

CONSIGLIO NAZIONALE DELLE RICERCHE

Istituto di Radiobiochimica ed Ecofisiologia Vegetali (IREV)

Area della Ricerca di Roma

Via Salaria Km 29,300 - 00016 Monterotondo Sc. (Roma)

Incontro su: "STRESS AMBIENTALI NEI VEGETALI"

Roma 27-28 Novembre 1990

data 28.11.1990

Prof. Scalet Mario
Istituto di Produzione Vegetale
Univ. di Udine
P.le Kolbe 4, 33100 - Udine

Egregio Professore,

Le comunico che il lavoro:

"SCAMBI GASSOSI IN FOGLIE DI PIANTE DI PEPERONE ALLEVATE IN IDROCOLTURA SALINIZZATA",

presentato a nome di Martin M., Scalet M., Miceli F., Zerbi G.,

è stato accettato per la pubblicazione sugli ATTI dell'Incontro.

Distinti saluti.

A. Massacci



(Segret. Organizzativa)



SCAMBI GASSOSI IN FOGLIE DI PIANTE DI PEPERONE ALLEVATE IN IDROCOLTURA SALINIZZATA.

Martin M., Scalet M., Miceli F. e Zerbi G.
Istituto di Produzione Vegetale - Univ. di Udine
P. le Kolbe 4, 33100 - Udine

SOMMARIO. Piante di peperone sono state allevate in idrocoltura aerea, con tre livelli di salinità (0, 0.03, 0.06 molale NaCl). Le misure di scambio gassoso a concentrazione atmosferica di CO₂ e le curve assimilazione/concentrazione intercellulare di CO₂ (CER/Ci) mostrano un effetto inibente del NaCl sull'assimilazione della CO₂, sulla traspirazione e sulla conduttanza stomatica. La salinità ha causato un parziale incremento di clorofilla, una netta diminuzione della RuBisco, mentre il tenore in proteina solubile è rimasto pressoché stabile. Dai dati ottenuti, è ipotizzabile che la riduzione in CER ed in accrescimento osservate in presenza di NaCl siano legate alla diminuzione del livello di RuBisco.

INTRODUZIONE. La salinità influisce sull'accrescimento e sulla produttività delle specie vegetali coltivate (Greenway e Munns, 1980). Prime indagini sullo stato idrico fogliare di una specie (Capsicum annuum L.) sensibile a concentrazioni modeste di NaCl (Martin et al., 1990) avevano mostrato che le sole modificazioni dello stato idrico fogliare indotte dal trattamento salino non spiegavano le notevoli riduzioni nell'accrescimento riscontrate. Questa seconda parte dell'esperimento riporta misure di scambio gassoso ed analisi biochimiche del tessuto fogliare, per approfondire l'indagine degli effetti della salinità sull'assimilazione della CO₂ in una specie non alofita.

MATERIALI E METODI. Piante di peperone sono state allevate in idrocoltura aerea (soluzione nutritiva di Hoagland n.1), con tre livelli di salinità: i) controllo non salinizzato, ii) soluzione nutritiva addizionata di NaCl 0.03 molale, iii) soluzione addizionata di NaCl 0.06 molale. All'inizio della fioritura sono stati eseguiti rilievi sugli scambi gassosi fogliari mediante un sistema da laboratorio a circuito aperto. Le determinazioni sono state eseguite a concentrazione atmosferica di CO₂ e con concentrazioni crescenti (da 70 a 600 $\mu\text{l l}^{-1}$) per la costruzione di curve assimilazione/concentrazione intercellulare di CO₂ (CER/Ci). Le condizioni delle foglie durante i rilievi erano: temperatura della foglia 25 C; temperatura del punto di rugiada nella camera di assimilazione 10 C; PPF 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Sono state anche costruite curve di risposta di CER a livelli di radiazione crescenti. Foglie simili per età e posizione, prelevate e conservate a -40 C, sono state omogenate in 5 volumi di tampone fosfato (50 mM, pH 6.5, con 5mM mercaptoetanolo e 0.5 % Polyclar AT). L'estratto è stato

filtrato e centrifugato. Sull'estratto filtrato e' stata determinata la clorofilla secondo Arnon; sul surnatante sono state determinate le proteine solubili secondo Bradford (1976). La determinazione della RuBisco e' stata ottenuta previa denaturazione e separazione elettroforetica del centrifugato in presenza di SDS secondo Laemmli (1970). La quantificazione delle sub-unita'di RuBisco e' stata eseguita mediante una curva di taratura ottenuta dall'analisi elettroforetica di quantita' note di RuBisco pura di spinacio. Su altre foglie sono stati determinati Na e Cl mediante assorbimento atomico.

