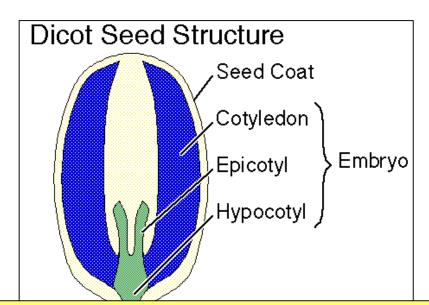
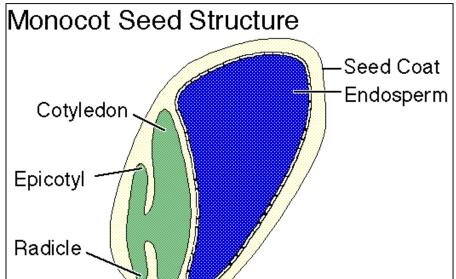
Il Seme e la germinazione

Perché l'importanza del seme?

- Il seme rappresenta la struttura fondamentale per la propagazione: I vegetali superiori si riproducono per seme
 - •contiene una pianta allo stadio embrionale, circondata da elementi morfologici adatti alla sua protezione
 - Attraverso il seme è possibile colonizzare nuove aree.
 - è una componente vitale dell'alimentazione mondiale: i semi di cereali sono il 90% di tutti i semi coltivati, contribuiscono più del 50% all'introduzione dell'energia globale





In qualsiasi tipico seme è possibile riconoscere tre regioni distinte:

- 1. Embrione Nell'embrione è già prefissata e riconoscibile la nuova pianta adulta
- gli abbozzi dell'apparato radicale e dell'apice vegetativo
 Le foglie embrionali, dette cotiledoni
 - 2. tessuti contenti sostanze di riserva (endosperma)
 - 3. tegumenti che hanno funzione protettiva

1. **Embrione**: deriva dalla divisione della cellula uovo fecondata (zigote).

Il processo di morfogenesi : zigote → individuo adulto subisce un arresto, appunto allo stadio di embrione.

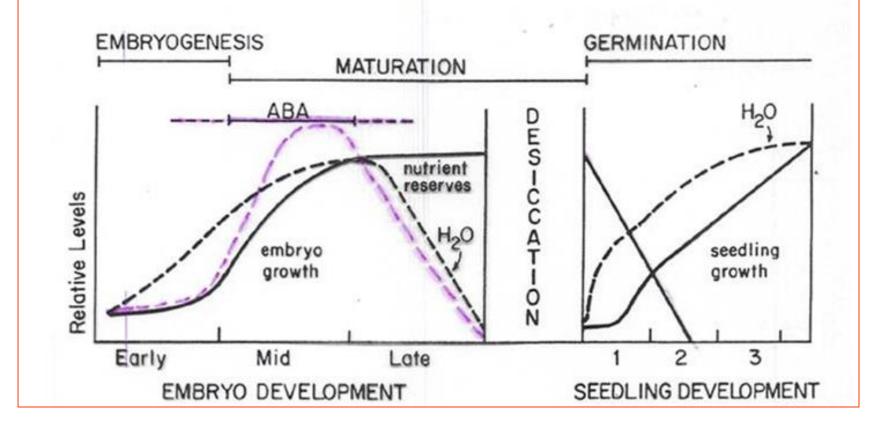
Lo sviluppo e la morfogenesi dell'embrione riprenderà dopo un intervallo di tempo variabile (mesi o anni)

2. <u>Tessuti contenenti sostanze di riserva:</u>

localizzate nei cotiledoni o nell'endosperma da utilizzare durante la germinazione e nello stadio di plantula

- Riserve amilacee (cereali come frumento e mais)
- Riserve lipidiche (semi oleaginosi come arachidi, girasole, ricino)
 - **Riserve proteiche** (semi di leguminose)

3. Tegumento/i delimitano il seme



Le fasi di sviluppo del seme sono tipicamente 3

1° fase: embriogenesi vera e propria:

- -divisione cellulare che si conclude con la formazione dell'embrione.
- -Aumento di H₂O.

2° fase: accumulo delle riserve,

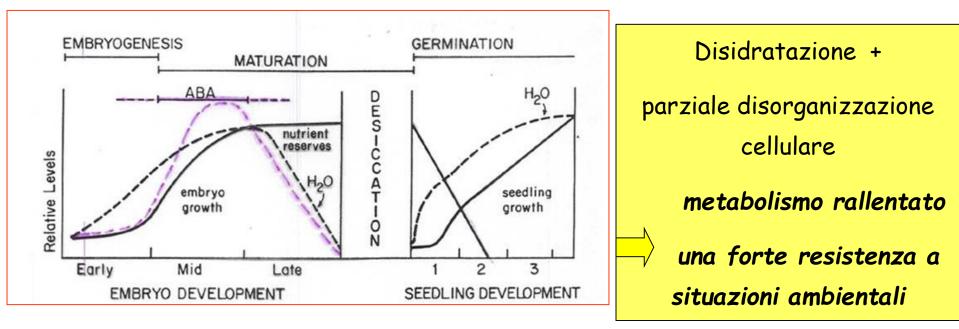
- -arresto divisione cellulare: aumento di volume delle cellule
- -accumulo sostanze di riserva, forte aumento di volume
- il contenuto di H₂O quasi costante.

3° fase : disidratazione

3° fase disidratazione: forte perdita di H₂O alla fine è il 10-15 % della sostanza fresca



Maggiore è la disidratazione e maggiore è la sua vitalità intesa come integrità della cellula e conservazione delle riserve.



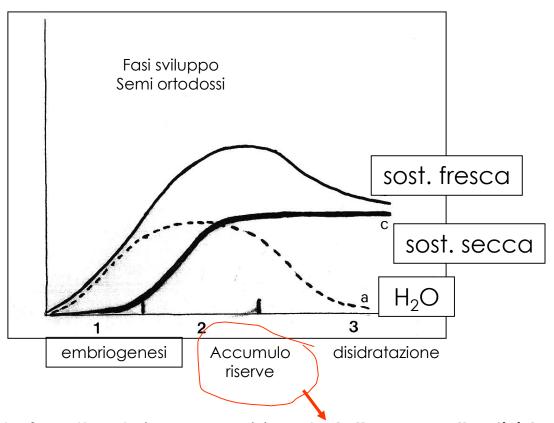
Dopo la disidratazione, l'inizio della germinazione è caratterizzato da un forte assorbimento di H₂O

A seguito della disidratazione



stato di vita rallentato

Semi ortodossi hanno tutte e tre le fasi



Durante tale fase l'embrione acquisisce la *tolleranza alla disidratazione* grazie alla produzione di specifici oligosaccaridi e proteine "LEA" (Late Abundant Embryogenesis") si pensa agiscano proteggendo le membrane cellulari

Semi recalcitranti

MANCANO della fase di disidratazione



I semi recalcitrati devono germinare quando cadono al suolo.

(semi di alberi di zone tropicali e sub-tropicali, e di zone temperate quali salici e aceri).

