolari.

Xan 1 è un mutante di girasole sensibile agli stress da luce. La mutazione nucleare è spontanea e sembra avere effetti pleiotropici, tra cui anche bassi livelli di ABA endogeno. Dalla caratterizzazione morfologica, fisiologica e biochimica di questo mutante cresciuto in diverse condizioni di illuminazione è emerso che le anomalie riscontrate non siano dovute a danni fotoossidativi ma al fatto che *Xan 1* non sia in grado di mantenere un sistema tilacoidale stabile e strutturalmente corretto.

E' stata studiata la risposta gravitropica di ipocotili eziolati di *Raphanus sativus* L. allevati in diverse condizioni sperimentali. I risultati ottenuti con indagini ultrastrutturali e biochimiche indicano che, rispetto agli ipocotili di controllo che contengono amido, il trattamento con cloramfenicolo porta alla scomparsa di questo polisaccaride negli amiloplasti mentre l'aggiunta sia di cloramfenicolo che di saccarosio nel mezzo di coltura è in grado di modulare la quantità di amido negli organelli. Negli ipocotili di ravanella, così, è possibile ottenere differenti risposte gravitropiche in relazione al volume dei granuli di amido presenti negli amiloplasti dell'endoderma.

Sono state investigate le interazioni fra le attività biologiche dell'humus in radici di *Pinus sylvestris* L. e le caratteristiche chimiche dell'humus dei suoli forestali. Sono stati studiati quattro suoli forestali non disturbati, localizzati in un'unica area climatica caratterizzata da differenti coperture vegetali (*Abies alba* Miller, *Fagus sylvatica* L., *Pinus mugo* Turra e *Pinus sylvestris* L.). Tramite spettri NMR, sono stati caratterizzati l'estratto umico totale e le frazioni a basso e alto peso molecolare. I risultati ottenuti mostrano che la frazione umica ad alto peso molecolare ha particolare effetto sulle attività perossidasi e esterasi delle cellule radicali di *Pinus sylvestris* L..

Radici di *Allium cepa* L. trattate con 3,4-DL-deidroprolina (DP), un inibitore specifico della peptidil-prolilidrossilasi, mostrano una diminuzione del 56% del contenuto in idrossiprolina delle glicoproteine ricche in idrossiprolina associate alla parete cellulare. Le radici cresciute in presenza di DP mostrano un incremento del contenuto in ascorbato (53%) e della specifica attività perossidasi nel citosol, nonché una diminuzione dell'attività di perossidasi extracellulari "secretorie". Le analisi al microscopio elettronico rivelano drammatiche alterazioni sia a livello dell'organizzazione delle pareti cellulari neoformate che a livello di adesione del plasmalemma alle pareti stesse. La DP, inoltre, inibisce l'attività mitotica delle cellule meristematiche radicali.

Dai risultati ottenuti viene proposto un modello che prevede che l'ascorbato rivesta un ruolo centrale nella regolazione della crescita radicale.

STUDI ULTRASTRUTTURALI DI MACRO E MICRO ALGHE

E' stato condotto uno studio ultrastrutturale e citochimico sul tallo vegetativo dell'alga rossa *Pterocladia capillacea* (Gmel.) Born e Thurn. E' stato così possibile individuare e descrivere i vari tipi cellulari. Le cellule della regione corticale, piccole e ricche in plastidi, sembrano essere coinvolte nella fotosintesi mentre le cellule più grandi dello strato midollare potrebbero essere coinvolte nell'immagazzinamento e nel trasporto dei nutrienti. Inoltre sono stati individuati elementi meccanici in zone ben definite del tallo. Particolare attenzione è stata rivolta all'organizzazione parietale e alla localizzazione dei componenti dell'agar nel compartimento extracellulare, tramite tecniche citochimiche. Inoltre sono state esaminate, sempre nella stessa alga, la forma, l'organizzazione e la composizione delle pit connections.

Tecniche citochimiche hanno permesso di evidenziare la natura polisaccaridica e proteica di queste strutture cellulari, caratteristiche delle alghe rosse e importanti dal punto di vista tassonomico.

Anche sull'alga rossa *Vidalia volubilis* sono stati condotti studi ultrastrutturali e citochimici, al fine di caratterizzare i vari tipi cellulari e il loro possibile coinvolgimento nel metabolismo algale. In particolare sono state analizzate, dal punto di vista sia dell'organizzazione ultrastrutturale che della composizione chimica, la cuticola, le pareti cellulari e le pit connections. Nelle cellule della regione midollare sono state rilevate inclusioni cristalline citoplasmatiche che sono risultate essere di natura proteica, con una probabile funzione di riserva.

