

Effetto degli stress abiotici e meccanismi di protezione delle varietà di grano in Albania

Kongjika E., Shamenti L., Kongjika S.

in

Marchiori S. (ed.), De Castro F. (ed.), Myrta A. (ed.).
La cooperazione italo-albanese per la valorizzazione della biodiversità

Bari : CIHEAM
Cahiers Options Méditerranéennes; n. 53

2000
pages 225-244

Article available on line / Article disponible en ligne à l'adresse :

<http://om.ciheam.org/article.php?IDPDF=1002037>

To cite this article / Pour citer cet article

Kongjika E., Shamenti L., Kongjika S. **Effetto degli stress abiotici e meccanismi di protezione delle varietà di grano in Albania**. In : Marchiori S. (ed.), De Castro F. (ed.), Myrta A. (ed.). *La cooperazione italo-albanese per la valorizzazione della biodiversità*. Bari : CIHEAM, 2000. p. 225-244 (Cahiers Options Méditerranéennes; n. 53)



<http://www.ciheam.org/>
<http://om.ciheam.org/>

Effetto degli stress abiotici e meccanismi di protezione delle varietà di grano in Albania

E. Kongjika¹, L. Shameti¹, S. Kongjika²

¹Istituto di Ricerche Biologiche, Tirana

²Dipartimento di Biologia, Facoltà di Scienze
Naturali,
Università di Tirana

Riassunto

Le collezioni albanesi sono costituite da circa 4000 numeri di grano tenero e 2000 numeri di grano duro. Negli ultimi decenni, le semine sono state realizzate con varietà risultanti da incroci di grano italiano; almeno uno dei genitori è infatti di origine italiana. Il loro adattamento è favorito da condizioni pedoclimatiche molto simili. La maggior parte delle forme autoctone si sono estinte sebbene si riscontri una flora selvatica che può essere utilizzata per il miglioramento genetico del grano. La produzione di grano è danneggiata in Albania dalle temperature elevate, venti caldi con bassa umidità durante il periodo di formazione e maturazione. Inoltre l'aumento della concentrazione di ozono negli strati inferiori dell'atmosfera, causato dagli scarichi dei veicoli, può diventare un rischio potenziale per le piante coltivate. Le perossidasi sono gli enzimi dello stress poiché sembrano essere gli elementi chiave nel rapido adattamento delle piante ai cambiamenti ambientali. Diversi ioni modificano il grado di protezione contro il danno da enzima. Questo studio riporta la risposta di 8 varietà e 7 mutanti di grano allo shock termico e le risposte di 2 varietà (una termo-tollerante e l'altra termo-sensibile) in condizioni di stress ossidativo (perossido di idrogeno).

L'attività delle perossidasi è stata testata con il metodo spettrofotometrico di Evans. Sono stati riscontrati cambiamenti specifici dell'attività POD di diverse varietà e mutanti in due condizioni di stress abiotico. Si è osservato l'aumento dell'attività POD delle varietà tolleranti (maggiormente diffuse in Albania) ed una riduzione della stessa per le varietà sensibili con danni visibili. E' stato dimostrato che il trattamento preliminare delle piante con soluzione di CaCl_2 ha un impatto sull'attività POD. La riduzione del danno da enzima è stata riscontrata in varietà con una notevole inibizione dell'attività POD in condizioni di stress da H_2O_2 . Pertanto è possibile stimare il parametro relativo all'attività delle perossidasi come criterio pratico nello screening di varietà tolleranti che permetteranno di aumentare le forme utili di grano in Albania.

Parole chiave: grano, stress abiotici, parametri di fotosintesi, attività di perossidasi.

Effect of abiotic stresses and protection mechanisms of wheat varieties in Albania

Summary

Albanian collections contain about 4000 bread wheat numbers and 2000 durum wheat numbers. In the last decades, plantations in Albania were established with varieties mostly obtained by crossing with Italian wheat; at least one parent is of Italian origin. Their good adaptation is the result of similar climatic and soil conditions. Most of the autochthonous wheat varieties are extinct, but it exists a wild flora which can be used for the genetic improvement of wheat. Wheat production in Albania is damaged by the high temperature, hot winds with a low air moisture during the period of formation and maturation of grains. Moreover the increase in the ozone concentration in the low strata of the atmosphere, caused by motor vehicles, can become a potential risk for cultivated plants. Peroxidases are stress enzymes; they appear to be the key enzymes for the rapid adaptation of plants to changes. Different ions modify the degree of

changes. Different ions modify the degree of protection against the enzyme damage. In this study the responses of 8 varieties and 7 mutants of wheat to heat shock are estimated and the responses of 2 varieties (one thermotolerant and the other thermo-sensitive) under oxidative stress (hydrogen peroxide). Peroxidase activity was assayed by Evans spectrophotometric method. Specific changes of POD activity of different varieties and mutants under two abiotic stresses were found. The increase in POD activity of tolerant varieties (which are the most widespread in Albania) was observed, while for the sensitive ones with visible damages, the POD activity decreased. It was demonstrated that the preliminary treatment of plants with CaCl_2 solution affects the POD activity. The reduction of enzyme damage degree was found in the varieties with significant inhibition of POD activity under H_2O_2 stress. The appreciation of the peroxidase activity parameter is a practical criterion in the screening of tolerant varieties, which will increase the number of useful wheat forms in Albania.

Key words: wheat, abiotic stress, photosintetic parameters, peroxydase activity.

1. Introduzione

Le collezioni albanesi sono costituite da circa 4000 accessioni di frumento tenero e 2000 accessioni di frumento duro. Negli ultimi decenni, nei seminativi predominano le varietà ottenute dai miglioratori albanesi, per lo più tramite incrocio con linee parentali italiane; infatti, almeno uno dei genitori è di origine italiana. Varietà come "Dajti" (Gemelli x Strampelli), "Kamza 9" (Abbondanza x Farnese), "Agimi" (MEC), Nickel-886 (Dajti x MEC), "Ciano x Jubileu" hanno recentemente conosciuto un'ampia diffusione. Il loro adattamento è stato favorito dall'esistenza di condizioni pedoclimatiche simili in Albania e Italia. Inoltre, l'anno passato, sono state costituite nuove varietà attraverso selezione e mutagenesi fisica e chimica. Presso l'Istituto di Ricerche Biologiche si è ottenuto, perciò, un nuovo mutante, denominato Ni-

kel-792 o MK 3-4/3 (LBZ x L1376), trattato con DMS 0.04 M, che risulta resistente ad alcune malattie e si caratterizza per un contenuto proteico pari all'11,6% ed un incremento produttivo del 10-11%. La varietà Nickel 594 deriva dall'incrocio Dajti x Asiego.

Allo stesso tempo si può constatare che la gran parte delle varietà locali di frumento quali Rapsallet, Karabash e Zhulica si sono estinte. Dal 1941 è stata istituita una collezione delle forme autoctone presso le banche di geni di grano in Germania. Negli ultimi anni tale collezione è stata depositata all'Istituto di Ricerche Agricole di Lushnja e all'Ente Nazionale delle Sementi e Piante innestate.

Esiste, peraltro, una flora spontanea che potrebbe essere utilizzata per il miglioramento genetico del grano. In alcune forme nuove come il Nickel 496, il Nickel-997, uno dei genitori è rappresentato da *Aegilops ovata*, sottoposto a radiazione ionizzante con CO60. Queste forme raggiungono un minore sviluppo in altezza e sono più resistenti. Si riscontrano, poi, altre piante spontanee o varietà autoctone come Tapa (*Triticum monococcum* L.) e Okrra (*Triticum dicoccon* Schrank).