Limita la conservazione del germoplasma



vita più breve (da alcuni mesi a meno di un anno),

muoiono quando perdono un po' di H₂O o in presenza di basse temperature

La vitalità del seme dipende anche dalle condizione di conservazione del seme



Umidità, temperatura, illuminazione, O_2 , etilene

La rottura dell'integrità cellulare provoca danneggiamento dell'embrione, perdita di nutrienti che costituiscono substrati per patogeni

Lo sviluppo di un seme è sostenuto dall'espressione di gruppi di geni caratteristici di ognuna delle tre fasi: si esprimono solo in una di esse e restano silenti nelle altre e dalla presenza e attività di ormoni specifici:

- La *prima fase: embriogenesi* è controllata principalmente da *gibberelline* che sembrano controllare la sintesi ex novo delle amilasi e *citochinine* quelle delle proteasi
- nella seconda fase: accumulo di riserve è massima la quantità di ABA che regola la sintesi ed accumulo di alcune delle proteine di riserva e promuove la sintesi delle proteine coinvolte nella tolleranza alla disidratazione "Late Abundant Embryogenesis" "LEA" = proteine a basso peso molecolare, idrosolubili, basiche, ricche in glicina e lisina.

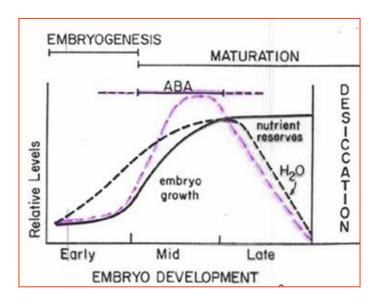
hanno la funzione di proteggere le membrane e le proteine dai danni di disidratazione:

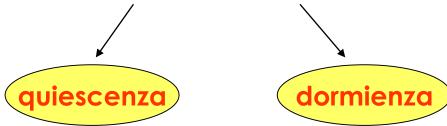
legando H_2O , impedendo la cristallizzazione dei componenti cellulari.

3° fase disidratazione

ABA declina la sua concentrazione

Un seme ortodosso, è un organismo in condizioni di vita "sospesa" o rallentata, capace di rimanere vitale, pur senza svilupparsi, fino a quando non si realizzano le condizioni "interne e/o esterne" favorevoli alla germinazione





LA QUIESCENZA è la condizione in cui un seme non germina perché non sono favorevoli le condizioni ambientali esterne : (disponibilità di H₂O, temperatura, ossigeno) per quella specie

Un seme quiescente ha raggiunto la propria maturità morfologica e fisiologica.



La germinazione avrà luogo appena il seme, disperso anche mesi prima dalla pianta madre, troverà nell'ambiente condizioni favorevoli, in particolare disponibilità di acqua e di ossigeno e temperature adatte per la sua attività metabolica



è la condizione in cui un seme non germina a causa di condizioni interne,

anche se le condizioni ambientali esterne sono favorevoli.

E' una caratteristica controllata geneticamente

I tipi di dormienza vengono distinti in 2 categorie dormienza tegumentaria: Il seme non germina ma lo fa l'embrione privato di tegumenti.

Causa della dormienza sono i tegumenti

- Prevenzione dell'assorbimento di H₂O Tegumenti impermeabili all'acqua: Cuticola cerosa, strati suberificati.
 (Tipica di semi di climi aridi e semiaridi, specie leguminose erbacee quali trifoglio-erba medica e piante arboree quale l'acacia)
- Interferenza con lo scambio gassoso Tegumenti meno permeabili all'O₂ ed alla CO₂ e di eventuali altri gas, ammoniaca, cianidrico rispetto all'H₂O
- Impedimenti meccanici Gusci rigidi e lignificati (noce) anche pareti rigide dell'endosperma che possono sopprimere l'espansione (lattuga). L'embrione non riesce a romperli per fuoriuscire
- <u>Ritenzione di inibitori osmotici e chimici</u> Tegumenti che impediscono la fuoriuscita di inibitori dal seme quali cianuro, ammoniaca, composti fenolici, lattoni saturi, alcaloidi
- <u>Produzione di inibitori</u> Presenza di inibitori ad alte concentrazioni capaci di sopprimere la germinazione dell'embrione (ABA)

•L'ABA mantiene gli embrioni nel loro stato embriogenico e previene la germinazione precoce.

<u>la sua carenza</u> stimola la *viviparia* :la capacità di un seme a germinare nei frutti idratati della pianta madre.

Dormienza è sotto il controllo ormonale

Mutante *vp1* con difetto nella risposta all'ABA

Viviparo



Presenza di inibitori chimici:

- ABA nei semi dormienti
- composti che vengono liberati dai semi: **composti del CN** (semi Rosacee), sostanze secrete che liberano NH₃.

Gli inibitori sono presenti anche in foglie, radici e quando vengono liberati durante la decomposizione, inibiscono la

germinazione di altre piante.

Allelopatia = composti prodotti da una pianta che danneggiano un'altra.

dormienza embrionaria (più rara) L'embrione anche se maturo fisiologicamente e privato dei tegumenti e dell'endosperma, non germina.

causa dell'inibizione:

Fattori ormonali soprattutto il rapporto ABA/GA: elevata concentrazione di ABA basse Gibberelline

riscontrabile in melo, nocciolo, frassino, faggio

In che modo vengono interrotte le varie forme di dormienza per consentire la germinazione?

In natura

Microrganismi, batteri, funghi

Succhi gastrici del tubo digerente di uccelli, o di altri animali

Abrasione dei tegumenti

Gelo-disgelo

Pioggia e fuoco

In agricoltura ed in laboratorio

Scuotimento

Scarificazione =Abrasione dei tegumenti esterni con mezzi meccanici o chimici

Stratificazione, Vernalizzazione

Lavaggi con H₂O, alcool, acidi

La <u>quiescenza</u> = capacità di restare vitale per lunghi periodi anche in presenza di condizioni avverse e di reagire prontamente alla presenza di condizioni favorevoli.

In <u>ambienti caratterizzati da stagionalità accentuata</u>, con forti e anche non prevedibili variazioni ambientali.

sono prevalenti i casi di dormienza.

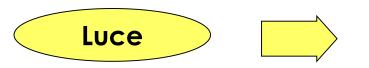
La dormienza è un mezzo estremamente efficace per assicurare la propagazione e la diffusione della specie

E' un tratto adattativo che ottimizza la distribuzione della germinazione in

una popolazione di semi

Eterogeneità della dormienza — dormienza secondaria potenzia la scalarità della germinazione

Dormienza e luce



Fattore ambientale per interrompere la dormienza



- Breve esposizioniLuce intermittenteFotoperiodo specifico

il ruolo della luce non è di tipo energetico ma di "messaggio":

sono sufficienti brevi periodi di illuminazione e bassa energia per favorire o inibire la germinazione.

3 categorie:

- •fotosensibilità positiva (semi fotodormienti o fotoblastici),
 - fotosensibilità negativa,
 - non fotosensibili.

Ai semi non fotosensibili appartengono molte specie coltivate, grazie alla selezione operata dall'uomo

una <u>dormienza imposta dai tegumenti</u>

Il FITOCROMO è il pigmento responsabile della risposta alla luce

Specie con grandi semi e con ampie riserve alimentari in grado di sostenere un prolungato accrescimento della pianticella di solito non necessitano della luce per germinare



fotosensibilità negativa.