In una ricerca riguardante *Plocamium cartilagineum* sono state analizzate le caratteristiche morfologiche, ultrastrutturali e citochimiche dei talli di questa alga rossa raccolti in Antartide, comparandole con quelle di talli della stessa specie provenienti dal Mare Mediterraneo.

Indagini ambientali e caratterizzazioni ultrastrutturali sono state effettuate anche sul fitoplancton in ambienti diversi. In particolare è stata studiata la frazione picoplanctonica che comprende organismi il cui diametro è compreso tra 0.45 μm e 2 μm .

Si ritiene che questi microorganismi giochino un ruolo importante nella catena trofica degli ambienti acquatici, a causa della loro abbondanza e degli elevati livelli fotosintetici.

Le popolazioni fitoplanctoniche e picoplanctoniche, in particolare, sono state studiate in alcuni bacini adibiti ad acquacultura. Nel picoplancton è stata osservata una prevalenza di forme procariotiche su quelle eucariotiche. Tra i cianobatteri, particolarmente diffuse sono risultate essere le Chroococcales (*Synedrocystis*, *Synechococcus*). Tra gli eucarioti sono state riconosciute forme di Chlorophyceae (*Chlorella*, *Stichococcus*) e Bacillariophyceae (*Nitzschia*, *Navicula*).

Da indagini condotte sul fitoplancton di ecosistemi algali antartici è risultato che, anche in questi ambienti, il picoplancton rappresenta la componente più abbondante.

Analisi morfologiche, ultrastrutturali, di composizione in pigmenti e di sequenze di geni altamente conservati di microalghe di provenienza antartica hanno permesso l'identificazione di nuove specie.

8. INDAGINI SUL METABOLISMO E LA PRODUZIONE DI PLANTULE IN COLTURE CELLULARI.

In plantule ottenute da colture cellulari di *Chrysanthemum morifolium* RAMAT mantenute in eterotrofia per aggiunta di saccarosio nel mezzo di coltura, o in autotrofia, con rifornimento di carbonio inorganico (CO_2), è stato caratterizzato lo sviluppo dell'apparato fotosintetico dal punto di vista ultrastrutturale, di composizione di pigmenti, di capacità fotosintetica e di attività enzimatica (RUBISCO e PEP carbossilasi). I risultati ottenuti indicano che le plantule ottenute da colture autotrofiche sono caratterizzate da livelli di crescita, di moltiplicazione e di attività fotosintetica migliori rispetto a quelle ottenute da colture eterotrofiche e presentano uno sviluppo simile a quello delle plantule cresciute in condizioni naturali.

Anche in calli in coltura di *Daucus carota* L. mantenute in eterotrofia per aggiunta di saccarosio nel mezzo di coltura, o in autotrofia, con rifornimento di carbonio inorganico (CO_2), è stato dimostrato, con analisi biochimiche ed ultrastrutturali, che il rifornimento di CO_2 al medium di

coltura senza saccarosio influenza positivamente la crescita e la capacità fotosintetica delle colture stesse.

In un lavoro effettuato su *Catharanthus roseus* L.G. Don viene descritto un nuovo protocollo per ottenere una linea cellulare embriogenica da espianti in coltura provenienti da piantine di questa specie. Al fine di valutare le relazioni fra il differenziamento dei tessuti e la biosintesi di metaboliti secondari, sono state comparate le capacità biosintetiche, valutate come produzione di alcaloidi, di una linea cellulare embriogenica e di due linee non embriogeniche. Nella linea cellulare embriogenica si osserva un tasso di crescita più rapida, associato con una produzione maggiore di alcaloidi, valutata sia come contenuto totale di alcaloidi indolici che come alcaloidi specifici, quali ajmalicina e serpentina. I risultati ottenuti indicano che questa linea cellulare ottenuta nel nostro laboratorio potrebbe essere utilizzata per la produzione *in vitro* di alcaloidi.

In un lavoro svolto in collaborazione viene riportata per la prima volta l'attività citotossica *in vitro* e *in vivo* dell'aloë-emodina, un idrossichinone presente in *Aloe vera* L. su cellule tumorali di origine neuroectodermica. Il meccanismo citotossico di questo metabolita secondario consiste nell'induzione di apoptosi e la selettività di questa sostanza nei confronti di questa linea di cellule tumorali si basa su un meccanismo specifico energia-dipendente di incorporazione cellulare del principio attivo. Per queste sue particolari caratteristiche citotossiche e per il suo meccanismo di azione, l'aloë-emodina potrebbe rappresentare una nuova molecola antitumorale di origine naturale. In un lavoro successivo si è dimostrato che, nelle cellule sensibili, il meccanismo di ingresso di questa molecola è mediato da un processo di incorporazione ATP-dipendente e recettore-mediato e che questo antrachinone è in grado di indurre apoptosi p53-mediata, con l'attivazione di entrambi i pathways trascrizione e non-trascrizione-dipendenti.

