

## **B1 = An acute O<sub>3</sub> stress induces changes in chromatin organization and in functional activity of nuclei and nucleoli in sensitive poplar clones leaves**

G. Bartoli<sup>1,2</sup>, L.M.C. Forino<sup>2</sup>, A.M. Tagliasacchi<sup>2</sup>, F. Ruberti<sup>2</sup>, R. Bernardi<sup>1</sup>, M. Durante<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Agricultural Plant Biology, Genetics Section, University of Pisa (Italy); <sup>2</sup>Dept. of Biology, University of Pisa (Italy)

Tropospheric ozone is one of the most ubiquitous and phytotoxic gaseous pollutants and the plants respond to its oxidizing power with an array of physiological, biochemical, functional and genetic changes, aimed to survive the stress or limit the damage eventually caused. Aim of this study is to investigate, by cytohistochemical and molecular approaches, the effects induced by an acute ozone exposition in leaf tissues, the first target for phyto-toxic action of O<sub>3</sub>, focusing on nuclear and nucleolar changes. For this purpose two poplar hybrids, the O<sub>3</sub>-sensitive *Populus deltoides x maximowiczii*, Eridano clone and the O<sub>3</sub>-resistant *Populus x euoramericana*, I-214 clone, were exposed to a short high-peak of this pollutant, and the effects induced in the leaf tissues were compared.

Within 24-48 hrs after the fumigation end, only the leaves of the sensitive clone showed visible necrotic areas. This macroscopical event is preceded by well detectable changes in chromatin organization of mesophyll cell nuclei (in particular the palisade layer): the transiently increased number of nucleoli per nucleus and also the increase in size of both nuclei and nucleoli, suggested an enhancement in nuclear/nucleolar functional activity, directly referable to ozone stress. These nuclear changes, and in particular the behaviour of nucleoli (considered one of the main cell stress sensors), may reflect the active response undertaken by the cell in order to contrast the phytotoxic effects of O<sub>3</sub> stress and ending with a specific gene expression program (1). At late stages from fumigation beginning, in the most affected mesophyll zones, the nucleoli disappeared and the nuclei, strictly associated to degenerating cell walls, displayed an irregular shape, with highly condensed and fragmented chromatin. The fragments, just detectable at 5 hrs of O<sub>3</sub> treatment, showed a mean complexity of 1.4 kbp, representing a percentage superior to 40% of the total extracted DNA. Karyological changes (chromatin condensation, nuclear shrinkage, DNA fragmentation) could be related to programmed cell death processes, as in HR response elicited by biotic or abiotic agents (2). Interestingly, analyses of transcriptome changes in ozone-sensitive and tolerant clones after an acute O<sub>3</sub> stress showed that the expression levels of the human analogous nucleolar phosphoprotein p 130 gene resulted enhanced by ozone treatment in both the poplar clones just at 5 hrs from treatment beginning, but the increases were significantly higher in I-214 than in Eridano clone. p 130 is a multifunctional protein involved in nuclear and nucleolar morphology maintaining, nucleologenesis (3) and also in the regulation of rRNA transcription (4, 5). Our preliminary results suggest an increased ability to maintain nuclear and nucleolar morphology and also higher level of regulation in rRNA transcription in the tolerant clone than in the sensitive, in accordance with cytohistochemical evidences.

1) M. Rizzo, R. Bernardi, M. Salvini, C. Nali, G. Lorenzini, M. Durante (2007) J. Plant Physiol., 164: 945-949.

2) K. Overmyer, M. Brosche, R. Pellinen, T. Kuittinen, H. Tuominen, R. Ahlfors, M. Keinänen, M. Saarna, D. Scheel, J. Kangasjarvi (2005) Plant Physiol., 137: 1092-1104.

3) C.-Y. Pai, H.-K. Chen, H.-L. Sheu, N.-H. Yeh (1995) J. Cell Science, 108: 1911-1920.

4) Y.-T. Tsai, C.-I. Lin, H.-K. Chen, K.-M. Lee, C.-Y. Hsu, S.-J. Yang, N.-H. Yeh (2008) J. Biomed. Sci., 15: 471-486.

5) H.-K. Chen, C.-Y. Pai, J.-Y. Huang, N.-H. Yeh (1999) Mol. Cell. Biol., 19: 8536-8546.

## **B1 = Effetti della nutrizione fosfatica sulla morfogenesi radicale di plantule di tabacco**

S. Dho<sup>1</sup>, M. Mucciarelli<sup>2</sup>, A. Trotta<sup>1</sup>, A. Fusconi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Università di Torino, Dip.to di Biologia Vegetale; <sup>2</sup>Università di Torino, Dip.to di Morfofisiologia Veterinaria

Il fosforo (P) è al secondo posto, dopo l'azoto, tra i minerali che limitano la produzione agricola, infatti, anche se può essere abbondante in molti suoli, tuttavia è in gran parte non disponibile per l'assorbimento da parte delle piante, a causa della sua scarsa mobilità. Numerosi dati in letteratura hanno dimostrato che la concentrazione di P nel suolo è in grado di modificare profondamente l'architettura radicale, e ricerche recenti stanno chiarendo i meccanismi molecolari coinvolti nella risposta morfogenetica. Tuttavia, la maggior parte di tali ricerche è stata condotta su piante di *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. In carenza di P, questa pianta modifica il modello di crescita radicale riducendo la lunghezza della radice principale, che assume una crescita determinata, e aumentando la produzione di radici laterali che bloccano precocemente la loro crescita (1). La produzione di un apparato radicale poco profondo e ramificato aumenta la capacità di assorbire P, dato che questo si trova soprattutto negli strati più superficiali del suolo (2). Considerate le piccole dimensioni e l'incapacità di formare micorrize arbuscolari, che possono essere considerate uno tra i principali adattamenti evolutivi delle piante alla carenza di P, *A. thaliana* potrebbe avere una strategia di crescita differente da quella della maggior parte delle piante.

Nel presente lavoro sono state analizzate le caratteristiche di crescita di plantule di tabacco (*Nicotiana tabacum* L.) con lo scopo di valutarne il possibile impiego come pianta modello per chiarire i meccanismi di regolazione della crescita radicale. Questa specie è stata scelta dopo uno screening preliminare, perché ha dimostrato di rispondere alla nutrizione fosfatica in modo differente da *Arabidopsis*, e inoltre può essere colonizzata dai funghi micorrizici arbuscolari.

Plantule di tabacco sono state coltivate per 4 settimane su MS a mezza forza agarizzato, senza aggiunta di P (P-; P 20  $\mu$ M presente nell'agar utilizzato) o contenente P 1 mM (P+), in condizioni controllate di luce e temperatura. E' stata analizzata la morfometria radicale mediante analisi d'immagine, la vitalità degli apici radicali mediante determinazione dell'attività succinato deidrogenasica, e l'attività mitotica, mediante valutazione dell'indice mitotico nonché incorporazione e immunolocalizzazione della bromodeossiridina su sezioni.

I risultati hanno mostrato un aumento del grado di ramificazione della radice principale nel trattamento P+ rispetto al P-. Inoltre a partire dalla terza settimana di vita, nelle piante P+ le radici principali e quelle laterali basali si presentano più corte in seguito alla riduzione dell'indice mitotico, all'accorciamento medio dei meristemi radicali e ad una minore percentuale di apici metabolicamente attivi. Tale inattivazione dei meristemi è associata ad una riorganizzazione del centro quiescente e porta ad una crescita determinata della radice. Ciò non si verifica nelle piante P-, nelle quali la maggior parte delle radici continua ad accrescersi costantemente nel periodo dell'esperimento.