Piccoli semi delle specie erbacee e graminacee rimangono dormienti, anche se idratati, quando sono sepolti al di sotto della profondità a cui penetra la luce (fotosensibilità positiva).

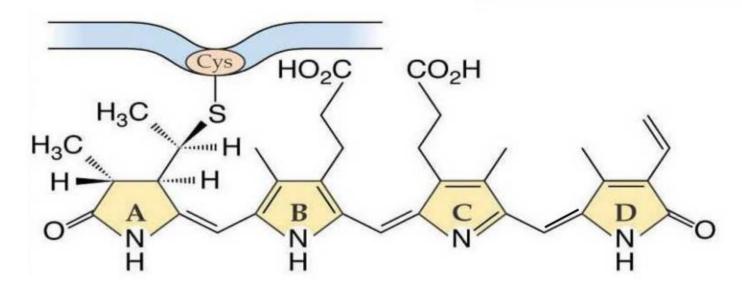
Struttura chimica del fitocromo

Il fitocromo è un pigmento proteico

proteina (apoproteina) con massa molecolare di circa 125 KDa + cromoforo (fitocromobilina) tetrapirrolo a catena aperta

Cromoforo del fitocromo

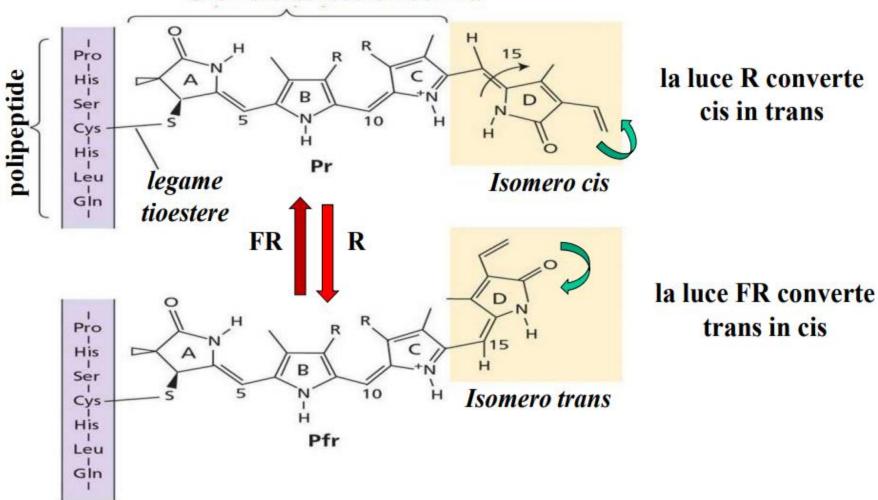
La molecola del fitocromo è un dimero



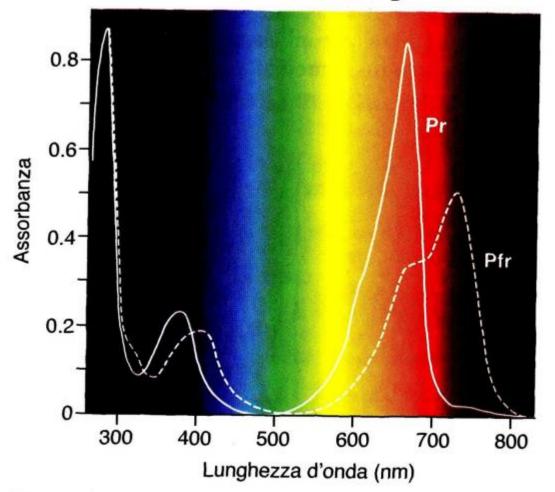
Assorbendo luce R o FR il cromoforo subisce una isomerizzazione cis-trans del doppio legame fra gli atomi di carbonio 15 e 16

induce un cambiamento nella conformazione della proteina

Cromoforo: fitocromobilina

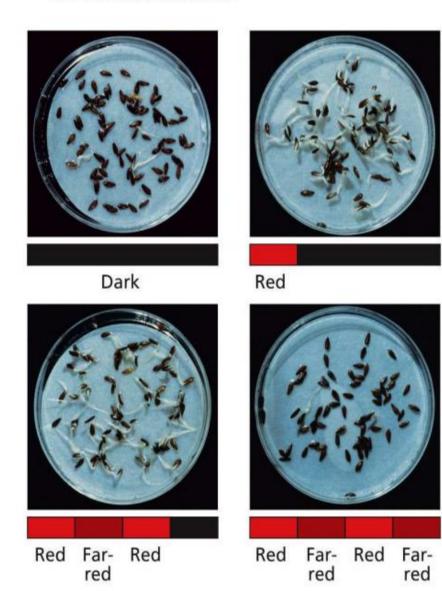


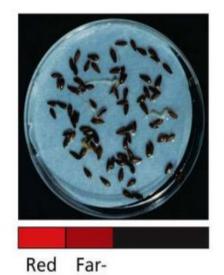
Il fitocromo è presente nelle piante in due forme Pr e Pfr caratterizzate da un diverso spettro di assorbimento



la forma Pr ha un A_{max} a 666 nm (luce rossa o R) la forma Pfr ha un A_{max} a 730 nm (luce rosso-lontano o FR)

Il Fitocromo





red

Red

Germinazione semi di lattuga

Gli effetti morfogenetici causati dalla luce rossa (650-680 nm) possono essere soppressi da un irraggiamento successivo con luce rosso-lontano (710-740 mm)



La forma sintetizzata dalle piante è
la Pr (di colore blu) si converte nella
forma Pfr quando è esposta alla luce rossa;
che a sua volta si converte nella forma Pr in
seguito all'esposizione a luce infrarossa

le due forme sono in equilibrio dinamico tra loro in base all'esposizione del momento.

Con luce rossa saturante

$$\frac{\text{Pr}}{15 \%} \longrightarrow \frac{\text{Pfr}}{85 \%}$$
 Forma attiva

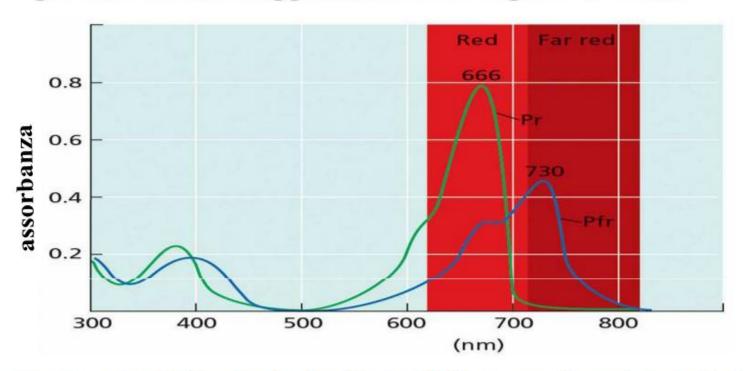
Stato fotostazionario =
$$\frac{Pfr}{Pr + Pfr} = 0.85$$

Con luce rosso-lontano saturante

Forma inattiva
$$\begin{array}{c} Pr \\ 97 \% \end{array} \longrightarrow \begin{array}{c} Pfr \\ 3 \% \end{array}$$