Tra le varietà di frumento diffuse in Albania, quelle a maturità tardiva possono essere danneggiate dalle elevate temperature, dai venti caldi associati ad una bassa umidità dell'aria durante il periodo di formazione e di maturazione dei grani. D'altra parte, il progressivo aumento della concentrazione di ozono negli strati inferiori dell'atmosfera, causato in special modo dagli scarichi dei veicoli, può rappresentare un potenziale rischio per le piante coltivate.

Le perossidasi sono ritenute degli enzimi da stress, poiché sembrano svolgere un ruolo chiave nel rapido adattamento delle piante al mutamento delle condizioni ambientali (Gaspar, 1986). Diversi ioni intervengono a modificare il grado di danno dell'enzima di protezione (Bakardjieva et al., 1992).

La via principale per l'incremento della produttività della pianta è la creazione di condizioni fotosintetiche ottimali (Austin et al., 1997), ragion per cui in questo studio si analizzeranno in primo luogo i parametri fotosintetici di alcune varietà e di alcuni mutanti di frumento. Verranno altresì calcolati i coefficienti di correlazione fra parametri fisiologici, morfologici e produttivi. L'esistenza di una variabilità genetica delle caratteristiche fisiologiche è un requisito necessario per valutare la correlazione delle varie componenti della produttività.

Inoltre si riporteranno le risposte di 8 varietà e 7 mutanti di frumento allo shock termico e le risposte di 2 varietà (una termoresistente e l'altra termolabile) in condizioni di stress ossidativo (perossido d'idrogeno).

2. Materiale e Metodi

2.1 Materiale vegetativo

Sono state messe a confronto sette varietà di frumento tenero (*Triticum aestivum* L.). Alcune di queste sono utilizzate per la semina, altre, invece, a bassa resa, non sono più impiegate. Contemporaneamente sono stati studiati alcuni mutanti, creati con trattamento a raggi gamma ad elevate dosi su semi della varietà "Dajti" e "Cinguina", per indurre nanismo nelle piante della generazione F4 nonché la nuova linea "Ni 14-88", derivante dall'incrocio della varietà "Dajti" con la "Mec 90-91".

2.2 Trattamento con alte temperature e col perossido d'idrogeno

Esperimento 1. I semi delle varietà e dei mutanti sono stati posti in piastre Petri. Una metà di essi è stata fatta germinare a 25°C, l'altra a 42,5°C nell'arco di 24 ore. Dopo questo lasso di tempo, i semi sottoposti a stress termico sono stati portati ad una temperatura di 25°C. Trascorsi due giorni, è stata determinata la percentuale di semi germinati. Non appena le radici dei semenzali hanno raggiunto

2 cm di dimensione, questi sono stati trasferiti su coltura idroponica con sali di Knop e soluzione nutritiva di Hoagland. Al termine di 21 giorni, sono stati misurati i vari parametri.

Esperimento 2. I semi delle varietà, dei mutanti e della nuova linea non sono stati trattati dalla germinazione in poi, ma i semenzali allevati nel mezzo di coltura, una volta raggiunto lo stadio di terza foglia, sono stati incubati a 42,5°C per due ore in cella climatica. I controlli sono stati mantenuti a 25°C. A ventiquattro ore dal trattamento termico si sono misurati i diversi parametri.

Esperimento 3. Dopo 21 giorni di accrescimento, le foglie dei semenzali delle due varietà "Dajti" e "L8-76" sono state irrorate con diverse concentrazioni di H₂O₂ ossia 5, 7,5 e 10% (soluzione madre al 30%).

Esperimento 4. Le foglie dei semenzali sono state irrorate con una soluzione di H₂O₂ al 10% e immediatamente dopo quest'operazione, le piante sono state incubate a 42,5°C per 2 ore nella cella climatica. I controlli sono stati mantenuti a 25°C.

Esperimento 5. Al fine di studiare l'effetto degli ioni calcio, le foglie dei semenzali sono state irrorate con una soluzione di CaCl₂ al 5% e Tween 20, 24 ore prima del trattamento delle foglie con 3 dosi di soluzione H₂O₂. I controlli sono stati trattati solo con la soluzione di CaCl₂ al 5%.

2.3 Misurazione dei vari parametri

Per stimare la variabilità delle diverse varietà e dei mutanti sono stati misurati i parametri fisiologici durante il periodo di fioritura nelle foglie bandiera, principali responsabili della granigione (Zernova et al., 1996). Si sono valutati, poi, i livelli di assimilazione netta di CO₂ e traspirazione, la conduttività stomatica e la concentrazione intercellulare di CO₂ nelle varietà con un analizzatore di gas ad infrarossi IRGA (Long e Halgren, 1985), mentre si è utilizzato l'analizzatore di gas URAS-3G per determinare il tasso di fotosintesi dei mutanti. Inoltre sono stati definiti i

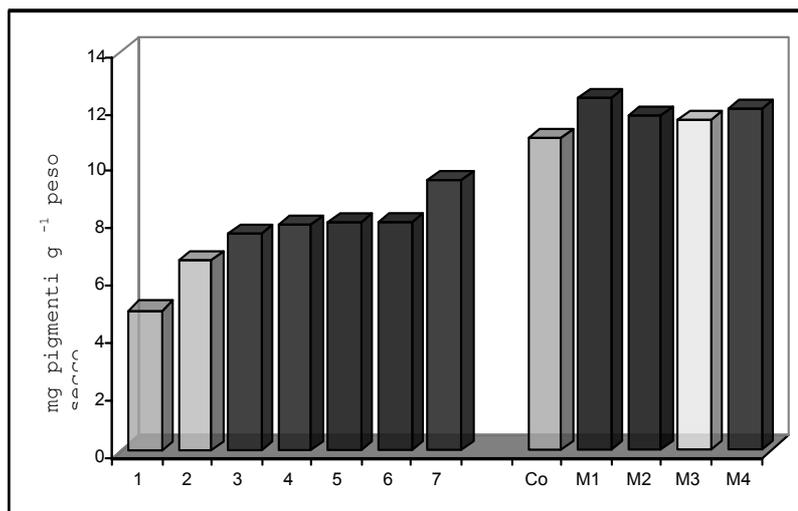
contenuti dei pigmenti fotosintetici clorofilla a, b e dei carotenoidi (Ca+Cb+C) ed il rapporto Ca/Cb con l'ausilio dello spettrofotometro (Lichtenthaler, 1986); si è misurata la superficie fogliare con il planimetro e la densità specifica delle foglie bandiera. Prima della raccolta, si è proceduto alla valutazione dei seguenti caratteri: lunghezza e peso di piante, spighe, peso dei grani delle spighe, peso di 100 grani. Si sono infine calcolate le differenze minime significative tra i valori medi di tutti i caratteri all'interno del gruppo di varietà e mutanti, i coefficienti di variazione e di correlazione.

2.4 Misurazione dell'attività perossidasi

Le perossidasi sono state estratte dai tessuti radicali dei semenzali di frumento e sono state testate con il metodo spettrofotometrico di Evans (Evans e Alldrige, 1965), adoperando un tampone fosfatico pH 6,7. La determinazione è avvenuta a 470 nm e si è impiegato il guaiacolo come elettrone donatore. Si è successivamente eseguita un'analisi statistica dei dati sperimentali.