Questi dati dimostrano che la strategia di crescita dell'apparato radicale delle piante di tabacco, come quella di numerose altre piante (3), è completamente diversa da quella di *A. thaliana*, e costituiscono una base di partenza per studi più approfonditi sulla regolazione della morfogenesi radicale indotta dal P.

1) Sánchez-Calderón et al. (2005) Plant Cell Physiol., 46: 174-184.

2) Vance et al. (2003) New Phytologist, 157: 423-447.

3) Fusconi et al. (2000) Protoplasma, 214: 219-226.

## B1 = *Erythrina crista-galli* L. seedlings characterization

L. Guglielminetti<sup>1</sup>, M. Ruffini Castiglione<sup>2</sup>, G. Vannacci<sup>3</sup>, R. Cremonini<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dip.to di Biologia delle Piante Agrarie, Università di Pisa; <sup>2</sup>Dip.to di Biologia, Università di Pisa; <sup>3</sup>Dip.to di Coltivazione delle Specie Legnose, Università di Pisa

We present here a characterization of *Erythrina crista-galli* L. (syn: *Erythrina lamifolia* Jacq.) seedlings. The plant living in the Botanical Garden of Pisa University produces seeds that, during germination, show two different seedlings phenotype: normal (wild type, WT, 75%) and "albino" (A, 25%). Albino seedlings survive 8 weeks only and their growth is dramatically reduced when compared with WT seedlings (Fig. 1). Biochemical investigations have shown that "albino" seedlings lack completely chlorophyll and carotenoids and also soluble sugars levels (ready to use energy) result lower when compared with WT. We have also conducted an SDS-PAGE and silver staining analysis on different protein extracts from cotyledons, root, shoot and leaf of WT and "albino". Patterns are almost similar concerning cotyledons and root while strong differences are evident when shoot or leaf samples are analysed (Fig. 2). In SDS PAGE both WT shoot and leaf show a band at the level of RuBisCo large subunit and WT leaf evidence also a marked band at the level of RuBisCO small subunit (L and S in Fig. 2 respectively). On the contrary, both albino shoot and leaf don't show any putative small or large RuBisCO bands. Finally, we have analyzed the DNA content of the two different seedlings types. The Feulgen absorption of wild type and albino type was the same and the DNA content, determined in prophase nuclei of root tip, was  $7.98 \pm 0.02$  pg/4C nucleus; this determination is the first reported in literature.

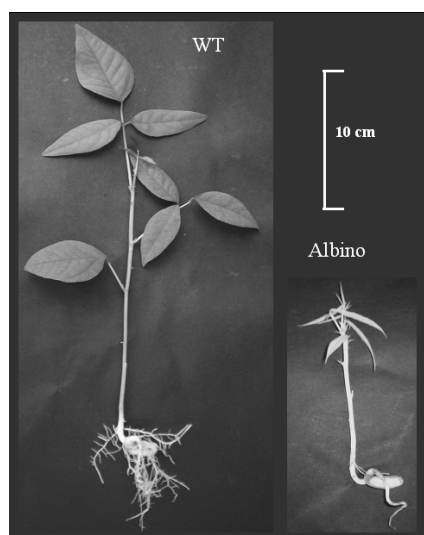


Fig. 1 - Eight weeks old *Erythrina crista-galli* seedlings.

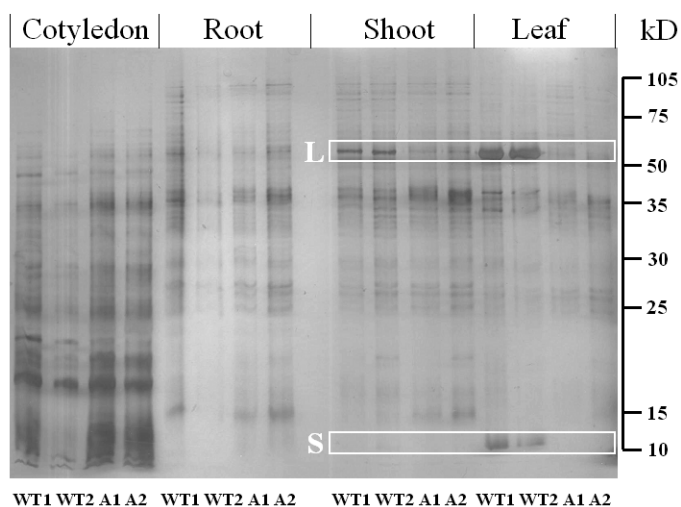


Fig. 2 - 12,5% SDS-PAGE and silver staining of *Erythrina crista-galli* protein extracts of "albino" (A) or normal (WT) seedlings. Each sample was loaded in duplicate.

## **B1 = The response of two autochthonous lentil (*Lens culinaris* Medik) landraces to abiotic stress**

M. Iallicco<sup>1</sup>, L. Calabrese<sup>1</sup>, M. Rocco<sup>2</sup>, D. Trupiano<sup>1</sup>, V. Viscosi<sup>1</sup>, G. Renzone<sup>3</sup>, C. D'Ambrosio<sup>3</sup>, A. Scaloni<sup>3</sup>, D. Chiatante<sup>4</sup>, G.S. Scippa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Science and Technology for Environment and Territory, University of Molise, Italy; <sup>2</sup>Department of Biological and Environmental Science, University of Sannio, Benevento, Italy; <sup>3</sup>Proteomics & Mass Spectrometry Laboratory, ISPAAM, National Research Council, Naples, Italy; <sup>4</sup>Department of Chemistry and Environmental Science, University of Insubria, Como, Italy

Lentil belongs to the genus *Lens* of the *Viceae* tribe in the *Leguminosae* (*Fabaceae*) family, commonly known as the legume family. The center of origin of *L. culinaris* Medik is the Near East and was first domesticated in the Fertile Crescent around 700 BC and then it first spread to the Nile from the Near East, to Central Europe, to the Indian Subcontinent and the Mediterranean Basin by the end of the Bronze Age. Over time, local constraints have produced a wide diversity within the *Lens culinaris* species, resulting in a myriad of different landraces. However, in the modern countries, the intense economical and social transformation focussed the agriculture on more remunerative crops, inducing a progressive reduction of cultivation of lentils. This process resulted in a disappearance of several local populations. To characterise the endangered autochthonous lentils, we have previously investigated the genetic relationship between two ancient landraces cultivated in Molise region (Capracotta and Conca Casale) and several widely spread commercial varieties. In particular, we used an integrated approach consisting of studies at morphological, DNA and protein level (1). By using a proteomic approach, then we have obtained the proteome map of lentil mature seed, where 134 well resolved spots were sequenced and identified. Furthermore, the multivariate statistical analyses allowed the identification of proteins that may be essential to discriminate the different lentil landraces, which can be considered as “landrace markers” (2).