Stato fotostazionario =
$$\frac{Pfr}{Pr + Pfr} = 0.03$$

Lo spettro di assorbimento delle due forme di fitocromo presenta una sovrapposizione nella regione del rosso



Il rapporto quantitativo tra le due forme di fitocromo dipende quindi dallo spettro della radiazione

Stato fotostazionario del fitocromo

$$\frac{\text{Pfr}}{\text{Pr} + \text{Pfr}} =$$

Percentuale di fitocromo nella sua forma attiva

$$\frac{P_{fr}}{P_{fr} + P_r}$$

è importante per la risposta il rapporto "fotostazionario" cioè la % di P_{fr} sul totale. Questo rapporto:

- Dipende dallo spettro della radiazione
- è specie-specifico, per cui le risposte alla luce sono quantitativamente diverse

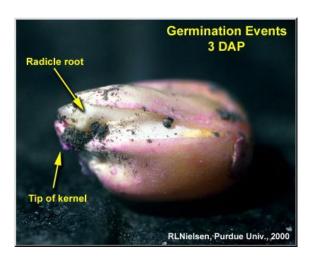
Ogni seme per germinare deve possedere una certa quantità di fitocromo nella forma $P_{\rm fr}$

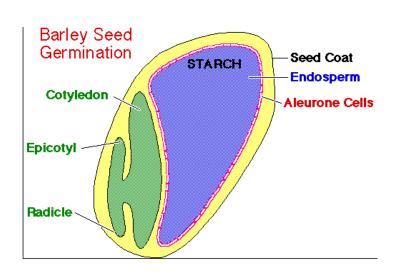
Il fitocromo è sicuramente presente solo nell'embrione ma responsabili della fotosensibilità sono i tegumenti

Dal seme maturoalla germinazione

Perché avvenga la germinazione:

- 1) l'embrione deve essere vitale
- 2) non ci devono essere barriere fisiologiche, fisiche chimiche
 - 3) condizioni ambientali favorevoli





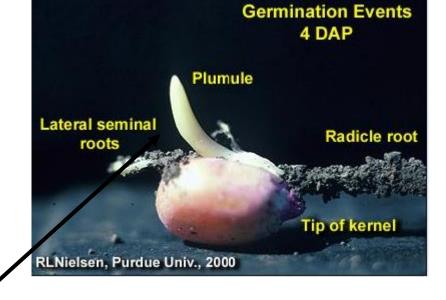
Quando comincia il processo di germinazione il seme è nello stato quiescente: gli eventi metabolici sono sospesi o estremamente lenti, un'elevata disidratazione (<10% di H_2O),

una parziale disorganizzazione cellulare,

La germinazione è quel
processo che
comincia con l'imbibizione del
seme
e termina con la
protrusione della radichetta

Il segno visibile che la germinazione è completa

Allungamento dell'asse embrionale attraverso i tegumenti





Germinazione visibile

Germinazione fisiologica



Processi biochimici, riattivazione metabolica, riorganizzazione cellulare

Germinazione agronomica



Protrusione della radichetta

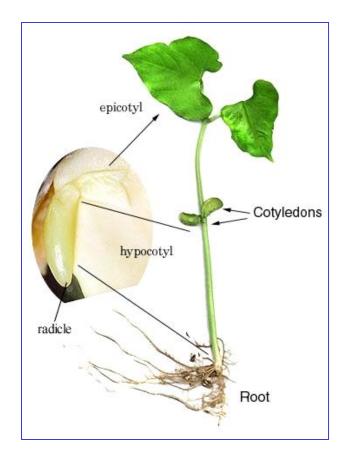
Gli eventi succesivi alla germinazione o eventi post-germinativi



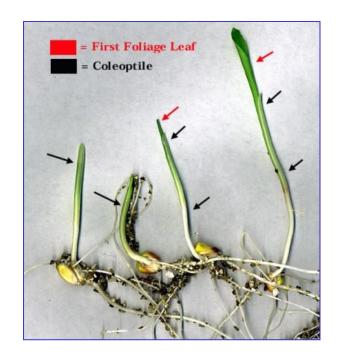
Idrolisi delle sostanze di riserva



Crescita della pianta



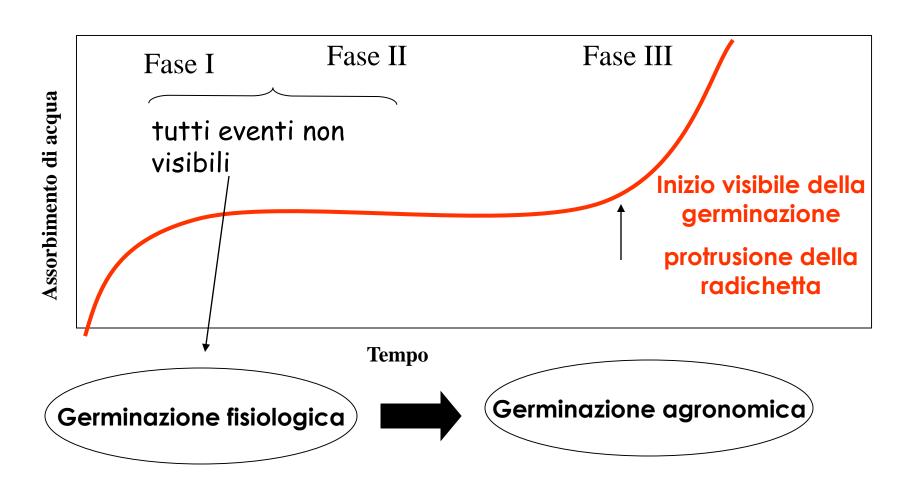
Fagiolo (Dicotiledone)



Frumento (Monocotiledone)

In relazione all'assorbimento dell'H₂O





Condizioni necessarie per il processo di germinazione

- ·Presenza di Acqua. Fondamentale perché abbia inizio la germinazione
- ·Presenza di Ossigeno. Il metabolismo può essere inizialmente anaerobio ma diviene aerobio appena il tegumento si rompe e $l'O_2$ può penetrare
- Temperatura. I semi non germinano al disotto di una certa temperatura che è specie-specifica:

Intervallo termico specifico ottimale (10-20°C per specie di climi temperati, 20-40 °C per specie di origine subtropicale e tropicale)



- Velocità di germinazione: il tempo impiegato dai semi a germinare
- •Capacità germinativa: la quantità di semi che riescono a germinare

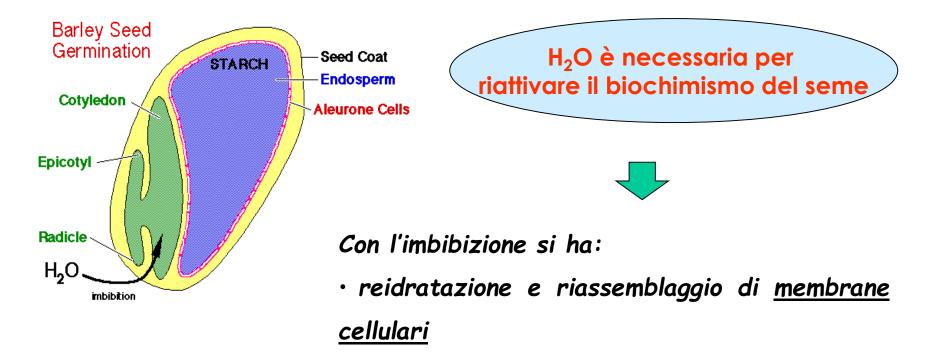
La temperatura influenza maggiormente la velocità di germinazione,

•Luce. E' necessaria per i semi piccoli che devono divenire presto autotrofi. In altre specie può svolgere un ruolo inibitorio

1° Presenza di Acqua.

enzimi

riserve.