3. Risultati e discussione

La Fig.1 mostra che, tra le diverse varietà, l' "Ardenica", a bassa resa, ha il contenuto minimo di pigmenti, mentre la varietà nuova, "Nikel 886" presenta il contenuto massimo. I dati illustrano un'elevata variabilità genetica tra le diverse varietà. Tutti i mutanti della varietà "Dajti" deno-



tano un incremento del contenuto di pigmenti rispetto alla varietà originale.

Fig.1 - Contenuti di pigmenti fotosintetici delle varietà e dei mutanti di frumento

Legenda ¹

- Livello di significatività $P < 0,05$
- Livello di significatività $P < 0,01$
- Co

Varietà

- 1 - "Ardenica"
- 2 - "L8 - 76"
- 3 - "Dajti"
- 4 - "IKB 35"
- 5 - "Kamza 9"
- 6 - "Cinguina"
- 7 - "Nikel 886"

Mutanti

- Co - var. "Dajti"
- M₁ - M2/10
- M₂ - M3/7
- M₃ - M1/11
- M₄ - M1/14

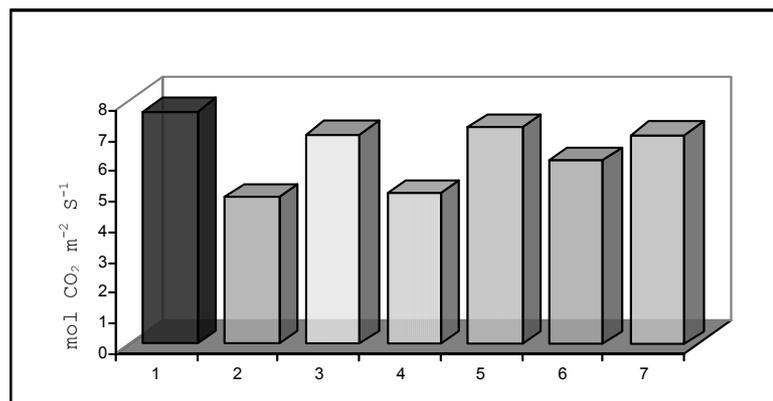
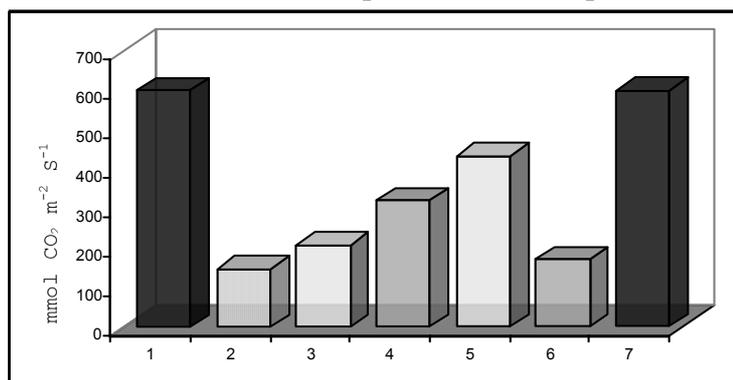


Fig.2 - Tasso netto di assimilazione di CO₂ delle foglie delle diverse varietà

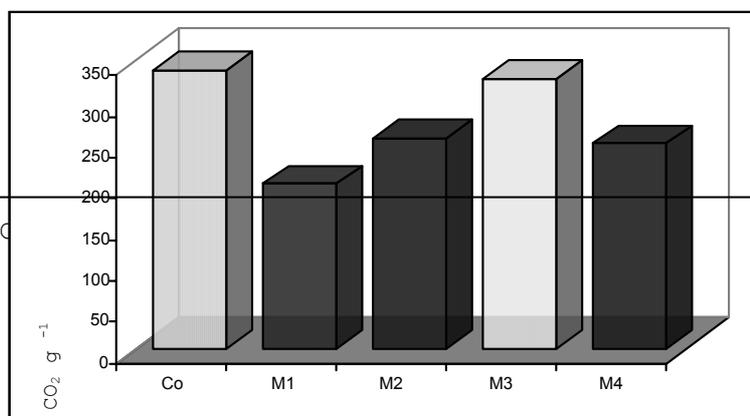
Nelle Fig. 2 e 3 è possibile notare che la varietà "Ardenica" si distingue per un più elevato tasso di fotosintesi e una maggiore conduttività stomatica. Il punto di riferimento è la varietà "L8-76", che presenta valori minimi per i due parametri. Si



constata una notevole variabilità genetica per questi parametri.

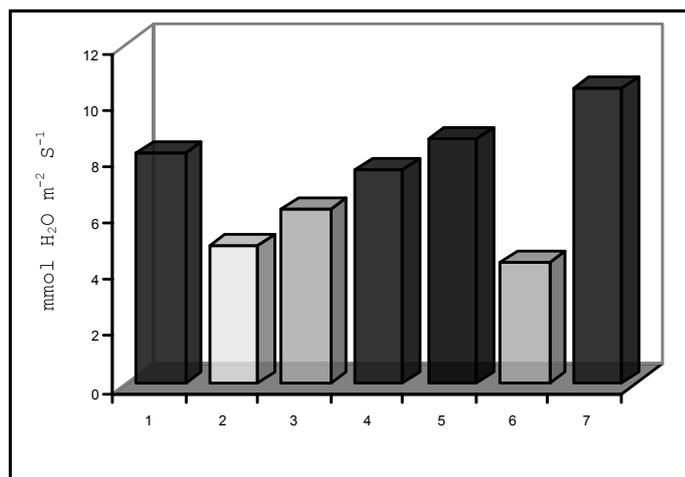
Fig.3 - Conduttività stomatica di CO₂ delle foglie delle diverse varietà

Fig.4 - Tasso di fotosintesi dei mutanti di frumento



Tutti i mutanti presentano un tasso di fotosintesi inferiore rispetto alla varietà originale "Dajti" (Fig.4).

La Fig. 5 illustra i dati della traspirazione, evidenziando i valori minimi di questo parametro nelle



varietà a bassa resa.

Fig.5 - Tasso di traspirazione delle varietà di frumento

La variazione della concentrazione di CO₂ intracellulare nelle foglie delle varietà è riscontrata con un ristretto margine e non è qui evidenziata.

Nella Fig.6 si può notare che la varietà "Ardenica" si contraddistingue per una ridotta superficie fogliare, mentre la varietà "Kamza" ha una superficie fogliare più estesa. L'ultima varietà è caratterizzata da una maggiore densità specifica delle foglie (Fig.7). Due caratteri migliorativi mostrano che la varietà "Kamza" ha un'ampia possibilità di aumentare i parametri della produttività. La superficie fogliare è un carattere che presenta una grande variabilità genetica, mentre la densità specifica si modifica leggermente a seconda della varietà. Tra i mutanti, non cambiano i valori della superficie fogliare, mentre solo il mutante M3/7 mostra un incremento significativo della densità specifica.