In the present work, we have evaluated the response of Capracotta, Conca Casale and commercial lentils to abiotic stress, and in particular to salt stress. We have investigated the effect of NaCl on seed germination, and on early post-germination growth. Lentil seeds were germinated in Petri dishes lined with filter paper moistened with NaCl solutions at 0 (control), 100 and 200 mM (stressed) concentrations and then the dishes were placed in a germination chamber, with a 8 h/16 h light–darkness photoperiod and temperature of 22 °C. Furthermore, we have used a proteomic approach to investigate if the different landraces respond differently to salt stress and to identify proteins that may play a role in the adaptation to saline conditions.

1) G.S. Scippa, D. Trupiano, M. Rocco, V. Viscosi, M. Di Michele, A. D'Andrea, D. Chiatante (2008) *Heredity*, 101: 136-144.

2) G.S. Scippa, M. Rocco, M. Iallicco, D. Trupiano, V. Viscosi, M. Di Michele, S. Arena, D. Chiatante, A. Scaloni (2009) *Electrophoresis* (submitted).



## **B1 = Livelli di espressione del gene *OeADH* (*OeALCOHOL DEYDROGENASE*) e profilo aromatico delle drupe in due cultivar di ulivo (*Olea europaea* L.)**

D. Iaria<sup>1</sup>, L. Bruno<sup>1</sup>, A. Chiappetta<sup>1</sup>, B. Macchione<sup>2</sup>, A. Tagarelli<sup>2</sup>, G. Sindona<sup>2</sup>, M.B. Bitonti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dip.to di Ecologia, Università della Calabria, 87036 Arcavacata di Rende (CS), Italia; <sup>2</sup>Dip.to di Chimica, Università della Calabria, 87036 Arcavacata di Rende (CS), Italia

L'olivo (*Olea europaea* L.), una delle più antiche e rappresentative specie arboree coltivate nel Mediterraneo, produce frutti eduli la cui rilevanza nutrizionistica è da correlare all'elevato contenuto in composti antiossidanti (fenoli, tocoferoli, flavonoidi) che, oltre a conferire eccezionali stabilità e proprietà sensoriali ai suoi prodotti, esercitano effetti benefici sulla salute dell'uomo (1, 2, 3). Rilevanti nel conferire proprietà sensoriali al frutto dell'ulivo sono anche alcuni composti volatili, quali alcoli ed aldeidi, fra cui l'esanale e l'1-esanolo, ed esteri acetati, fra cui l'acetato di esenile, da cui discende il profilo aromatico della drupa e dell'olio. La biogenesi di tali composti è correlata al complesso di reazioni enzimatiche noto come cascata della Lipossigenasi (LOX) ed il loro equilibrio dipende dal corredo genetico varietale, in quanto ciascuna cultivar presenta un profilo aromatico specifico sia come tipologia che come quantità dei composti presenti (4, 5, 6).

Benché siano stati compiuti notevoli progressi nella comprensione delle basi molecolari che sottendono alla biosintesi degli aromi nei frutti di alcune specie (7, 8, 9, 10, 11), i cambiamenti biochimici e molecolari alla base di tale processo, in ulivo, sono ancora poco noti. In tale contesto, nel presente lavoro è stato isolato e caratterizzato, in ulivo, il cDNA del gene *OeADH*, codificante per un'alcol deidrogenasi, coinvolto nel *pathway* della LOX. Il pattern di espressione di *OeADH* è stato monitorato, unitamente a quello del gene della LOX presente in banca dati (ACG5628), nel frutto di due differenti cultivar, Carolea e Coratina, a tre diversi stadi di sviluppo, mediante PCR quantitativa. I risultati ottenuti hanno evidenziato chiare differenze nel pattern d'espressione dei due geni, sia in relazione alla cultivar che allo stadio di sviluppo analizzato.

Lo studio è accompagnato dall'analisi della frazione volatile, saggiata mediante gas cromatografia in linea con uno spettrometro di massa, al fine di correlare il pattern di espressione genica identificato con i cambiamenti nella produzione di composti volatili nel corso della maturazione del frutto.

- 1) C.A. Rice-Evans et al. (1997) *Free Radic Res.*, 26(4): 381-98. PMID: 9167943.
- 2) A.D. Bianco et al. (1999) *J Agric Food Chem.*, 47(9): 3531-4. PMID: 10552680.
- 3) E. Psomiadou et al. (2000) *J Agric Food Chem.*, 48(5): 1770-5. PMID: 10820093.
- 4) D. Ryan et al. (1999) *J Chromatogr A.*, 855(2): 529-37. PMID: 10519090.
- 6) F. Visioli, C. Galli (2002) *Crit Rev Food Sci Nutr.*, 42(3), 209-21. PMID: 12058980.
- 7) C. Benincasa et al. (2003) *J. Agric. Food Chem.*, 2003, 51: 733-741
- 8) E.J. Souleyre et al., *FEBS J.*, 272 (2005): 3132-3144.
- 9) D. Li et al. (2006) *Phytochemistry*, 67: 658-667.
- 10) F.E.L. Yahyaoui et al. (2002) *Eur. J. Biochem.*, 269: 2359-2366.
- 11) A. Aharoni et al. (2000) *Plant Cell*, 12: 647-62.
- 12) J. Beekwilder et al. (2004) *Plant Physiol.*, 135: 1865-1878.

## **B1 = Risposte di sistemi antiossidanti dopo esposizione a terre rare e loro ruolo in stress abiotici in *Lemna minor* L. e *Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Marmande**

M. P. Ippolito<sup>1</sup>, C. Fasciano<sup>1</sup>, L. d'Aquino<sup>2</sup>, F. Tommasi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Plant Biology and Pathology, University of Bari, Via Orabona 4, 70125 Bari, Italy; <sup>2</sup>ENEA Portici Research Center, Via Vecchio Macello, 80055 Portici (Napoli), Italy  
tommasi@botanica.uniba.it

Con il termine “terre rare” o “lantanidi” si indicano gli elementi chimici compresi nella Tavola Periodica fra il lantanio ed il lutezio, più l'ittrio e lo scandio, i quali manifestano comuni proprietà chimiche connesse ad una simile configurazione elettronica esterna. Tali elementi sono largamente utilizzati nell'industria, in agricoltura e zootecnia in varie parti del mondo e questo suscita crescenti preoccupazioni per la possibile contaminazione di suoli, ecosistemi acquatici e derrate alimentari.

Le conoscenze sul destino ambientale di questi metalli e sui loro effetti sugli organismi viventi sono piuttosto scarse e non sono note le soglie oltre le quali l'esposizione a questi elementi risulta dannosa ai vegetali, che sono alla base della catena alimentare. Talora contraddittorie sono anche le informazioni relative all'effetto di tali elementi sulla crescita dei vegetali superiori. Un panorama generale delle conoscenze degli effetti delle terre rare sulle specie vegetali di maggiore interesse agronomico è riportato da Hu *et al.* (1).

Alcuni dati indicano che esse promuovono in alcune specie la germinazione dei semi, specialmente di vecchia raccolta, lo sviluppo di radici e germogli, la fioritura, la produttività in campo, laddove altri studi evidenziano effetti nulli o addirittura inibitori o tossici di tali sostanze su colture di interesse agrario (2) o su specie di interesse ambientale (3). Negli ultimi anni sta crescendo l'interesse per le terre rare poiché alcuni lavori suggeriscono che il lantanio ad opportune concentrazioni promuove una maggiore resistenza agli stress abiotici in quanto esso indurrebbe stimolazione di alcuni sistemi antiossidanti cellulari coinvolti nel controllo dei livelli di specie reattive dell'ossigeno nelle piante (4). Per tale motivo l'obiettivo del lavoro è quello di valutare l'effetto di trattamenti con nitrato di lantanio e con una miscela di nitrati di lantanio, cerio, praseodimio e neodimio sulla crescita, sui principali antiossidanti solubili l'ascorbato e il glutatione e su alcuni enzimi del loro metabolismo in due specie modello di interesse agrario ed ambientale, pomodoro e lenticchia d'acqua, soggette, rispettivamente, a stress da siccità e raffreddamento.