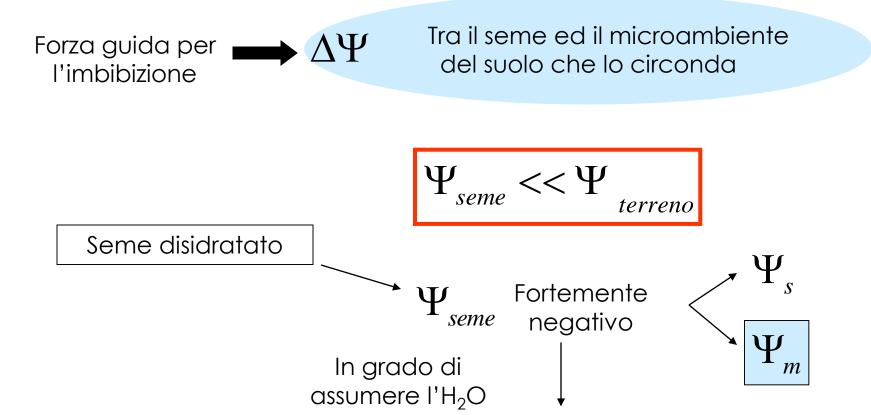
· reidratazione e attivazione di proteine ed

l'utilizzazione

necessari per



Seguita da fase più lenta di 5-10 ore



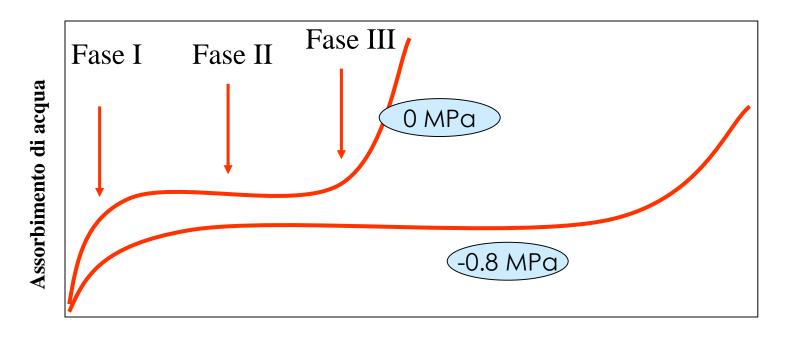
Anche fino a -10 MPa

Assorbimento di H₂O, germinazione ed iniziale crescita di differenti specie dopo 7 giorni in suoli con diverso contenuto idrico

Terreni meno idratati, con $\Psi_{terreno}$ negativo rallentano la velocità di assorbimento di H₂O e le % di germinazione sono minori

Species	Soil water content (%)	Germina- tion (%)	Water uptake (percent of initial weight)	Length of root (cm)	Length of shoot (cm)
Oryzopsis holciformis	7.6	0	28		
miglio	9.6	0	41	_	-
	11.2	52	99	3.0	-
	13.3	58	169	4.2	_
	14.9	62	250	5.2	6.3
Vicia dasycarpa	11.6	0	76		_
	12.5	23	102	3.8	1.7
	13.4	27	103	3.9	2.1
	15.5	90	199	4.2	3.6
Medicago hispida	8.1	4	65	_	_
	9.8	8	89	_	
	11.6	34	194	2.4	2.8
	13.6	86	637	2.5	4.3
Agropyron elongatum	9.5	16	39		_
	10.3	55	90	_	_
	10.7	87	181	5.0	3.2
	11.0	67	131	5.0	3.4
	11.3	90	168	4.8	3.8
	13.0	90	206	4.9	4.0
	13.1	97	224	4.8	4.8
	15.2	90	277	4.6	6.1
Triticum aestivum 💛	8.1	90	54	2.0	0
	9.8	93	91	4.6	0.5
frumento	11.6	93	145	6.0	2.3
	13.6	95	232	5.9	4.0

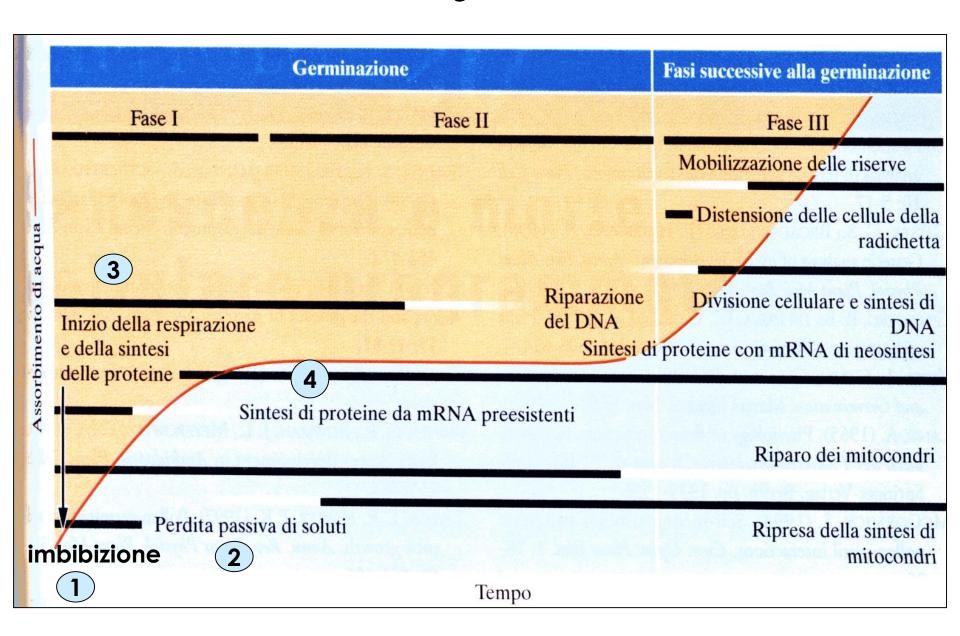
Assorbimento di H₂O in semi quiescenti di **Pinus brutia** incubati in H₂O **pura (0 MPa)** ed in soluzione con potenziale idrico debolmente negativo (-0.8 MPa)



Tempo (giorni)

Con H₂O pura (0 MPa) le fasi di germinazione sono più rapide in quanto l'assorbimento di H₂O è più facile