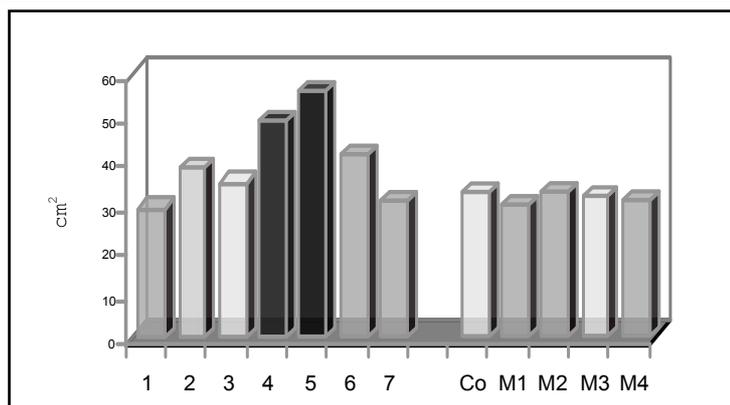


Fig.6 - Superficie fogliare delle varietà e dei mutanti

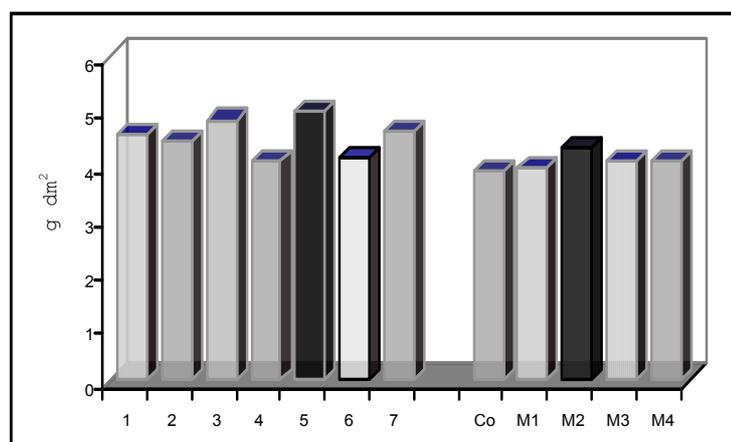


Fig.7 - Densità specifica delle foglie delle varietà e dei mutanti

Sulla base delle misurazioni dei caratteri morfologici e produttivi, emerge che, al livello delle varietà, i valori minimi riguardano "Ardenica" e "L8-76", mentre "Kamza 9", "Nikel 886" e "Dajti" risultano altamente produttive. Tra i mutanti si è osservata un minore sviluppo in altezza per due mutanti, mentre l'M3/7 presenta un miglioramento degli indici relativi alle spighe. E' bene sottolineare l'ampia variabilità genetica dei parametri fisiologici, morfologici e produttivi, specialmente tra le varietà. Nella Tab.1, sono riportati i coefficienti di correlazione delle varietà, mentre a sinistra appaiono quelli inerenti ai mutanti. Sono stati presentati solo i coefficienti di correlazione significativi.

Per quanto riguarda la struttura genetica delle varietà, la variabilità genetica di alcuni parametri fisiologici sembra essere collegata alla variazione del livello di produttività. I contenuti dei pig-

menti fotosintetici risultano correlati ad alcuni tratti morfologici, ma emerge, soprattutto, la correlazione positiva dei caratteri produttivi (peso delle spighe, numero e peso dei grani nelle spighe). Il rapporto Ca/Cb mette in correlazione il tasso di fotosintesi e di traspirazione ed il secondo mostra una correlazione positiva con il peso delle piante. E' da notare, poi, la correlazione positiva con alto livello di significatività tra la superficie fogliare ed i parametri morfologici e produttivi. La densità specifica è correlata, invece, al peso delle piante.

La situazione appare più critica per i mutanti; esiste una correlazione negativa fra tasso di fotosintesi e pigmenti, tra densità specifica delle foglie e lunghezza delle piante. La variabilità dei parametri produttivi dei mutanti sembra essere poco influenzata dai cambiamenti che intervengono al livello delle caratteristiche fotosintetiche studiate.

In base alla nostra analisi, si può ritenere che la quantità di pigmenti per unità di peso secco della foglia e la superficie della foglia bandiera siano due componenti fisiologiche separate della produttività delle varietà di frumento, il che spiega l'incremento delle capacità fotosintetiche. La correlazione positiva di questi due parametri con i caratteri produttivi è già stata dimostrata in nostri precedenti studi nonché in numerose ricerche condotte da autori albanesi (Ibro, 1991) e in altri paesi (Herzog, 1986).

Effetto degli stress abiotici e meccanismi di protezione delle varietà di grano in Albania

	Ca+ Cb+ C	Ca — Cb	R ph	R tr	Con . Stom	Sp. Dens	Sup. . fogl.	Lung. . Piant.	Lung. . Spiga	Peso Piant.	Pe- so Spiga	No. se- mi.	P. semi in spiga	P. di 100 semi
Ca+ Cb+ C	*** *** *** *** ***							*** 0.63	* 0.43		** 0.55	* 0.47	** 0.49	
Ca — Cb		** ** ** ** ** ** ** *	* 0.36	** 0.46		** - 0.53			** 0.55					
R ph	** - 0.64		*** *** *** *** ***			* 0.42								
R tr				*** *** *** *** ***	** 0.76				* 0.43					
Con . Stom					*** *** *** *** ***									
Sp. Dens						*** *** *** *** ***			*** 0.54					
Sup. fogl.						*** *** *** ***		** 0.53	* 0.46	*** 0.66	** 0.63	*** 0.61		
Lung. pian- ta						*** - 0.65	**** **** **** ****	** 0.51	** - 0.54			*** -0.58	* 0.45	
Lung. spiga							*** 0.71	**** **** **** ****	** - 0.63	*** - 0.73	*** 0.79	** 0.49		
Peso Piant.									* 0.42	**** **** ****				
Peso Spiga							*** 0.64	*** 0.74	** 0.56	*** *** *** ***		*** 0.81	* 0.44	
No. Semi											**** **** ****	*** 0.79		

P. semi in Spiga							** 0.59	*** 0.78	*** 0.85	*** 0.80			***** ***** *****	*** 0.58
P. di 100 semi							** 0.59	** 0.52	* 0.44	*** 0.63			*** 0.67	**** **** **** ***

Legenda: * - Livello di significatività $P < 0.05$ ** - Livello di significatività $P < 0.01$ *** - Livello di significatività $P < 0.001$

Tab. 1 Coefficienti di correlazione semplici tra diversi parametri di varietà e mutanti

Dal nostro studio non scaturisce alcuna correlazione significativa tra il tasso di fotosintesi ed i caratteri produttivi delle varietà e dei mutanti di frumento, mentre i dati di altri lavori hanno evidenziato che il valore dell'assimilazione di CO₂ sono inversamente proporzionali al valore della superficie fogliare e della capacità di produzione di grani e di biomassa del frumento.

Quanto alle strategie di miglioramento, i nostri risultati illustrano che il quantitativo di pigmenti e le superfici delle foglie bandiera dovrebbero essere considerati quali ulteriori parametri nel procedimento di selezione, specialmente nella diagnosi precoce dei materiali d'incrocio.

D'altra parte, tale studio consente di caratterizzare le diverse varietà e i diversi mutanti considerando anche i parametri fisiologici. Si evidenziano, pertanto, le varietà ad elevata produttività ed i mutanti nani "più" con le migliori caratteristiche di produttività.

Si riporteranno di seguito i dati relativi a numerosi esperimenti che confermano l'effetto dello shock termico e dello stress ossidativo su varietà e mutanti di frumento.