Dopo i trattamenti con terre rare è stata evidenziata una stimolazione dei sistemi antiossidanti considerati, tuttavia essa non ha determinato alcun miglioramento nelle risposte a tali stress. Le variazioni dei sistemi antiossidanti osservate dopo i trattamenti con terre rare sembrano essere solo la conseguenza di uno squilibrio del metabolismo cellulare causato dalla somministrazione delle terre rare stesse.

1) Z. Hu, H. Richter, G. Sparovek, E. Schnug (2004) *J. of Plant Nutrition*, 27: 183-220.

2) L. d'Aquino, M.C. de Pinto, L. Nardi, M. Morgana, F. Tommasi (2009) *Chemosphere*, 75: 900-905.

3) M.P. Ippolito., C. Paciolla, L. d'Aquino, M. Morgana, F. Tommasi (2007) *Caryologia*, 60: 125-189.

4) Y. Jia, Y. Gao, F. Zeng (2005) *J. Rare Earths*, 23: 240-244.

## **B1 = Analisi quali-quantitativa del contenuto di carotenoidi in peponidi di anguria**

M. S. Lenucci, G. Piro, G. Dalessandro

*DiSTeBA, Università del Salento, Via prov. Lecce-Monteroni, 73100 Lecce*

L'anguria rappresenta, dopo il pomodoro, la più importante fonte alimentare di licopene. Questo pigmento rosso, sintetizzato e accumulato nei cromoplasti dell'endocarpo dei peponidi di anguria è uno degli oltre 600 carotenoidi riscontrati in natura. Pur non avendo un ruolo di provitamina A, l'importanza nutrizionale del licopene è legata alla sua potente attività antiossidante che risulta superiore a quella di tutti gli altri carotenoidi (1). Numerosi studi epidemiologici hanno indicato un coinvolgimento del licopene nella prevenzione di molte malattie degenerative, come l'aterosclerosi ed alcuni tipi di cancro (2).

Sebbene molti studi siano stati condotti sull'accumulo e distribuzione del licopene nelle bacche di pomodoro nel corso della maturazione, pochissimo è noto nell'anguria. In questo lavoro è stato valutato il contenuto di licopene e  $\beta$ -carotene in peponidi di anguria di cinque diverse varietà (Crimson sweet, Dumara, Giza, P403P1 e P503P1) coltivate in pieno campo. L'accumulo di entrambi i carotenoidi è stato monitorato in quattro successivi stadi di sviluppo e maturazione del frutto (acerbo, immaturo, parzialmente maturo e completamente maturo). Per ciascuno stadio è stato valutato il contenuto di licopene e  $\beta$ -carotene in quattro distretti topologici dell'endocarpo identificati come: zona apicale (quella più vicina al peduncolo che unisce il frutto alla pianta), zona basale (quella più lontana), cuore e zona periferica.

Tutte le varietà hanno mostrato un progressivo accumulo di licopene nel corso della maturazione. Si passa da valori prossimi allo zero nei frutti acerbi ancora in via di sviluppo a valori compresi tra 36,4 mg/kg p.f. e 54,5 mg/kg p.f. nei frutti completamente maturi. Tale accumulo è significativamente influenzato da differenze varietali. A completa maturazione, le varietà P503P1 (50,9 mg/kg p.f.) e Giza (54,5 mg/kg p.f.) hanno mostrato livelli di licopene più alti rispetto ai valori medi riportati per l'anguria (48,7 mg/kg p.f.) (3). Tutte le varietà analizzate rientrano, tuttavia, nell'ampio range di valori riguardanti la quantità di licopene nelle angurie diploidi a polpa rossa riportati da altri autori: 12,2-52,5 mg/kg p.f. (4); 33,8-82,3 mg/kg p.f. (3). Il  $\beta$ -carotene è presente nell'anguria in quantità più modeste. Nei frutti maturi delle varietà analizzate è stata riscontrata una percentuale variabile di  $\beta$ -carotene compresa tra 4,1% nella varietà Dumara e 1,9% nella varietà P403P1. Sebbene sia stato riportato che, generalmente, le varietà ad alto contenuto di licopene abbiano parallelamente un contenuto più elevato di  $\beta$ -carotene (3), i dati riportati in questo lavoro non sembrano avvalorare questa assunzione. La più alta quantità media di  $\beta$ -carotene (1,8 mg/kg p.f.) è stata, infatti, riscontrata nella varietà Dumara che ha, invece, un contenuto medio di licopene. Per quanto riguarda la distribuzione dei carotenoidi nei diversi distretti topologici, il cuore sembra essere la zona di massimo accumulo nella maggior parte delle varietà analizzate.

I dati riportati in questo lavoro sottolineano l'esigenza di ricerche mirate ad approfondire le conoscenze sulla regolazione della biosintesi dei carotenoidi nelle angurie e a determinare le proprietà funzionali di questo alimento salutare.

1) P. Di Mascio, S. Kaiser, H. Sies (1989) Arch. Biochem. Biophys. 1989, 274: 532-538.

2) A.V. Rao (Ed.) (2006) Caledonian Science Press Ltd.

3) P. Perkins-Veazie, J.K. Collins, A.R. Davis, W. Roberts (2006) J. Agric. Food Chem., 54: 2593-2597.

4) M.L. Tomes, K.W. Johnson, M. Hess (1963) Proc. Am. Soc. Hortic. Sci., 82: 460-464.

## **B1 = Definizione di un protocollo per la caratterizzazione morfologica e molecolare del genere *Daldinia* Ces. De Not. (*Ascomycota*) in Sicilia**

F. Palla, A. Lanza, F.P. Mancuso, G. Lombardo, A. Saitta, M.L. Gargano, G. Venturella  
*Università degli Studi di Palermo, Dip.to di Scienze Botaniche, Via Archirafi 38, 90123 Palermo*

La possibilità di chiarire la tassonomia di alcuni complessi di specie come nel caso di *Daldinia* Ces. De Not. (1) per mezzo di indagini sia morfologiche che molecolari, permette un'esatta definizione dei taxa sulla base delle loro caratteristiche biologiche ed ecologiche. In un precedente studio (2), effettuato sulla base dei caratteri teleomorfici ed anamorfici, sono stati descritti due taxa nuovi per la Scienza provenienti dal territorio siciliano: *Daldinia martinii* M. Stadler, Venturella & Wollweber e *D. raimundi* M. Stadler, Venturella & Wollweber. In questo contributo le stesse entità ed altri campioni di *Daldinia* di provenienza siciliana sono state analizzate con tecnologie differenti che hanno permesso sia l'osservazione al SEM dei profili morfologici delle ascospore, confermando le precedenti osservazioni (2), sia l'analisi molecolare (3) che ha previsto l'estrazione del DNA genomico dalle ascospore; l'amplificazione mediante la reazione a catena della polimerasi di specifiche sequenze bersaglio del genoma fungino; il sequenziamento dei prodotti di PCR e allineamento con le sequenze depositate nelle GenBank, la verifica delle relazioni filogenetiche e costruzione del relativo dendrogramma.