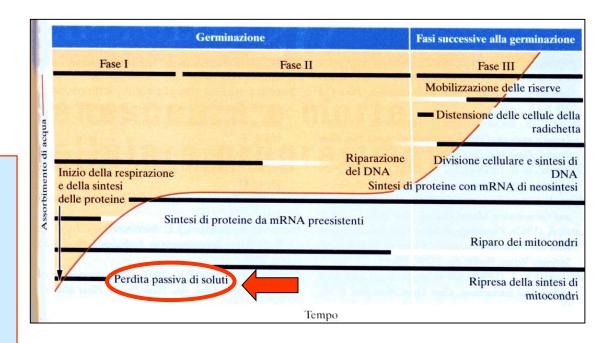
Fasi della germinazione



Con l'imbibizione del seme

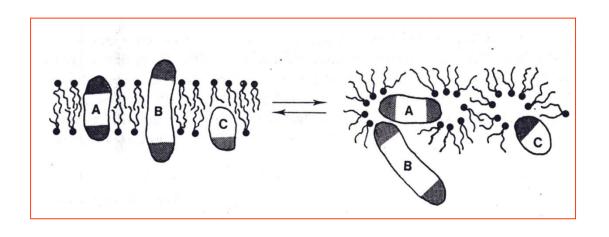


Perturbazioni strutturali
temporanee della
membrana che si
manifestano attraverso la
perdita passiva di soluti



Soluti e metaboliti a basso peso molecolare

Amminoacidi e proteine Acidi organici e zuccheri Ioni K⁺ Acido gibberellico Enzimi (G6PD, GDH, Fumarasi)



Orientamento dei fosfolipidi e delle proteine di membrana a seconda del grado di idratazione

Stato idratato

Idratazione < 20%

Da una fase di gel



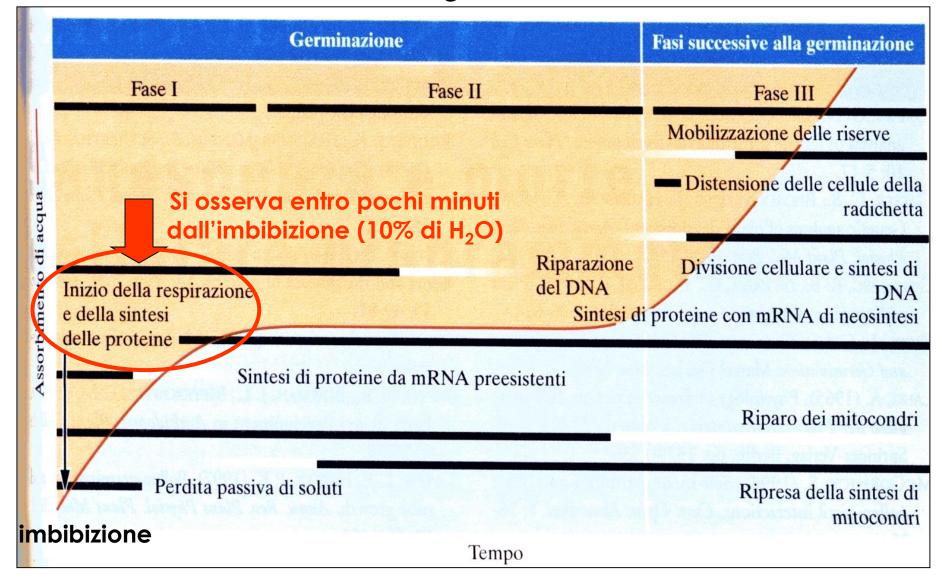
Ad una struttura cristallina, organizzata e stabile

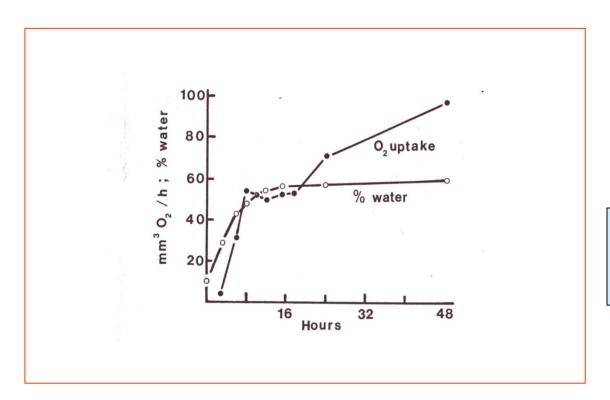
La perdita di soluti si riduce fino ad essere soppressa



Si riorganizza quindi una struttura compartimentalizzata

Fasi della germinazione





Andamento dell'attività respiratoria

E' possibile assistere in una fase iniziale ad un processo fermentativo

Nella 1°fase sono già presenti nel seme

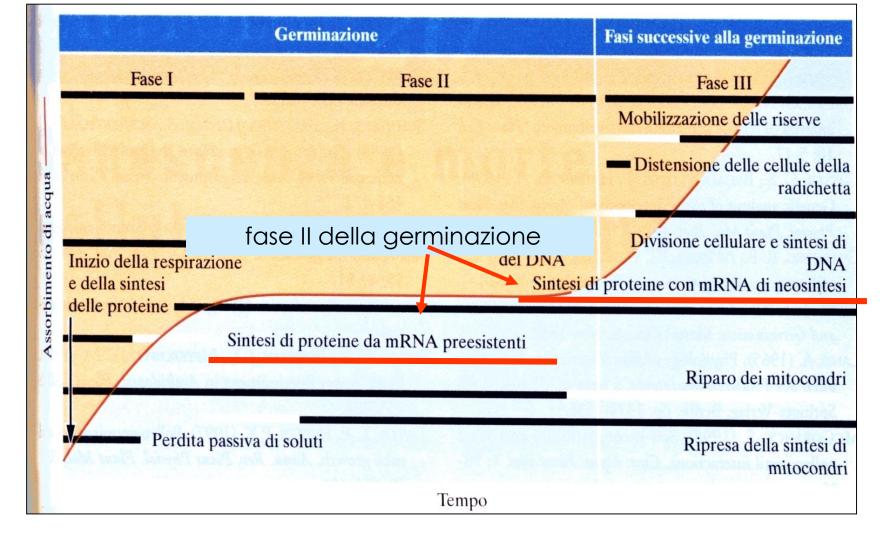


Zuccheri prontamente metabolizzabili

Enzimi ciclo glicolitico ——
ciclo Krebs

Energia

(ATP e NADH)



Processo di sintesi proteica è fondamentale per la germinazione e può manifestarsi già dall'inizio dell'imbibizione

Non sono stati individuati mRNA specifici ed esclusivi per la germinazione

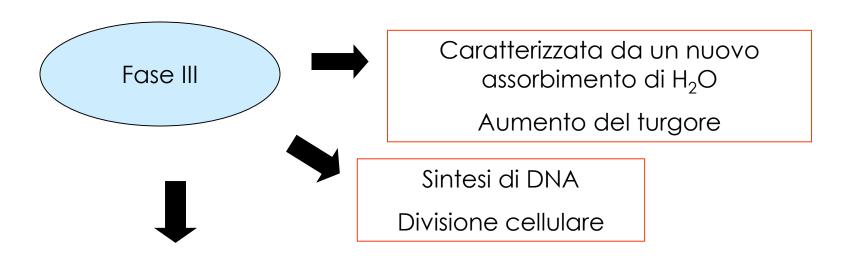


\mathbf{c}	l'asi successive alla germinazione	
Fase I	Fase II	Fase III
		Mobilizzazione delle riserve
		Distensione delle cellule delle radichette
Inizio della respirazione e della sintesi	Riparaz del DNA Sin	DNA
delle proteine Sintesi d	li proteine da mRNA preesistenti	and the sale of th
		Riparo dei mitocondi
Perdita passiva di s	soluti	Ripresa della sintesi d mitocondi
	Tempo	

