

STRUTTURA DI SOSTEGNO

Le piante sono organismi fissi che per il loro sostentamento si affidano all'intercettazione della radiazione luminosa. Nel tempo hanno evoluto numerose architetture per assolvere a questo compito e hanno sviluppato un sistema di controllo continuo dei carichi meccanici a cui è sottoposta la struttura. Spesso nel descrivere la struttura arborea non si tiene conto di due aspetti fondamentali:
-le piante sono dotate di motori che consentono auto-stress e movimenti attivi (raddrizzamento)
-la crescita della pianta è regolata dai carichi meccanici a cui è sottoposta

Come spesso succede per studiare un sistema vegetale si parte da analogie con un sistema animale:

- CONSIDERAZIONI SUL CONTROLLO DELLA POSTURA NEGLI ANIMALI SUPERIORI:
- L'endoscheletro articolato permette il movimento ma non è autoportante
 - Il movimento è dato dalla duplice azione di scheletro e muscolo antagonista

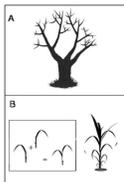
MA scheletro + muscoli non sono sufficienti per il controllo posturale

è necessario un sistema meccanopercezione implicato in un controllo coordinato del grado di autostress di tutti i muscoli nelle diverse articolazioni definito "equilibrium process of postural control"
[Gribenski 1995]

STRUTTURA SCHELETRICA NELLE PIANTE:
«Un sistema diffuso che non può essere visto a livello discreto»

- Diversi tessuti di sostegno
- Idrostatici → la resistenza a flessione e a torsione è data dalla pressurizzazione di turgore
 - Sclerificati → Formate dalle fibre di cellule morte con parete rigida

- diversi Disegni Strutturali
- Continuo: puro scheletro idrostatico o puro sclerificato
 - Articolato: misto tra idrostatico e sclerificato



La CRESCITA INDETERMINATA induce

- Aumento di lunghezza e massa che induce aumento di peso e braccio flettente
- Il carico non simmetrico sui 360° produce un ulteriore momento flettente

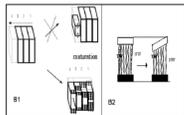


le piante si adattano ai carichi con dei movimenti attivi, per cui è necessario un MOTORE che fornisca il lavoro per i movimenti di riconfigurazione e di esplorazione

MOTORE IDRAULICO: trasforma il gradiente di potenziale osmotico in lavoro



CRESCITA CAMBIALE DIFFERENZIATA: restringimenti o rigonfiamenti cumulativi in fase finale di differenziazione



Gli alberi producono settori di legno di specializzato chiamato **legno di reazione**

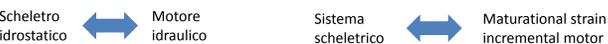


È stato dimostrato come gli stimoli meccanici aumentano la produzione di xilema lungo il piano di ondeggiamento in specie legnose, questo permette l'aumento dell'area della sezione dell'organo nella direzione di applicazione del carico meccanico. Le nuove cellule xilematiche prodotte lungo il piano di flessione sono caratterizzate da pareti cellulari più spesse, più corte lungo l'asse e con un angolo delle microfibrille di cellulosa più ampio.

[Teleski 2016]

Le piante hanno un motore diffuso definito due-in-uno, due dirette conseguenze sono:

L'apparato motorio non è separato dallo scheletro



Il controllo dell'asimmetria della cross-section fornisce un meccanismo attivo di flessione localizzato

[Moulla et al. 2006, Coutand 2010]

Il controllo della postura negli alberi passa attraverso una continua ri-orientazione gravitropica e «compensativa» della distribuzione dei carichi per mantenere o recuperare la postura eretta. In analogia con gli animali per mantenere una postura eretta non è sufficiente l'unione tra il sistema scheletrico e il sistema motorio. È necessario un sistema di controllo continuo che coinvolga meccanopercezione e gravipercezione, due meccanismi strettamente legati tra di loro.