Per l'estrazione del DNA genomico dalle ascospore sono stati utilizzati diversi protocolli, sia di laboratorio sia commerciali, e per facilitare la lisi delle ascospore di *Daldinia* è stato effettuato un pre-trattamento con microonde (4), in modo da rompere la resistente struttura della parete sporale preservando, al tempo stesso, l'integrità dell'acido nucleico. Le molecole di DNA genomico sono state utilizzate come stampo per le successive reazioni di PCR in cui sono stati utilizzati i primers ITS, sia universali sia "fungal specific". I prodotti di amplificazione ITS sono stati sequenziati ricorrendo al MWG-Biotech Custom Sequencing Services, Germania (<http://www.mwg-biotech.com>) e le sequenze ottenute sono state confrontate con quelle presenti nella banca dati mediante la piattaforma BLAST. Le sequenze delle regioni ITS, dopo essere state messe a confronto con quelle presenti in banca dati, sono state allineate con il programma Clustal W e quindi sottoposte ad analisi cluster con i programmi *Dnadist* e *Neighbor-joining* del pacchetto Philip.

I risultati hanno permesso di: *i*) individuare il protocollo di estrazione più idoneo, quindi la metodologia che, dopo un pre-trattamento delle spore con microonde, ha permesso l'estrazione del DNA genomico in quantità sufficienti per le successive analisi; *ii*) delineare il profilo di amplificazione PCR più idoneo, utilizzando primer diversi e saggiando (ricorrendo al Mastercycler-gradient, *Eppendorf*) un ventaglio di temperature di annealing, al fine di definirne la più specifica; *iii*) stabilire il grado di omologia dei campioni oggetto dello studio, quindi le relazioni filogenetiche tra essi definendo il relativo dendrogramma ottenuto dall'analisi delle sequenze nucleotidiche.

1) Y.M. Ju, J.D. Rogers, F.S. Martin. (1997) *Mycotaxon*, 61: 243-294.

2) M. Stadler, H. Wollweber, W. Jager, M. Brieger, G. Venturella, J.M. Castro, H. Ttichy (2004) *Mycol. Res.*, 108(3): 257-273.

3) G. Lombardo, M. Sajeve, G. Mastrilli, F. Palla (2006) 101° Congresso Nazionale SBI, Caserta, Italia.

4) A.V.B. Ferreira, L.N. Glass (1995) *Fungal Genetics Newsletter*, USA, 49: 25-26.



## B1 = Bioinformatic analysis of *rbcL* sequence variation in C3 and C4 species

A. Papini<sup>1</sup>, P. Lio<sup>2</sup>, G. Nicosia<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dip.to di Biologia Vegetale, Università di Firenze; <sup>2</sup>Computer Laboratory, University of Cambridge, Cambridge; <sup>3</sup>Dip.to di Matematica e Informatica, Università di Catania  
 apapini@unifi.it; pl219@cam.ac.uk; nicosia@dmi.unict.it

The enzyme ribulosebiphosphate carboxylase/oxygenase (RUBISCO) is responsible of CO<sub>2</sub> fixation in plants as the main enzyme of the C3 (Calvin) cycle (1).

The analysis of mutational patterns mapped on to the known protein structure with the server Consurf (2) allowed to visualize most conserved and most variable sites on the protein surface model comparing the C3 with the C4 case. Using state of art RNA secondary structure prediction tool (Vienna RNA Websuite, <http://rna.tbi.univie.ac.at/>) we obtained the consensus secondary structures from an alignment of RNA 82 sequences for the C3 species and 81 for the C4 species. The difference in predicted structure would confirm that mRNA secondary structure is related to mRNA stability in *rbcL* which may be different in C3 and C4 plants. A consequence is that also the third codon position in the DNA sequence, even in case of synonymous substitution, might be conserved in order to maintain a particular secondary structure. An analysis with Entropy-Two server (<http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/ENTROPY/entropy.html>) used the C3 data set (the background after the program) against the C4 dataset of DNA sequence of the *rbcL* translated gene. The comparison of the two sets of sequences produced Figure 1.

Bioinformatic analysis showed that in *rbcL* sequence the constraints related to C3 and C4 syndromes obscure the phylogenetic signals. Moreover analysis on gene promoters and on the complete transcribed RNA (not only the translated part) could help to understand the control of RUBISCO transcription and translation in C3 and in C4 plants. Biotechnological applications may arise from such improved comprehension in order to increase the efficiency of photosynthetic yield in specific environmental situations.

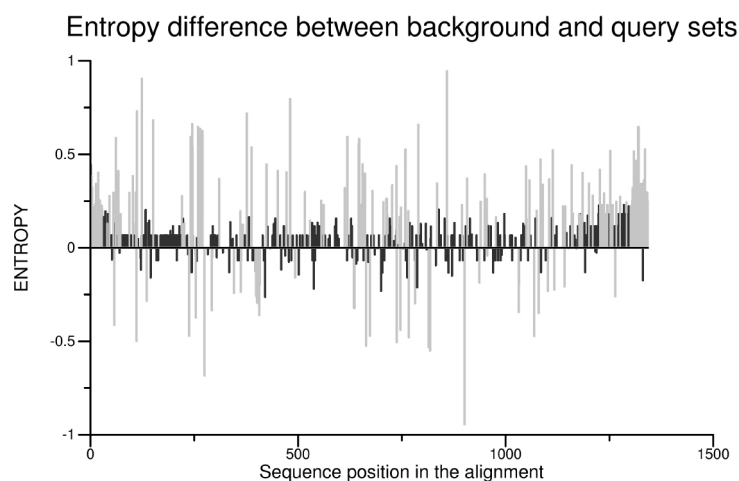


Fig. 1 shows the difference in entropy for each position of the DNA sequences data sets between C3 (background) and C4 (query) plants. The background dataset (C3) is more variable in positions that drop below the line, the query data set (C4) in those that rise above the line. User defined  $p$ -value:  $5/100=0.05$ . Significant sites with  $p \leq 0.05$  are shown in grey in the difference plot.

1) G.S. Hudson, J.D. Mahon, P.A. Anderson, M.J. Gibbs, M.R. Badger, T.J. Andrews, P.R. Whitfeld (1990) Journal of Biological Chemistry, 265(2): 808-814.

2) M. Landau, I. Mayrose, Y. Rosenberg, F. Glaser, E. Martz, T. Pupko, N. Ben-Tal (2005) Nucl. Acids Res., 33, W299-W302.