Esperimento 1. La data di germinazione dei semi delle varietà esposte ad alte temperature ha messo in luce la riduzione della germinazione stessa rispetto al testimone (25°C), ma si sono potuti distinguere tre gruppi. Tra le diverse varietà, un gruppo subisce una minore riduzione di germinazione ("Dajti", "Kamza 9" e "ç 22"), il secondo presenta

una notevole riduzione ("L8-76" e "Agimi") e l'ultimo mostra una risposta intermedia ("Cinguina", "Ardenica" e "Ni-886"). Anche i mutanti che derivano dalla var. "Dajti" si caratterizzano per una minore riduzione della germinazione, mentre i mutanti della var. "Cinguina" denotano una riduzione nettamente maggiore.

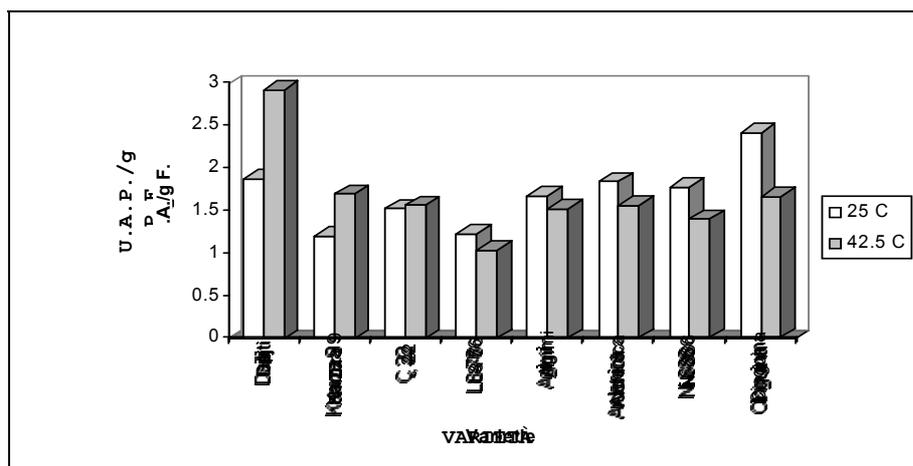


Fig. 8 - Attività perossidasi dei tessuti radicali delle varietà di frumento testimone (25°C) e di quelle sottoposte a stress (42,5°C) nello stadio germinativo

Nella Fig. 8 sono illustrati i dati dell'attività perossidasi delle diverse varietà sottoposte a stress nella fase di germinazione. Le varietà "Dajti", "Kamza 9" e "ç 22" rivelano un incremento dell'attività perossidasi in condizioni di stress (42,5°C) rispetto alle piante testimone (25°C). Peraltro, si sono riscontrate differenze significative ($P \leq 0.01$ e $P \leq 0.05$). La varietà "Dajti" si distingue per un notevole incremento dell'attività perossidasi. Un'analogica risposta è ottenuta chiaramente nei cinque mutanti derivanti dalla var. "Dajti" (Fig. 9)

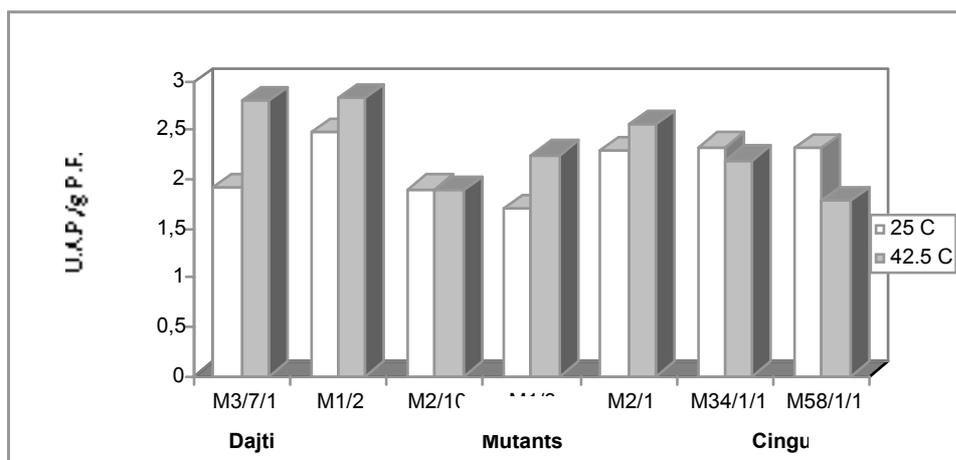


Fig.9 - Attività perossidasi dei tessuti radicali dei mutanti di frumento testimone (25°C) e di quelli sottoposti a stress (42,5°C) nello stadio germinativo.

Per contro, nell'altro gruppo di varietà, comprendente "L8-76", "Agimi", "Ardenia", "Cinguina" e "Ni-886", l'attività perossidasi risulta ridotta dall'azione delle alte temperature (Fig. 8). Tale risposta appare evidente anche nei mutanti derivati dalla var. "Cinguina".

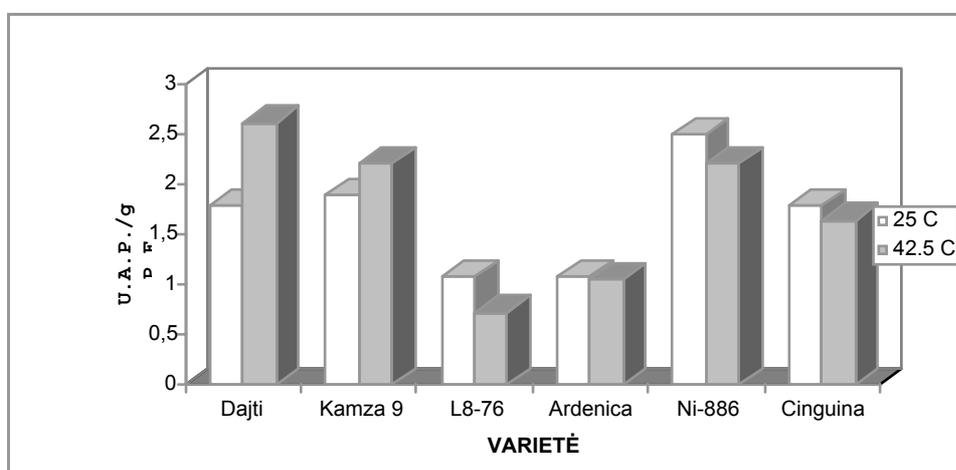
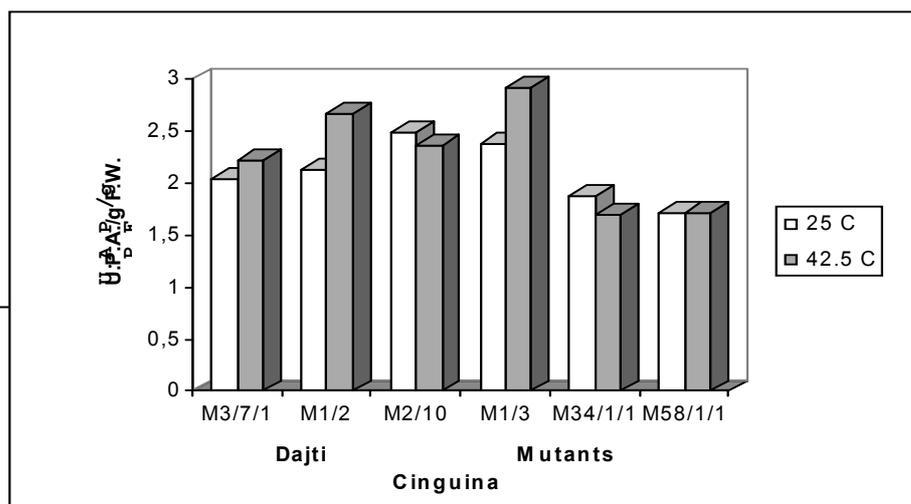