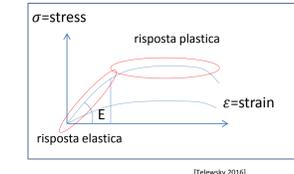
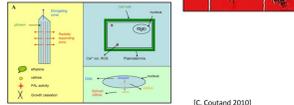
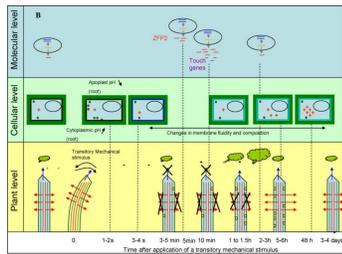
MECCANOPERCEZIONE

Gli studi condotti su questo argomento sono essenzialmente basati su stimoli meccanici artificiali o sullo studio delle radici nel momento in cui incontrano un ostacolo.

Risposte indotte da carichi esterni a livello dell'intera pianta:

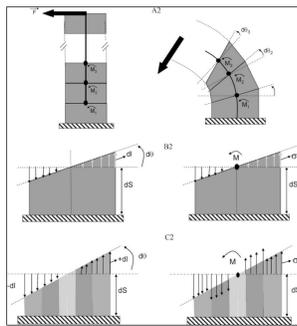
- A lungo termine:
- riduzione dell'altezza e aumento in diametro
 - diversa distribuzione dei fotosintetati con una maggiore allocazione nelle radici

A breve termine: dopo minimo 5 minuti si ha un arresto della crescita. Quale può essere il processo responsabile del repentino arresto di crescita?



$$\sigma = E(\text{modulo elastico}) \cdot \epsilon$$

Gli stimoli meccanici inducono un'alterazione nelle caratteristiche meccaniche del legno, con una diminuzione di E che si traduce con un aumento della flessibilità e della capacità di assorbire energia meccanica. La rigidità del sistema è data da E^* (secondo momento di inerzia), che per una sezione circolare è $I = \frac{\pi r^4}{4}$. Una delle principali risposte a lungo termine è un aumento in diametro (nella formula il raggio è elevato alla quarta), che si traduce quindi con un grande aumento della rigidità.



In un materiale omogeneo sottoposto a pura flessione il momento varia con la distanza dal centro e i valori più alti di stress e strain sono alla periferia della sezione (stress e strain sono proporzionali). Il legno è un materiale anisotropico che presenta grandi eterogeneità e gradienti spaziali di proprietà meccaniche (tra cui E). In questo caso **stress e strain non sono proporzionali**

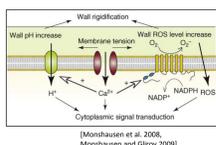
Per cui, quale variabile viene percepita dalla pianta, stress o strain?

Sperimentalmente i migliori risultati si hanno con il modello «SUM OF STRAIN»:
-Tutti i tessuti sono meccanorecettivi e la funzione percettiva è a livello cellulare. Ogni zona di fusto genera un segnale proporzionale alla deformazione (strain)

Trovate correlazioni lineari tra:
-sum-of-strain e aumento di crescita diametrica
-sum-of-strain e livello espressione gene PtaZFP2

IDENTIFICATA LA VARIABILE PERCEPITA MA NON IL RECETTORE

A livello cellulare la principale risposta:
-aumento di $[Ca^{2+}]$ citosolico
-influxo di H^+
-produzione di ROS.



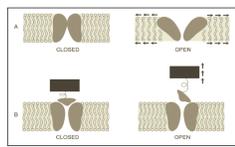
Analizzando la cinematica di questi eventi si vede come il primo evento è l'innalzamento della $[Ca^{2+}]$ citosolico, seguito poi da produzione di ROS e influxo di protoni

più candidati sono stati proposti:

1:Stretch-activated ion channels

I canali ionici sono proteine trans-membrana che permettono movimento ioni da un lato all'altro di membrana. Due modelli sono stati proposti:

-intrinsic model: forza meccanica trasmessa direttamente al canale da tensione su membrana(A)