9. EVENTI DI SEPARAZIONE CELLULARE IN PIANTE SUPERIORI.

L'abscissione è un processo fisiologico che si realizza in precise regioni cellulari definite zone di abscissione. Queste zone consistono di poche strati di cellule le cui pareti vanno incontro a

fenomeni di idrolisi dei componenti polisaccaridi con conseguente perdita di adesione tra le cellule adiacenti.

Nell'ambito di questa problematica in un primo lavoro è stata esaminata l'espressione nella zona di abscissione di fiori di peperone dell'enzima idrolitico endo- β -1,4-glucanasi (EGasi), e le caratteristiche ultrastrutturali delle cellule. L'induzione dell'abscissione, provocata mediante trattamento con etilene, causa un aumento dell'attività di questo enzima che appare costituito da due isoforme. In particolare l'etilene promuove l'isoforma 7.2, mentre l'isoforma più basica non aumenta significativamente. Le analisi biomolecolari e ultrastrutturali abbinate ad immunolocalizzazione delle Egasi confermano che gli eventi di idrolisi più importanti si osservano a livello della parete primaria delle cellule in separazione.

In un lavoro successivo sono state analizzate l'espressione di differenti endo- β -1,4-glucanasi (EGasi) e gli eventi ultrastrutturali della degradazione della parete cellulare durante la maturazione e il rammollimento dei frutti di fragola. I dati biochimici riguardanti le due isoforme di EGasi (P.I. 7.9 e 9) caratterizzate nei tessuti indicano un aumento di entrambe le isoforme enzimatiche durante la maturazione dei frutti; i dati ultrastrutturali e citochimici riguardanti le modificazioni parietali osservate durante i vari stadi di maturazione dei frutti indicano che le microfibrille di cellulosa in realtà non vengono attaccate dall'attività delle Egasi che sono invece responsabili dell'idrolisi dei componenti di matrice parietale, e precisamente delle emicellulose. Tale evento comporta una perdita della tessitura parietale con conseguenze anche sull'arrangiamento delle microfibrille di cellulosa.

EFFETTO DI METALLI IN PIANTE SUPERIORI

E' noto che il cadmio si accumula nelle diverse parti delle piante, inserendosi così nella catena alimentare, attraverso la quale giunge agli animali e all'uomo.

Sono stati studiati gli effetti della presenza di cadmio a diverse concentrazioni nel terreno di coltura in mais e riso (specie di interesse alimentare).

Sono stati rilevati gli effetti di questo metallo sull'apparato fotosintetico delle piante, studiando i danni ultrastrutturali a livello di cloroplasti, la caduta dei contenuti di pigmenti clorofilliani e la riduzione dell'efficienza fotosintetica provocati dal metallo in funzione della sua concentrazione

In mais sono stati determinati gli effetti del metallo, sempre in funzione della sua concentrazione, sull'attività di alcuni enzimi quali ATP-sulfurilasi, OAS-sulfidrilasi, nitrato-reduttasi e glutamina sintetasi; è stato riscontrato l'aumento nelle attività di questi enzimi che è stato messo in relazione a

meccanismi di difesa contro il cadmio da parte delle piante trattate di mais. In riso una analoga ricerca ha invece evidenziato una caduta dell'ATP-sulfurilasi nelle foglie trattate con alte concentrazioni di cadmio. Enzimi come RUBISCO e nitrato reductasi non vengono invece influenzati significativamente dal trattamento con il metallo.

Sono stati studiati gli effetti del cadmio sulla morfologia della foglia e della radice di riso, che rappresenta l'organo in cui sembra accumularsi maggiormente.

Sono stati, inoltre, rilevati gli effetti di questo metallo pesante sull'apparato fotosintetico delle piante, studiando i danni ultrastrutturali a livello di cloroplasti, la caduta di pigmenti clorofilliani e la riduzione dell'efficienza fotosintetica provocati dal metallo in funzione della sua concentrazione. Prove preliminari, inoltre, hanno messo in evidenza la relazione esistente tra accumulo del metallo nei due diversi organi della pianta e presenza di gruppi sulfidrici S-H. Ciò è da mettere in relazione all'aumentata sintesi di fitochelatine come meccanismo di difesa, da parte delle piante trattate, nei confronti dello stress indotto dalla presenza del cadmio.