Fig. 10 - Attività perossidasi delle varietà di frumento testimone (25°C) e di quelle sottoposte a stress (42,5°C) allo stadio di terza foglia

Esperimento 2. Nella Fig. 10 sono riportati i dati dell'attività perossidasi dei tessuti radicali di diverse varietà di piante sottoposte a stress allo

stadio di terza foglia, la Fig.11, invece, illustra i dati relativi ai mutanti. In generale la risposta dell'attività perossidasi in questa fase sembra essere uguale a quella prodotta in condizioni di stress nella fase germinativa. Ancora una volta la var. "Dajti" denota un aumento considerevole dell'attività perossidasi, dato riscontrato anche nei mutanti (Fig. 11) e nella nuova linea "Ni 14-88", risultante dall'incrocio "Dajti" x "Mec 90-91" (Fig.12). Nell'altro gruppo di varietà e nei mutanti di "Cinguina" si osserva un consistente decremento dell'attività perossidasi.

Le diverse varietà reagiscono allo stress da alte temperature in modo specifico. La tolleranza delle piante allo stress da caldo pare essere un carattere specifico del genotipo. Vari autori confermano l'ipotesi secondo la quale la termotolleranza sarebbe determinata geneticamente. Il nostro studio ha evidenziato come, per le varietà "Dajti", "Kamza 9" e "ç 22", la germinazione sia leggermente ridotta dallo stress termico. Inoltre, per le stesse varietà, l'aumento dell'attività perossidasi emerge chiaramente in risposta allo stress da alte temperature. Tra le varietà, "Dajti" si distingue in quanto questa modalità di risposta è evidente anche per i mutanti nani che da essa derivano ed altresì per la nuova linea "Ni 14-88", ottenuta tramite l'incrocio "Dajti" x "Mec. 90-91" (quest'ultima varietà è anch'essa caratterizzata da un incremento dell'attività perossidasi). E' bene notare che la var. "Dajti" è tra quelle maggiormente diffuse in Albania e per di più si rivela altamente produttiva. Inoltre, sembra esistere un altro gruppo varietale, sensibile allo stress da caldo, che mostra una maggiore riduzione della germinazione ed una ridotta attività perossidasi. Tale fenomeno è anche evidente nei mutanti derivanti dalla var. "Cinguina".



Mu-

Fig. 11 - Attività perossidasi dei mutanti di frumento testimone (25°C) e di quelli sottoposti a stress (42,5°C) allo stadio di terza foglia

E' interessante sottolineare che, in genere, varietà e mutanti rispondono allo stesso modo alle alte temperature, indipendentemente dallo stadio in cui interviene lo shock termico, ossia durante la germinazione o allo stadio di terza foglia. In particolare, emerge che la risposta specifica indotta dal cambiamento dell'attività perossidasi persiste fino a 21 giorni dal trattamento termico dei semi germinati.

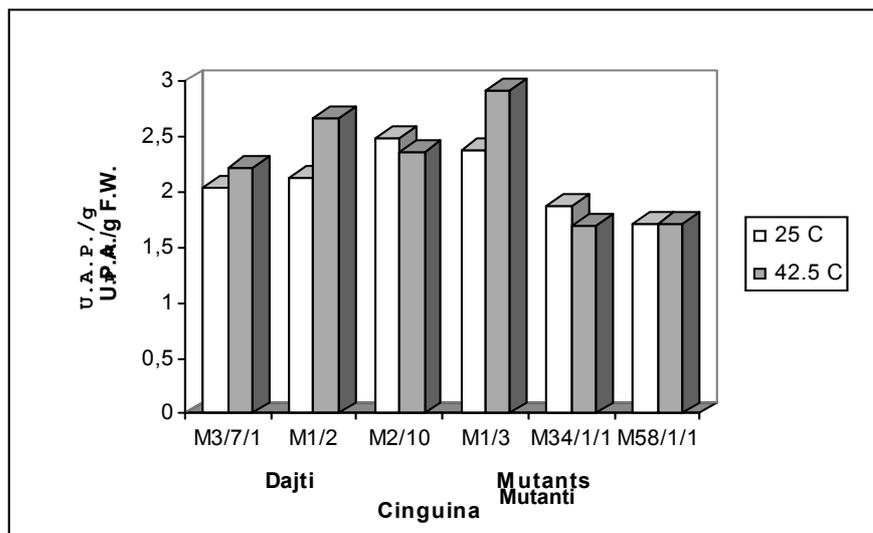
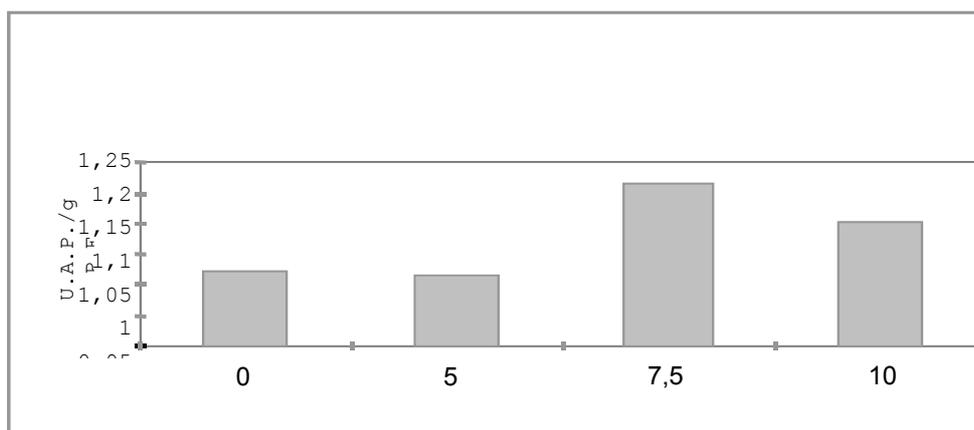


Fig. 12 - Attività perossidasi delle piante della nuova linea "Ni 14-88" e di due varietà parentali (stress esercitato allo stadio di terza foglia)

L'incremento dell'attività perossidasi in risposta allo stress termico, osservato in varietà, mutanti e linee, accompagnato da una minore riduzione della germinazione, conforta l'ipotesi del ruolo determinate dei sistemi antiossidanti, quali le perossidasi, nel ridurre i danni indotti dalle elevate temperature (Abha et al., 1990). Tali dati suggeriscono l'opportunità di impiegare, nella pratica corrente, composti in grado di incrementare



l'attività perossidasi, al fine di proteggere la pianta dai danni conseguenti all'ossidazione, aumentarne la resistenza allo stress.

Fig.13 - Attività POD dei tessuti radicali dei semenzali testimone e di quelli sottoposti a stress, appartenenti alla varietà tollerante "Dajti"

Inoltre si potrebbe utilizzare questo parametro come criterio nella selezione di linee e mutanti tolleranti allo shock termico ed allo stress ossidativo.