RISULTATI E DISCUSSIONE. Per concentrazioni ambientali di CO₂ (tab. 1) i valori di CER nelle piante salinizzate hanno subito una decisa diminuzione (circa il 73 % per la (ii) e 30 % per la (iii) rispetto al controllo.

Tab. 1. Caratteristiche degli scambi gassosi in piante di peperone a diversi livelli di salinita'. T = traspirazione (mmol m⁻² s⁻¹); CER = assimilazione netta (μmol m⁻² s⁻¹); g = conduttanza stomatica (mmol m⁻² s⁻¹); Ci/Ca = rapporto tra la concentrazione interna ed esterna di CO₂; WUE = efficienza dell'utilizzazione idrica (μmol/mmol).

	T	CER	g	Ci/Ca	WUE
Controllo	6.63	13.8	271	0.66	2.08
0.03 NaCl	3.86	10.1	110	0.72	2.61
0.06 NaCl	1.60	4.2	38	0.83	2.62

Anche la traspirazione (T) e la conduttanza stomatica (g) sono diminuite drasticamente, mentre il gradiente tra concentrazione esterna (Ca) ed interna (Ci) di CO₂ tende a diminuire con l'aumento della salinita'. L'efficienza di utilizzazione idrica (WUE) delle piante salinizzate e' risultata piu' elevata.

La parte lineare iniziale delle curve A/Ci (Fig. 1) ha fatto rilevare pendenze decrescenti con l'aumentare della concentrazione salina; solo il controllo mostra incrementi di CER per valori di Ci superiori a 200 μl l⁻¹. Il valore di saturazione di CER all'aumento del livello di radiazione fotosinteticamente attiva (PPFD) non e' stato influenzato dai trattamenti salini ed ha assunto valori di circa 900 μmol m⁻² s⁻¹.

I dati analitici sulle foglie sono riportati in tab. 2: la concentrazione in clorofilla e' aumentata con la salinita' sia per unita' di peso fresco che di superficie fogliare. Il contenuto in proteine solubili non sembra influenzato dai trattamenti salini, mentre la concentrazione di RuBisco e' diminuita notevolmente con l'incremento della salinita'.

Tab. 2. Contenuto in clorofilla ('a', 'b' e totale), in proteine solubili ed in RuBisco dei tessuti fogliari di peperone allevato a diversi livelli di salinita'.

	Chl(a)	Chl(b)	Chl(t)	P.S.	RuBisco
	----- mg g-1 p.fresco -----				
Controllo	1.75	0.66	2.41	5.00	1.20
0.03 NaCl	1.77	0.73	2.50	5.64	0.90
0.06 NaCl	2.45	0.96	3.41	5.00	0.66

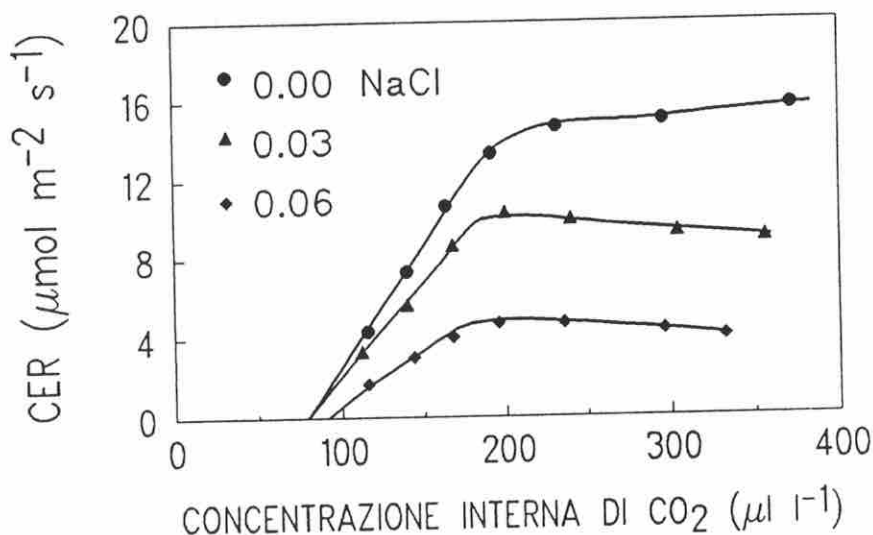


Fig. 1. Relazione tra assimilazione netta (CER) e concentrazione intercellulare di CO₂ in piante di peperone allevate in condizioni di salinita'.