Fase I e Fase II sono una condizione necessaria ma non sufficiente per la germinazione



I semi dormienti possono avere entrambe le fasi ma non germinare



Avviene l'estensione della radichetta :

termina la germinazione

inizio delle crescita della plantula

ORMONI

Etilene è prodotto nell'embrione

può stimolare la germinazione ed eliminare la dormienza in quanto inibisce la sintesi dell'ABA endogeno e la sua attività

Le giberelline

- codificano enzimi che riducono inizialmente la resistenza meccanica dei tegumenti
- hanno un effetto diretto sulla crescita potenziale dell'embrione

3 possibili ragioni per spiegare l'estensione della radichetta

1° ipotesi



più negativo per l'accumulo dei soluti derivati dall'idrolisi delle sostanze di riserva \longrightarrow assorbimento di H_2O

aumento del **potenziale di turgore** ———> cedevolezza pareti

Non sono mai state rilevate consistenti variazioni del

 Ψ_s

2° ipotesi

Produzione di enzimi che determinano l'allentamento della parete, oppure di **ESPANSINE**

Nessuna di queste proteine è stata osservata in semi germinanti e e le ESPANSINE sono indotte dall' ABA.



Sintesi delle prime 2: Cedevolezza delle pareti e sintesi di enzimi

L'estensione cellulare è un processo che necessita di

cedevolezza delle pareti delle cellule dell'asse

embrionale poste tra la cuffia e la base dell'epicotile ed

è guidato dal turgore Ψp

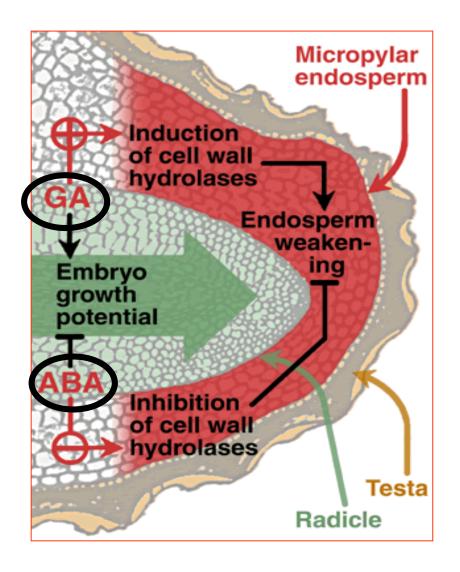
2

Induzione di idrolasi secrete

dall'endosperma che

determina una parziale

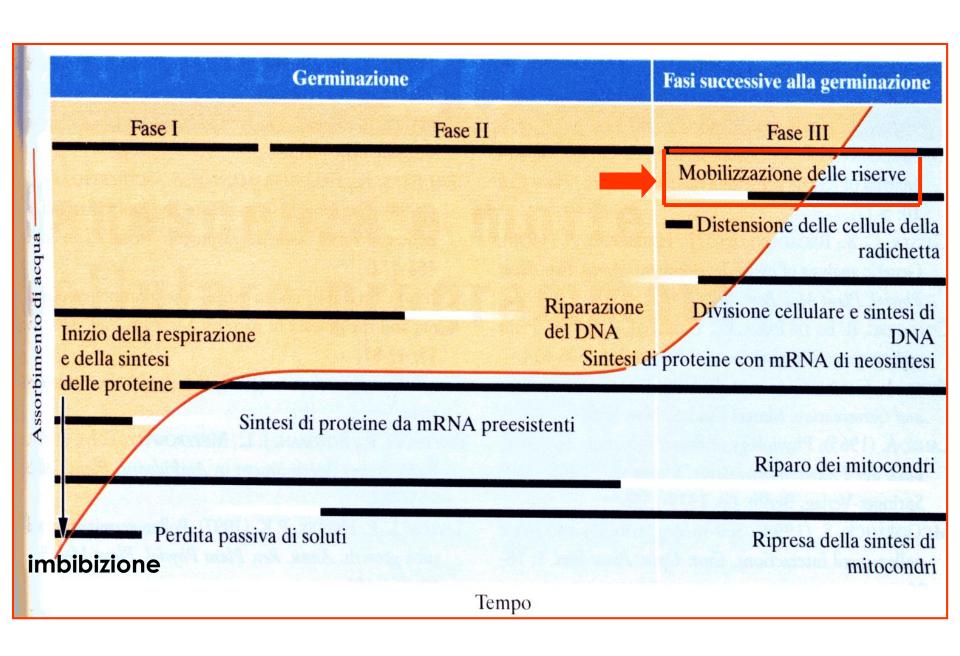
degradazione della parete



Questa 3° ipotesi trova sostegno con l'applicazione di ormoni che inibiscono (ABA) e inducono (GA) la germinazione

ABA inibisce
GA attiva
I'induzione di idrolasi

ABA previene l'estensione della parete cellulare radicale



La mobilizzazione delle riserve stoccate nel seme sono associate con la crescita della plantula

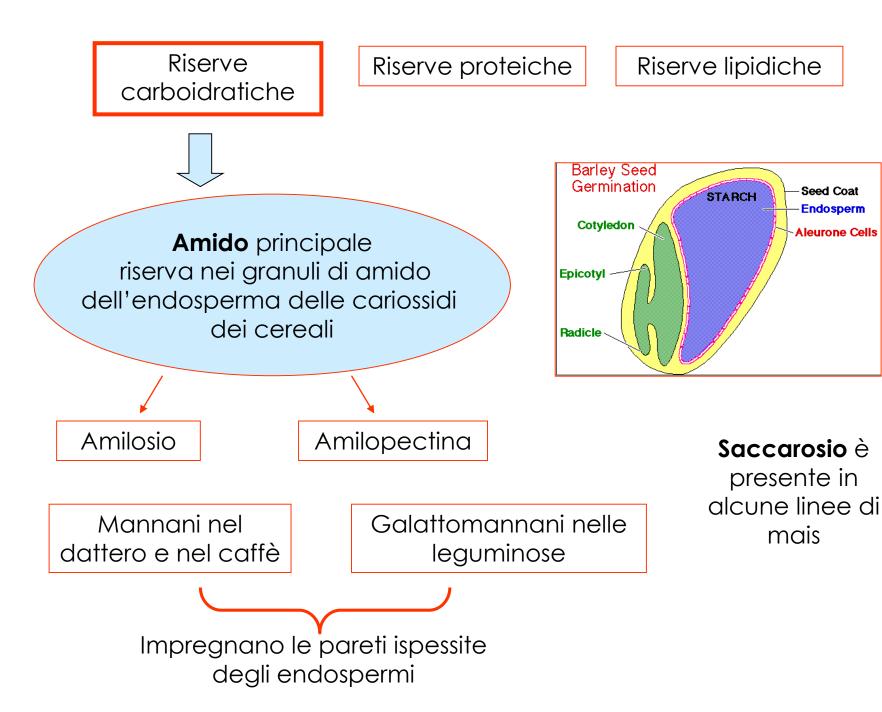
Stato di eterotrofia della plantula



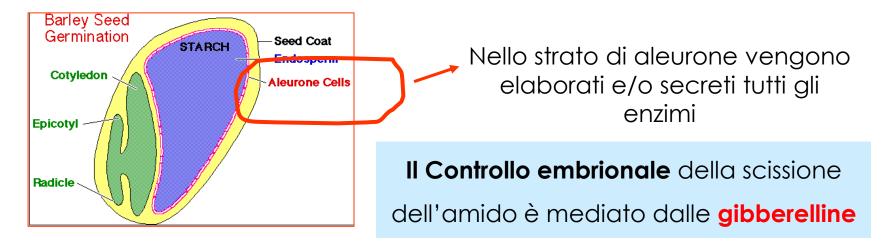
Stato di autonomia autotrofica della pianta