Esperimento 3. Nella Fig. 13 sono riportati i dati dell'attività perossidasi della varietà tollerante "Dajti", sottoposta a stress utilizzando differenti concentrazioni di H_2O_2 .

I semenzali trattati con dosi maggiori, pari a 7.5 e 10% di H_2O_2 mostrano un aumento dell'attività perossidasi rispetto ai testimoni. Si sono riscontrate delle differenze significative ($P \leq 0.05$). Le piante trattate con dosi inferiori, pari al 5% non rivelano alcuna differenza.

Al contrario, nell'altra varietà sensibile "L8-76", l'attività perossidasi è ridotta durante il trattamento con perossido d'idrogeno. Emergono delle differenze significative per tutte le varianti trattate ($P < 0.01$ e $P < 0.05$) (Fig. 14).

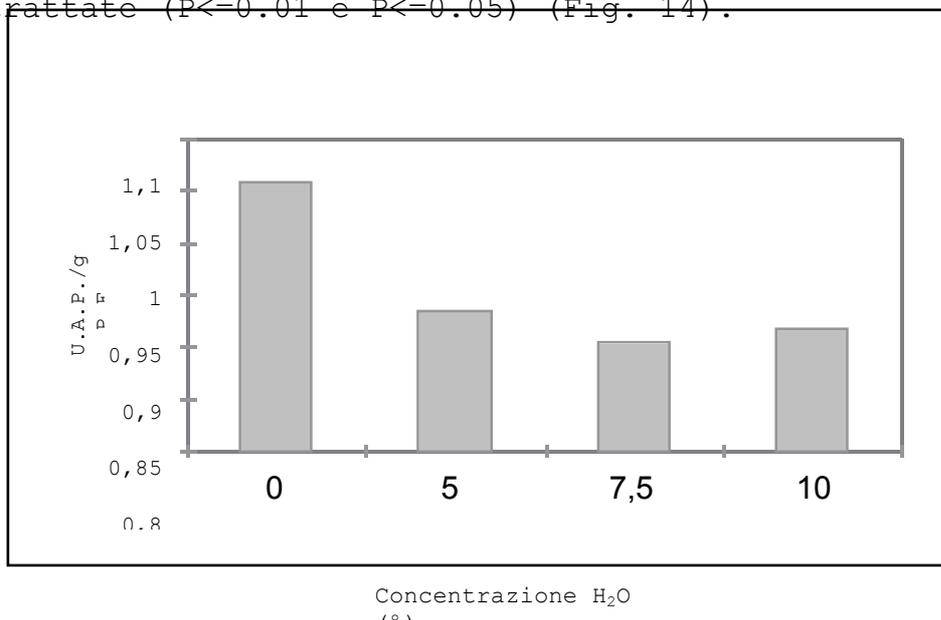


Fig. 14 - Attività POD dei tessuti radicali dei semenzali testimone e di quelli sottoposti a stress, appartenenti alla varietà sensibile "L8-76"

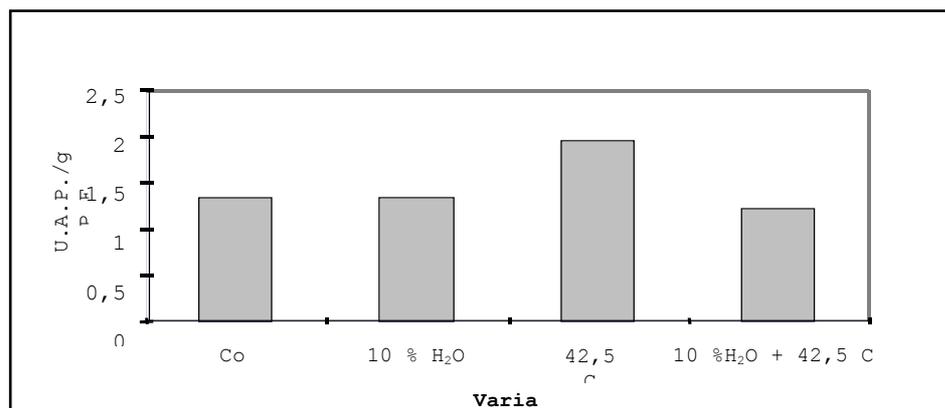
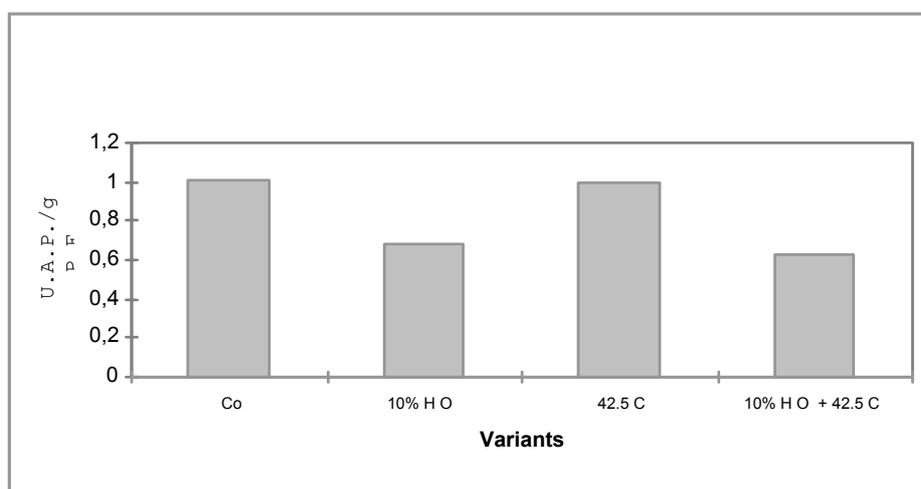


Fig.15 Attività POD dei tessuti dei semenzali di "Dajti" in condizioni di stress ossidativo e termico

Esperimento 4. Sottoponendo i semenzali all'azione combinata dello stress ossidativo e shock termico, si induce una risposta specifica delle diverse varietà. La var. "Dajti" non denota alcun cambiamento significativo dell'attività perossidasi (Fig.15), mentre "L 8-76" subisce un notevole decremento (Fig.16). La var. "Dajti", sottoposta sola a shock termico produce un consistente incremento



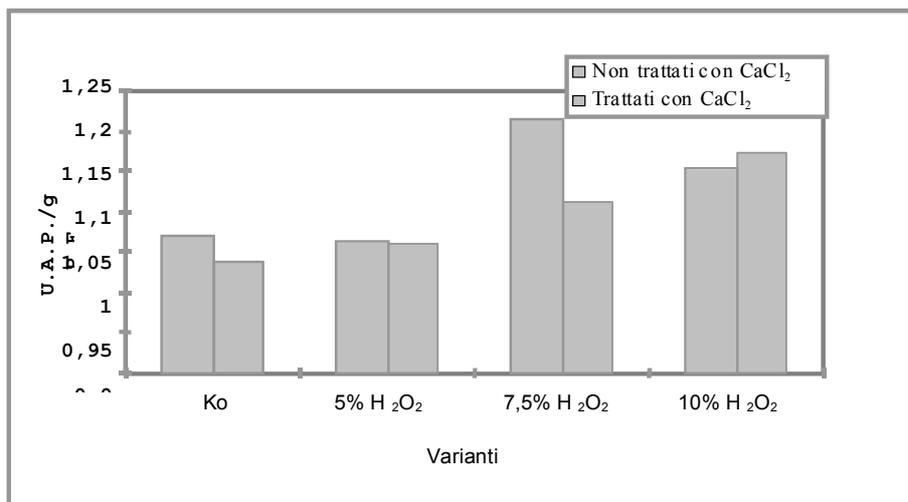
dell'attività perossidasi.