La tab. 3 riporta, infine, i contenuti in Cl⁻ e Na⁺ dei tessuti fogliari: si rileva un loro incremento esponenziale all'aumentare del livello di salinita'. L'incremento della salinita' ha provocato un ridotto accumulo di sostanza secca (Martin et al., 1990), del 42 % nelle piante trattate con il livello minore di NaCl e del 48 % in quelle trattate con il livello maggiore; a tale riduzione non e' associata una riduzione delle pressione di turgore, che e' invece aumentata con il livello di salinita'. L'accumulo di osmotici minerali nei tessuti con conseguente riduzione del potenziale osmotico e la netta riduzione della conduttanza stomatica contribuiscono a spiegare quanto osservato. Sono da ritenere probabili anche modificazioni morfologiche ed anatomiche dei tessuti fogliari: a seguito del trattamento con NaCl e' stato osservato l'incremento del peso unitario della superficie fogliare ed il decremento del rapporto tra peso turgido e peso secco. Ambedue questi caratteri sono legati ad un

accumulo di soluti e ad un maggiore spessore delle foglie (succulenza) osservati anche in altre specie; l'incremento in clorofilla non e' in genere riscontrato.

Tab.3. Contenuto in Cloro e Sodio di foglie di peperone.

	Na ⁺	Cl ⁻
	%	
Controllo	0.01	0.02
0.03 NaCl	0.22	0.23
0.06 NaCl	0.93	0.68

Secondo il noto modello di Von Caemmerer e Farquhar (1981), la relazione CER/Ci puo' fornire informazioni sull'importanza della limitazione stomatica sull'assimilazione e sulle possibili cause della riduzione non stomatica. La diminuzione della pendenza della parte iniziale della curva associata all'incremento di NaCl puo' essere attribuita ad una minore quantita' di RuBisco o ad una sua ridotta attivita'. La prima ipotesi sembra avvalorata dalla netta riduzione del livello di Rubisco osservata nelle foglie di peperone. Il tenore in proteina solubile non ha subito sostanziali variazioni: molte ricerche hanno evidenziato incrementi di proteine ed aminoacidi in conseguenza di stress salini e tali effetti possono aver compensato la riduzione in RuBisco. Concludendo, l'effetto della salinita' su questa specie appare particolarmente legato agli aspetti enzimatici e metabolici dell'assimilazione.

BIBLIOGRAFIA

Bradford M M (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72: 248-254

Greenway H and Munns R (1980) Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes, Ann. Rev. Plant Phys. 31:149-190.

Martin M, Miceli F e Zerbi G. Stato idrico fogliare in piante di peperone allevate in idrocoltura salinizzata. Incontro su "Stress ambientali nei vegetali", CNR (Roma) 27-28 novembre 1990.

Laemmli M K (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227:680-685.

Von Caemmerer S and Farquhar GD (1981) Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves, Planta 153: 376-387.

LEAF GAS EXCHANGE IN PEPPER PLANTS GROWN IN SALINIZED
HYDROPONIC CULTURE

Martin M., Scalet M., Miceli F., and Zerbi G.

Istituto Produzione Vegetale, Università di Udine
I-33100 Udine, Italy

Pepper plants (*Capsicum annuum* L., cv. Quadrato d'Asti) were hydroponically grown in a controlled chamber adding to the nutrient solution NaCl at different concentrations (0, 0.03, and 0.06 molal).

The gas exchange of salt-stressed plants, measured with atmospheric concentration of CO₂, and CER/C_i curves (CO₂ exchange rate vs internal CO₂ concentration) showed an inhibitory effect by NaCl on the CO₂ assimilation, the transpiration and the stomatal conductance of leaves.

The salinity caused a slight increase of total chlorophyll, a high decrease of Rubisco, while the soluble protein content did not change. We conclude that the observed CER and plant growth reduction in presence of NaCl may be related to a lower amount of Rubisco level in the leaf tissues.