## **B1 = The biology of *Medicago marina* (L.) seed: a proteomic and phosphoproteomic approach**

E. Petrollini<sup>1</sup>, D. Trupiano<sup>1</sup>, M. Rocco<sup>3</sup>, G. Falco<sup>3</sup>, P. D'Andrea<sup>2</sup>, D. Chiatante<sup>4</sup>, G.S. Scippa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Science and Technology for Environment and Territory, University of Molise, Italy; <sup>2</sup>Germplasm Bank, University of Molise, Italy; <sup>3</sup>Dept. of Biological and Environmental Science, University of Sannio, Benevento, Italy; <sup>4</sup>Dept. of Chemistry and Environmental Science, University of Insubria, Como, Italy

*Medicago marina* (L.) is a Mediterranean species distributed from Spain up to the north of Africa and to mid-Asia. In Italy it grows along the coastal dunes of the whole peninsula, where it contributes to the stability of dune ecosystem damaged by human activities. This species stored in Germplasm Bank of Molise was subjected to different types of analysis to study the biology of its seed. Previous studies have shown that *M. marina* seeds have strong dormancy to prevent germination although environmental conditions are normally favourable. In order to break dormancy and to understand the mechanisms involved in *M. marina* dormancy and germination, seeds have undergone different pretreatments: vernalization at -20° C for two months, rapid freezing in liquid nitrogen, heating for 1 hour and mechanical scarification. After pretreatments germination test, under controlled condition, were performed to evaluate the rate and speed of germination. In comparison with a not pretreated sample (control), seeds subjected to pretreatments showed different levels of germination rate and speed. An integrated approach of proteomic and phosphoproteomic analyses were used to investigate the molecular events controlling the dormancy breaking in the different pretreatments, and the possible response of this species to abiotic stress, such as cold and heat treatments.

By two-dimensional electrophoresis, proteome of mature, pretreated and germinated seeds were compared. Preliminary analysis revealed around 50 differentially expressed proteins, and 14 of them were sequenced by MALDI TOF and LC-MS/MS. Sequenced spots were classified in five different functional classes, and the class of storage proteins is the major represented. To investigate if post-transductional modifications are involved in the mechanisms controlling dormancy-germination and in mechanisms underlying the response to cold and heat stresses, the analysis of phosphorylated proteins were performed on mature seeds, heated and vernalized seeds.

In addition to these experiments, the role of Abscisic Acid (ABA) was investigated. ABA is an important hormone involved in seed dormancy, whose concentration may decrease after cold pretreatments. To verify this hypothesis, the concentration of ABA extracted from mature seeds, vernalized and germinated seeds, was evaluated by ELISA immuno-enzymatic assay.

Preliminary results of all analyses seem to indicate that *M. marina* seeds have a physiological and physical dormancy, also known as combinational dormancy.

## B1 = *In situ* hybridisation of tandem repeat arrays and DNA methylation pattern in *Colpodium versicolor* (Stev.) Schmalh.

M. Ruffini Castiglione<sup>1</sup>, V. Kotseruba<sup>2</sup>, R. Cremonini<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dip.to di Biologia dell'Università di Pisa; <sup>2</sup>Komarov Botanical Institute, St. Petersburg

Six plants with only two chromosomes in their aploid complement ( $n=2$ ), that is the lowest known chromosome number, are reported among Angiosperms. These plants are: *Zingeria biebersteiniana* P. Smirnov; *Colpodium versicolor* Schmalh; *Haplopappus gracilis* Gray; *Brachycome dichromosomatica* C.R. Carter, *Ornithogalum tenuifolium* Delaroche and *Rhynchospora tenuis* Link. Plants with very low chromosome number are of interest as simple system for the examination of the structural organization of their chromosomes. The grass *C. versicolor* is one of the two species living on the mountains of Azeirbajjan on the Russian Caucasus, the other being *Z. biebersteiniana*. *C. versicolor* is the only perennial species suggesting its more ancient origin, since angiosperm evolution is from perennial to annual forms. In literature there is only one report on *Colpodium* by Kotseruba et al. (1); the authors investigated the karyotype and tested whether *C. versicolor* represents a putative donor of one of the two parental genomes of the allotetraploid grass *Zingeria trichopoda* P. A. Smirnov. We propose here a further characterization of the chromosome complement of *C. versicolor* by the determination of the DNA methylation pattern and in situ hybridization of telomeric and 45S rDNA sequences. DNA methylation is one of the key processes involved in the structural and functional organization of the nuclear genome and acts as an epigenetic control for genetic functions of the cell (2 and references therein). The DNA methylation pattern was determined with a specific monoclonal antibody. 5-methylcytosine (5-mc) residues are present in different chromosomal sites, some methylated bands showing differences between homologous chromosomes (Fig. 1). Hybridization signals of telomeric repeats are detectable at the distal ends of the two pair of chromosomes, while 45S rDNA is localized in one chromosomal site, corresponding to the secondary constriction (Fig. 2). In addition 45S rDNA results to be 5-mC-enriched as well as telomere-associated sequences, even if with different extent for the two chromosome pair ends. The results are discussed and compared with those previously obtained in other plant systems  $2n=4$  with the aim to enable a better knowledge of the lengthwise differentiation of this chromosome complement.

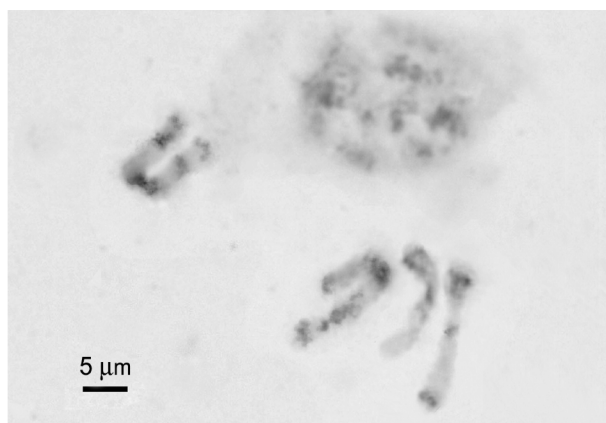


Fig. 1 - DNA methylation pattern.

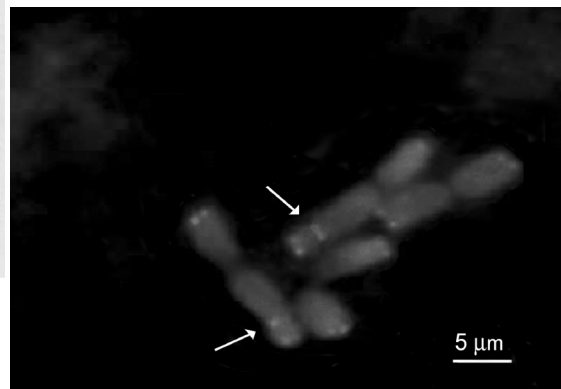


Fig. 2 - FISH with telomeric (grey) and 45SrDNA (arrows) probes.

1) V. Kotseruba et al. (2005) *Caryologia*, 58: 241-245.

2) B.F. Vanyushin (2005) *Biochemistry* (Moscow), 70: 488-499.

## **B1 = Isolamento, caratterizzazione ed organizzazione cromosomica di sequenze di DNA satellite in specie di *Lathyrus***

V. Sarri, E. Polizzi, G. Andreozzi, M. E. Caceres, M. Ceccarelli  
*Università di Perugia, Dip.to di Biologia Cellulare e Ambientale, Perugia*

È noto che il genoma nucleare degli eucarioti, e in particolare quello delle piante, è in gran parte costituito da DNA ripetitivo, una cui frazione è rappresentata dalle sequenze ripetute in tandem che formano il DNA satellite. Il perché del mantenimento e della proliferazione delle sequenze di DNA satellite nei genomi eucariotici, così come l'effettivo contributo alla loro evoluzione e al loro funzionamento, costituiscono importanti interrogativi della biologia molecolare. In questo contesto, è sembrato interessante uno studio di questa frazione del DNA nucleare in *Lathyrus*, per nessuna delle cui specie sono stati fino ad oggi pubblicati risultati al riguardo.