Fig.16 Attività POD dei tessuti dei semenzali di "L8 -76" in condizioni di stress ossidativo e termico

Prova 5. Un trattamento preliminare dei semenzali con ioni calcio non modifica sostanzialmente le modalità di risposta dell'attività perossidasi allo

stress da H_2O_2 nella var. "Dajti". Ancora una volta la suddetta varietà è caratterizzata da un aumento dell'attività perossidasi (Fig.17).

Nella var. "L8-76" la presenza di ioni calcio modifica in grande misura la reazione delle perossidasi, riducendo chiaramente l'inibizione di tale at-

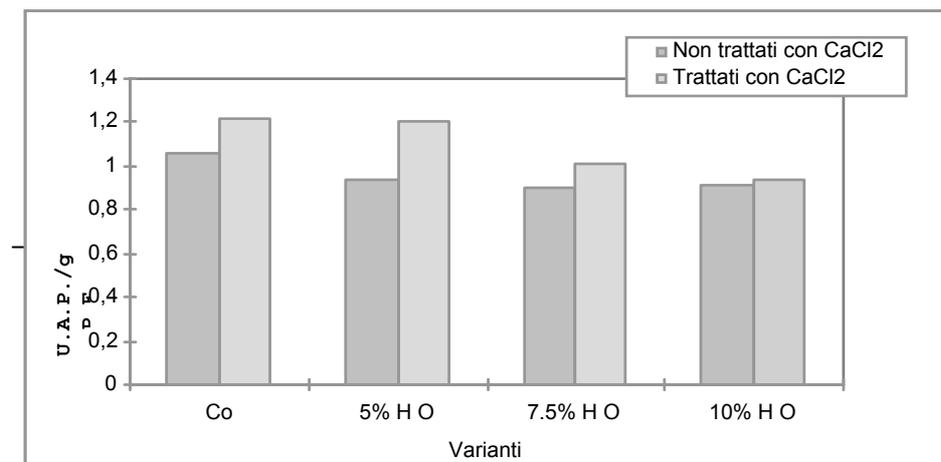


tività (Fig. 16).

Fig.17 Attività POD dei tessuti dei semenzali della var. "Dajti" in condizioni di stress ossidativo e con un trattamento preliminare con ioni calcio

Fig.18 Attività POD dei tessuti dei semenzali della var. "L8-76" in condizioni di stress ossidativo e con un trattamento preliminare con ioni calcio

I nostri esperimenti hanno dimostrato che, a seguito di uno stress ossidativo, viene attivato un efficiente sistema di difesa antiossidante. Tale sistema protegge le cellule dai danni derivanti dall'ossidazione. Nelle piante in condizioni normali avviene la formazione continua di radicali liberi, ma in stato di stress, l'intensità del processo ossidativo aumenta. L' H_2O_2 agisce da segnale d'induzione delle specifiche risposte di difesa. Le



perossidasi sono i componenti necessari delle pareti cellulari primarie ed operano l'eliminazione dell' H_2O_2 , prevenendo perciò i danni ossidativi alle proteine, la formazione di legami intermolecolari e la lignificazione. Questo tipo di enzima può agire da "predatore" di H_2O_2 nelle piante (Asada, 1992) e negli animali. Il miglioramento dell'attività POD e la comparsa di nuove isoforme sono ritenuti generalmente un importante criterio per la senescenza, il monitoraggio e il rilevamento dell'inquinamento atmosferico (Gaspar, 1986; Castillo, 1986). Ne consegue che "risposte di difesa" simili vengono indotte da varie forme di stress.

Le differenze d'espressione possono costituire una delle ragioni della resistenza delle piante allo stress ossidativo. Il nostro lavoro ha messo in luce che il funzionamento della difesa antiossidante è diverso nelle specie sensibili ed in quelle tolleranti.

Appare evidente che l'attività perossidasi delle varietà tolleranti non muta in modo significativo sotto l'azione contemporanea dello stress ossidativo e termico, mentre risulta notevole l'inibizione di questo sistema di protezione nelle varietà sensibili.

E' stato dimostrato che il trattamento con ioni calcio esercita un'influenza significativa sull'attività degli enzimi antiossidanti (Bakardjeva et al., 1992). Nei nostri esperimenti, in particolare, gli ioni calcio riducono in grande misura l'inibizione dell'attività perossidasi, aumentando quindi il ruolo protettivo svolto dall'enzima.

Sulla base di quanto innanzi esposto è possibile avanzare l'ipotesi secondo la quale gli ioni calcio sarebbero implicati nella trasduzione di stimoli esterni nelle piante in qualità di secondi messaggeri.

Bibliografia

Abha, U., Davis, T.D. Larsen, M.H., Walser, R.H., e N. Sankla (1990). Uniconazole-induced thermotolerance in soybean root tissue. *Physiologia Plantarum*, 79, 78-84.

Asada, K., (1992). Ascorbate Peroxidase - a hydrogen peroxyde-scavenging enzyme in plants. *Physiologia Plantarum*, 85, 235-241.

Austin, R.B., Ford, M.A., Miller, T.E., Morgan, C.L. e M.A.J. Parry (1987). Progress in Photosynthesis Research, Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, Netherlands, Vol. 4: 361-368.

Bakardjeva, N., Christov, K., Christova, N. e N. Jordanov (1992). Effects of calcium and zinc ions on the changes in activity of peroxydase, superoxyde dismutase and catalase influenced by high temperature and visible light. In: Bakardjeva N. (ed.) Selfregulation of Plant Metabolism. Sofia, Bulgaria. 146-150.

Castillo, F.J. (1986). Extracellular peroxydase as markers of stress? In: Molecular and Physiological Aspects of Plant Peroxidases. University of Geneva, Switzerland. 419-426.

Evans e Alldrige (1965). *Phytochemistry*. 4, 499.

Gaspar, T. (1986). Integrated relationships of biochemical and physiological peroxydase activities. In: Molecular and Physiological Aspects of Plant Peroxidases. University of Geneva, Switzerland. 457-467.

Herzog, H. (1986). Source and sink during the reproductive period in wheat. Parey Scientific Publisher, Berlin.

Ibro, V. (1991). Vleresimi i disa treguesve fiziologjike ne linjat e grurit te bute. *Buletini i Shkencave Bujqesore*, Tiranë 3, 9-14.

Lichtenthaler, H.K. (1986). Laser-induced chlorophyll fluorescence of living plants. In: Procee-

dings of the remote sensing Symposium Vol. III pp. 1571-1579. ESA, Publication Division, Noordwijk.

Long, S.P. e J.E. Hallgren (1985). Measurement of CO₂ assimilation by plants in the field and the laboratory. In: Coombs J. (ed.) *Techniques in Bio productivity and Photosynthesis*, Pergamon Press, Oxford, England, 62-94.

Zernova, O.V., Konyukhova, T.M. e V.I. Chikov (1996). Postphotosynthetic use of assimilates in different organs of wheat. *Plant Physiology and Biochemistry*, Special Issue, FESPP, 131.