Il rame è un micronutriente essenziale per le piante superiori; tuttavia, quando è presente in eccesso, procura severi danni agli organelli cellulari delle piante, causando una inibizione del trasporto fotosintetico degli elettroni e la degradazione del sistema membranale interno plastidiale. Il rame catalizza la formazione di radicali liberi e la sua tossicità può essere dovuta, almeno in parte, a danni ossidativi. In piantine di frumento è stata studiata la risposta di enzimi antiossidativi localizzati nei cloroplasti e nello stroma nei confronti di radicali superossidi generati da un eccesso di rame nella soluzione nutritiva di crescita. Nelle foglie trattate con rame si osserva una induzione del sistema di enzimi antiossidanti stromatici e legati ai tilacoidi, ad eccezione della deidroascorbato reductasi. In particolare, nei tilacoidi di piante trattate con rame non si rileva l'isoforma Mn-superossidodismutasi (SOD). Con tecniche western blotting e di immunocitochimica si è dimostrato che sia la SOD stromatica che quella legata ai tilacoidi sono isoforme di SODCuZn.

È stato studiato l'effetto del rame a diverse concentrazioni sulla composizione lipidica e sulla fluidità della frazione membranale arricchita nel PSII e sulla ultrastruttura del sistema membranale interno del cloroplasto. In presenza di rame a bassa concentrazione non si osservano modificazioni della composizione lipidica o del livello di lipidi e proteine della frazione membranale arricchita nel PSII; il sistema tilacoideale non presenta alterazioni ultrastrutturali. Aumentando la concentrazione di rame, invece, si determinano modificazioni nella composizione lipidica e nelle interazioni lipidi-proteine della frazione membranale arricchita nel PSII che si traducono in variazioni della fluidità dei tilacoidi, che si presentano anche dilatati.

EFFETTI DI METALLI IN MACROFITE E IN MACROALGHE.

E' noto che il cadmio è un metallo pesante fortemente tossico ed inquinante: esso, infatti, si accumula nei diversi organi delle piante, inserendosi nella catena alimentare, attraverso la quale giunge agli animali e all'uomo. Nonostante i corpi idrici rappresentino il principale veicolo di contaminazione da metalli pesanti per animali e piante, i lavori disponibili a tutt'oggi sono ancora scarsi. Le indagini effettuate su una macrofita acquatica, *Elodea canadensis* Michx, esposta a diverse concentrazioni di cadmio hanno dimostrato che questo metallo è in grado di modificare la crescita e il pattern morfogenetico delle giovani foglie di questa specie. Inoltre il cadmio altera l'organizzazione della parete cellulare fogliare e causa drammatiche alterazioni dei cloroplasti. Oltre a ciò, in *Elodea canadensis* questo metallo determina una riduzione dell'attività fotosintetica non ascrivibile unicamente a minori contenuti in clorofille.

Anche in una macroalga che è ampiamente diffusa in laguna di Venezia, *Ulva laetevirens*, sono stati riscontrati effetti del cadmio a diverse concentrazioni sulla struttura del tallo e sull'organizzazione dei cloroplasti.

In particolare, anche se il metallo viene trattenuto principalmente a livello di parete cellulare che ne limita l'ingresso nelle cellule, in *Ulva laetevirens* il cadmio 100µM determina una riduzione della crescita e dello spessore del tallo, nonché evidenti alterazioni delle membrane tilacoidali cloroplastiche che si accompagnano ad una riduzione del contenuto in clorofille.

Un'ulteriore studio condotto sull'effetto del Cd 10 µM su due macroalghe della laguna di Venezia, *Ulva intestinalis* L. e *Ulva laetevirens* Areschough, ha evidenziato due diverse risposte morfofisiologiche delle due specie. Dai risultati ottenuti si evidenzia che *U. intestinalis*, nonostante sia in grado di accumulare il metallo in quantità comparabili a quelle accumulate da *U. laetevirens*, mostra una maggior sensibilità al cadmio che si traduce in evidenti danni cellulari.

Il cromo, un metallo pesante che deriva da diverse lavorazioni di tipo industriale, può accumularsi negli organismi animali e vegetali. Risulta perciò particolarmente interessante lo studio di specie vegetali in grado di accumulare questo metallo e quindi di detossificare un ambiente inquinato. Dalle indagini condotte in *Cyperus alternifolius* L. esposto a diverse concentrazioni di cromo, risulta che questa specie è resistente all'azione tossica del metallo e potrebbe così essere impiegata per la decontaminazione di ambienti inquinati da cromo.

Poichè il trasporto del cromo fornito alle piante come cromato sembra avvenga tramite carriers che solitamente mediano il trasporto anche del solfato, il lavoro condotto su *Brassica juncea* (L.) Czern suggerisce che sia necessario considerare le interazioni tra cromato e solfato quando si utilizzi questa specie nella phytoremediation di substrati contaminati da cromo.