Sequenze di DNA satellite sono state isolate da genoteche parziali di *L. sativus* L. (clone pLsat180) e *L. sylvestris* L. (clone pLsyl185). Le unità di ripetizione che costituiscono l'inserito del clone pLsat180, che mostrano una struttura dimerica, sono lunghe da 54 a 56 copie di basi, hanno una percentuale media di adenina + timina del 50,91% e percentuali di similarità della sequenza nucleotidica che vanno dal 51,72% al 94,83%. Le unità di ripetizione presenti nell'inserito del clone pLsyl185 sono tutte lunghe 41 paia di basi, sono arricchite in adenina + timina (75,61%) e la similarità della loro sequenza nucleotidica oscilla fra 95,12% e 100%. La ridondanza (numero di copie per 1C di DNA) delle sequenze appartenenti ad ambedue le famiglie è stata calcolata nel genoma di *L. clymenum* L., *L. latifolius* L., *L. odoratus* L., *L. sativus* e *L. sylvestris* mediante ibridazione molecolare ('dot blot'). Sequenze correlate con l'inserito del clone pLsat180 sono risultate specie-specifiche per *L. sativus*, nel cui genoma hanno una ridondanza pari a  $2,91 \times 10^7$ . L'inserito del clone pLsyl185 riconosce invece sequenze correlate, oltre che ovviamente in *L. sylvestris* anche in *L. latifolius*, con ridondanze rispettivamente pari a  $1,38 \times 10^7$  e  $1,11 \times 10^7$ . Questo dato conferma la prossimità filogenetica delle due specie, già evidenziata da altri risultati presenti nella letteratura. Le sequenze studiate sono state infine localizzate nei corredi cromosomici delle specie in cui esse sono presenti mediante ibridazione citologica dopo marcatura delle sonde con fluorocromi (FISH). Le sequenze nell'inserito del clone pLsat180 sono presenti, in posizione pericentromerica, in due coppie del complemento cromosomico di *L. sativus*. Sequenze correlate con l'inserito del clone pLsyl185 sono presenti, in posizione telomerica o interstiziale, in tutte le coppie cromosomiche di *L. sylvestris* e *L. latifolius*, anche se con distribuzione parzialmente diversa nei due complementi. La localizzazione di queste sequenze, unitamente a quella dei cistroni ribosomiali 45S e 5S, consente di riconoscere con certezza ciascuna delle sette coppie cromosomiche, ciò che non sarebbe possibile sulla sola base della loro morfologia. I risultati ottenuti si aggiungono ad altri presenti nella letteratura per altre specie nell'indicare la rapida evoluzione quantitativa e/o strutturale delle sequenze di DNA satellite che ha accompagnato la speciazione in *Lathyrus*, la diversità della loro organizzazione cromosomica anche in due specie strettamente correlate (*L. sylvestris* e *L. latifolius*), l'importanza dello studio anche delle sequenze ripetute in tandem per l'analisi dei rapporti filogenetici fra specie, e la fondamentale utilità dei risultati della loro localizzazione cromosomica per la cariotipizzazione e la conseguente discriminazione delle coppie cromosomiche in un complemento.

## **B1 = Activation Tagging of a AP2/ERF Transcription Factor from Poplar That Regulates Lateral Root Proliferation**

D. Trupiano<sup>1</sup>, V. Busov<sup>2</sup>, D. Chiatante<sup>3</sup>, G. S. Scippa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Science and Technology for Environment and Territory, University of Molise, Pesche (IS), Italy; <sup>2</sup>Biothech Research Center, Michigan Technological University, Houghton (MI), USA; <sup>3</sup>Dept. of Chemistry and Environmental Science, University of Insubria, Como, Italy

The formation of lateral roots is important for establishment of a root system capable to efficiently uptake water and nutrients from the soil and to ensure anchorage. The intrinsic and environmental factors involved in lateral root formation, that determine root architecture and how plants respond to external signals to modulate these mechanisms, have been extensively studied in the model plant species *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. Nevertheless, because of the extensive genotypic and environmental plasticity of lateral root formation, it is unknown if these mechanisms are conserved in other plant lineages.

This project aims to throw light upon the complex network of molecular events responsible of the appearance of new lateral roots studying genes potentially involved in this events.

We have identified through activation tagging a poplar gene (D1772) that encodes AP2/ERF transcription factor that when upregulated increases adventitious and lateral root proliferation. The gene belongs to a small gene family of transcription factors that regulate biosynthesis of suberin and cutin-major protectants of leaf and root tissues against dehydration. Therefore, the identification of this gene provides an intriguing connection between biosynthesis of drought protecting substances and root morphology suggesting that these mechanisms may be coordinately regulated.

For the experiment, hybrid aspen clone INRA 717-IB4 via *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation procedure was used to generate a population of activation-tagged lines for this candidate gene. In particular the gene was retransformed under a strong 35S promoter to recapitulate the phenotype in the original D1772 mutant (Fig. 1).

After regeneration on selection media (with and without auxin), all lines were verified via PCR for transgene presence and after via RT-PCR for its over-expression in different portion of plant (apex, stem, leaf and root).

We will report on our progress and plans to characterize the gene.

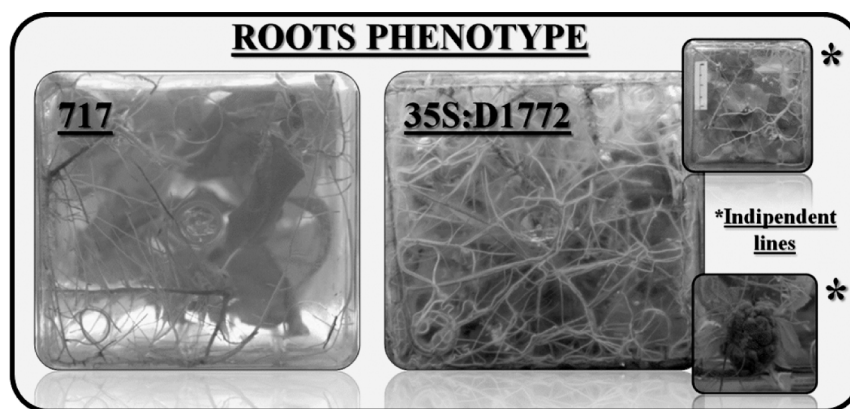


Fig. 1 - Enhanced lateral root production on AP2/ERF overexpressing plant (35S:D1772) compared to the control (717). \*Some independent lines show callus production.

## B1 = The proteome of poplar woody root: markers of mechanical stress response and seasonality

D. Trupiano<sup>1</sup>, V. Viscosi<sup>1</sup>, M. Rocco<sup>2</sup>, G. Renzone<sup>3</sup>, A. Scaloni<sup>3</sup>, D. Chiatante<sup>4</sup>, A. Di Iorio<sup>4</sup>, A. Montagnoli<sup>4</sup>, G.S. Scippa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Science and Technology for Environment and Territory, University of Molise, Italy; <sup>2</sup>Dept. of Biological and Environmental Science, University of Sannio, Benevento, Italy; <sup>3</sup>Proteomics & Mass Spectrometry Laboratory, ISPAAM, National Research Council, Naples, Italy; <sup>4</sup>Dept. of Chemistry and Environmental Science, University of Insubria, Como, Italy

Proteomics is the most promising technique to identify the proteins that are induced, repressed, or post-transcriptionally modified during a physiological or non-physiological plant developmental process. Two-dimensional protein electrophoresis (2-DE) permits the resolution of hundreds of proteins simultaneously and, for this reason, it is widely used in plant studies for understanding the physiological and biological mechanisms involved in development process or stress response. Combined with image analysis and mass spectrometry (MS), it provides qualitative and quantitative information about the proteins changing their expression levels.