Table 19.2 Storage reserves of some important crop species

	Average percent composition			
	Protein	Oil	Carbohydrate	Major storage organ
Cereals				
Barley	12	3	76	Endosperm
Maize	10	5	80	Endosperm
Oats	13	8	66	Endosperm
Wheat	12	2	75	Endosperm
egumes				
Broad bean	23	1	56	Cotyledons
Garden pea	25	6	52	Cotyledons
Peanut	31	48	12	Cotyledons
Soybean	37	22	12	Cotyledons
Other				
Castor bean	18	64	Negligible	Endosperm
Oil palm	9	49	28	Endosperm
Pine	35	48	6	Megagametophyte
Rapeseed	21	48	19	Cotyledons

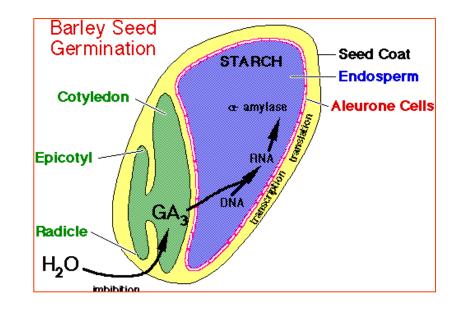


l'amido viene scisso, per via idrolitica e fosforolitica, dopo 24-72 h di imbibizione



a amilasi viene sintetizzata de novo e β-amilasi viene attivata

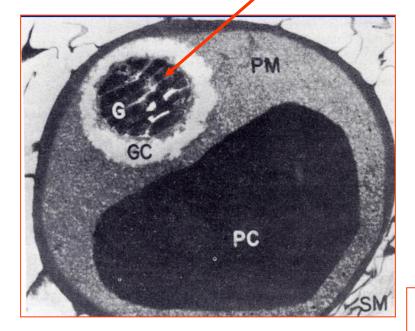
Nella cariosside di mais,
a differenza di grano e orzo
l'endosperma risponde alle auxine:
all'acido indolacetico (IAA)



cøn

Riserve lipidiche

Sferosomi, organelli sferici con singola membrana



I semi con riserve lipidiche

- sono mediamente più piccoli
- sono abbondanti (noce, mandorlo, olivo arachidi, soia ecc.)e costituiscono la base degli oli vegetali per scopi alimentari ed industriali
- hanno generalmente un elevato contenuto di proteine ma non di amido

Gli acidi grassi dei trigliceridi

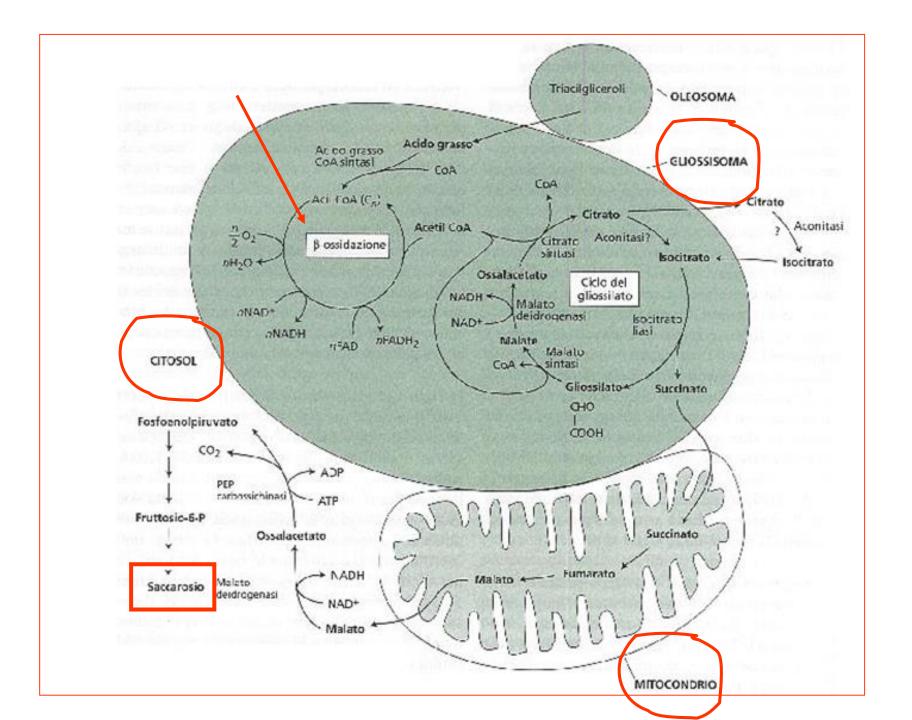
più noti sono l'acido palmitico (acido grasso saturo) l'oleico ed il linoleico (acidi grassi insaturi)

Ciclo gliossilato e gluconeogenesi

Riserve lipidiche



carboidrati



Riserve proteica

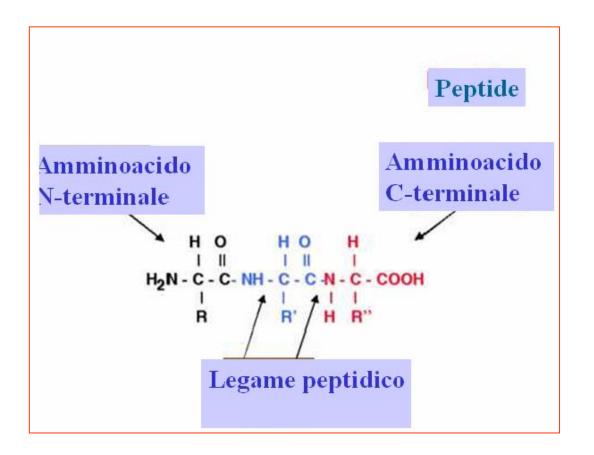
Sono suddivise in base allo loro solubilità:

- Albumine, solubili in H₂O a pH neutro o debolmente acido
 - 2. Globuline, solubili in soluzioni saline
 - **3. Prolammine**, solubili in etanolo
- 4. Gluteline, solubili in alcali o acidi forti



Le riserve proteiche sono contenute nei **corpi proteici**, organelli delimitati da singola membrana.

Endopeptidasi: idrolizzano i legami peptidici interni ed originano oligopeptidi



Carbossipeptidasi: attaccano il legame peptidico dalla parte del carbossile terminale

Amminopeptidasi: attaccano il legame peptidico dalla parte dell' ammina terminale

Originano amminoacidi liberi