In the present study, a proteomic approach was used to study the response of woody Poplar taproot to mechanical stress during different stages of the vegetative cycle. In particular, an experimental system in which the taproot of poplar seedlings (*Populus nigra* L.) was bent to an angle of 90° to simulate mechanical perturbation (Fig. 1) has been set up. A reference proteome map of Poplar woody root has been established, with an average of 350 spots detected in each Coomassie-stained 2-DE gels (pH 3-10 NL). To identify factors involved in the stress response, the proteome map of the control (non bent) and three different regions (upper, down and middle) of the bent taproot (Fig. 1), were compared during the active-dormancy cycle (temporal analysis).

Almost 160 protein spots were found to be differentially expressed, spatially and temporally, and were submitted to MS analyses. MALDI-TOF-MS and nanoLC-ESI-LIT-MS/MS analyses indicated that among the differentially expressed proteins, several were involved in signal transduction pathways, detoxification, metabolism and stress response. Multivariate statistical analysis were carried out to discriminate proteins regulated by the stress factor from the ones regulated by the active-dormancy cycle, and to identify possible stress markers. The remaining well resolved spots are in progress to be submitted to MS analysis for their identification. Results obtained in this work may provide important cues to begin unraveling the biology of woody root.

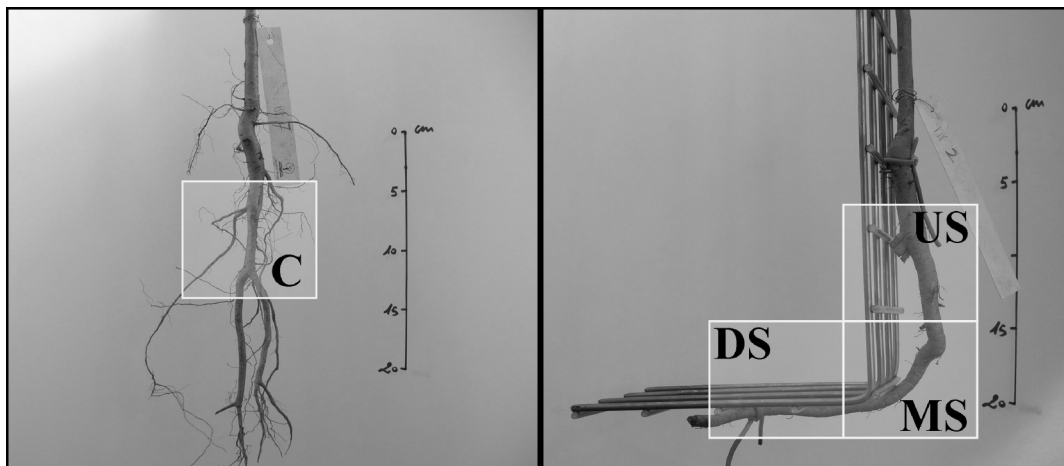


Fig. -. (A) Control taproots (B) For mechanical stress simulation, taproots were bent to an angle of 90°, by using a metallic net, and were analyzed 3 portion of bending taproots: US = upper stress portion, MS = middle stress portion and DS = down stress portion.

## **B1 = Aspetti isto-anatomici e ultrastrutturali dello stress da cadmio in *Daucus carota* L.**

E. Vurro<sup>1</sup>, G. Falasca<sup>2</sup>, R. Musetti<sup>3</sup>, M.M. Altamura<sup>2</sup>, L. Sanità di Toppi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dip.to di Biologia Evolutiva e Funzionale, Università degli Studi di Parma; <sup>2</sup>Dip.to di Biologia Vegetale, Sapienza Università di Roma; <sup>3</sup>Dip.to di Biologia e Protezione delle Piante, Università degli Studi di Udine

Il trasporto e la movimentazione dei metalli pesanti in planta sono stati studiati in numerose specie, con disparate tecniche analitiche. L'accumulo del cadmio (Cd) nelle radici e nelle foglie, in particolare, è stato investigato quasi esclusivamente in termini di analisi spettrofotometrica ad assorbimento/emissione atomici, rivelando che esistono differenze nelle strategie di accumulo di questo metallo tra specie tolleranti e non tolleranti (1). Tuttavia, poco numerosi sono i lavori in cui è stata effettuata una dettagliata e puntuale analisi degli effetti del Cd in termini isto-anatomici ed ultrastrutturali e, possibilmente, una localizzazione del metallo in planta.

In questo contributo, piante di *Daucus carota* L. (carota) var. Berlicum, ottenute da seme, sono state coltivate in vitro per 30 giorni e poi trattate con 36  $\mu$ M Cd ( $3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ) per 2, 3, 4, 7 e 14 giorni, quindi studiate nella loro isto-anatomia radicale e fogliare. In base alle osservazioni effettuate, si può ipotizzare che il Cd entri nella radice principale (e in parte anche in quelle laterali) dalla zona di differenziazione e, più prossimalmente, dal rizoderma. Da quest'ultimo tessuto il Cd transita nella corteccia, dove causa seri danni in particolare all'endoderma, riuscendo così a superare la banda del Caspary fino ad arrivare al periciclo ed al resto della stele. Anche durante il differenziamento della struttura secondaria, il Cd danneggia il fellogeno, il periciclo (che in carota perdura anche nella zona di struttura secondaria; 2) e il cambio cribro-vascolare, accedendo infine allo xilema secondario.

Le osservazioni al TEM sostanzialmente confermano le analisi in microscopia ottica, evidenziando, soprattutto nella radice principale, numerosi precipitati elettrondensi (probabilmente di Cd, vedi oltre) sia nel parenchima corticale che in quello dello xilema. In quest'ultimo sono anche presenti cellule necrotiche, contribuendo così ad avvalorare l'ipotesi di un danno diffuso in larga parte della radice. Nelle cellule parenchimatiche corticali i precipitati elettrondensi sono localizzati nel citoplasma, in alcuni plastidi e talora nei vacuoli, indicando un movimento o quantomeno un accumulo simplastico del Cd; nelle cellule parenchimatiche della regione vascolare, invece, i precipitati sono osservati a livello della parete cellulare dei vasi e negli spazi intercellulari, indicando un possibile movimento apoplastico (e/o un'immobilizzazione di parete) del metallo, sebbene la necrosi delle cellule parenchimatiche dello xilema possa indicare anche una presenza simplastica di Cd.

Al contrario, non si sono riscontrati rilevanti effetti del Cd sull'isto-anatomia dei piccioli e delle lamine fogliari. Studi istochimici con fluorocromi Cd-specifici ed analisi al TEM-EDX dei precipitati elettrondensi sono al momento in corso.

1) I.V. Seregin, V.B. Ivanov (2001) Russian Journal of Plant Physiology, 48: 523-544.

2) K. Esau (1940) Hilgardia, 13: 175-226.