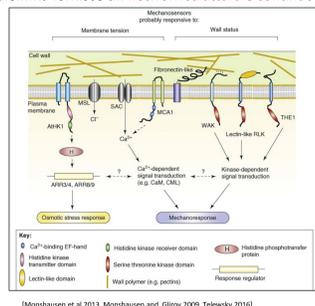


-trapdoor model: forze meccaniche trasmesse al canale attraverso legami con altre strutture cellulari come la parete e il citoscheletro(B)

2:Cell wall receptor like-kinases

La parete cellulare non è solo un target di molti segnali ma è anche una vitale fonte di informazioni. L'accoppiamento fisico tra il citoscheletro e il plasmalemma fornisce un **network strutturale continuo** attraverso la cellula. (Teoria della focal adhesion)

Sempre più argomenti a supporto del fatto che alcuni recettori chinasi possono **trasmettere informazioni sulla deformazione della parete** all'interno della cellula attraverso fosforilazione di diverse proteine target (spesso induttori trascrizionali di geni legati alla thigmomorfogenesi)



1. CrRLK1L
2. WAKs
3. S-domani
4. Lectin-like RLK

[Monshausen et al. 2013, Monshausen and Gilroy 2009, Teleski 2016]

TRASDUZIONE DEL SEGNALE:

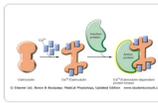
Punto chiave in cui E meccanica, che agisce da segnale, viene rapidamente tramutata in un altro segnale

Ci sono ormai molte evidenze che la prima risposta a livello cellulare è l'aumento della $[Ca^{2+}]$ citosolica. I rapidi movimenti di ioni, come il movimento di Ca^{2+} (calcio come secondo messaggero ubiquitario nella pianta), sono associati non solo alla Meccanopercezione ma anche alla trasduzione di moltissimi segnali, come quelli indotti da stress biotici e abiotici.

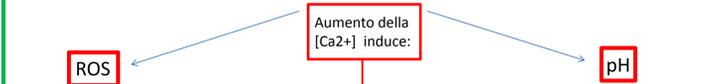
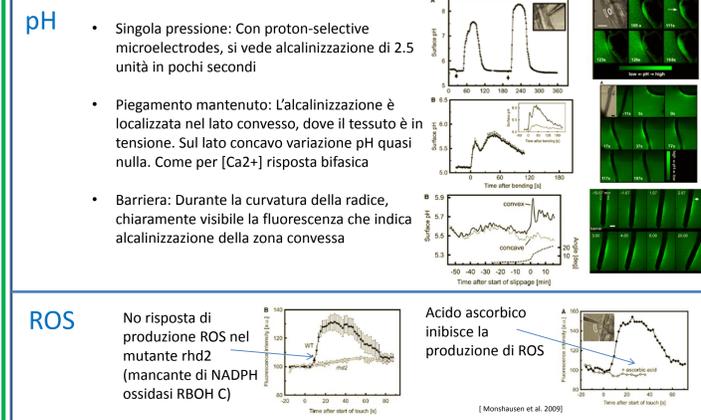
• **Ca²⁺ signature**: la variazione nel livello di calcio deve codificare le informazioni che vengono poi decifrate dalla pianta per iniziare una risposta stimolo-specifica. Le differenze tra le variazioni della $[Ca^{2+}]$ indotte da stimoli meccanici diversi, non sono solo **quantitative** ma anche **qualitative**. Monshausen et al. 2009 Hanno dimostrato come in radici di Arabidopsis thaliana diversi stimoli meccanici inducono innalzamento di $[Ca^{2+}]$, con un ritorno ai livelli basali con **cinetiche diverse**



Gli ioni Ca^{2+} , una volta diffuso nel citoplasma, si lega alla calmodulina inducendo modificazioni nell'espressione genica. Normalmente è accettato lo schema in cui le risposte di crescita sono sotto il controllo dell'espressione di geni con produzione di nuove proteine. È incompatibile, però, che una risposta così lenta sia responsabile dell'arresto di crescita dopo stimolo meccanico.



POSSIBILITA' DI UN CONTROLLO FISIOLICO
Nelle cellule sottoposte a perturbazioni meccaniche si registra un'**alcalinizzazione dell'apoplasto** e una **acidificazione del citoplasma**(ingresso di grande quantità di H^+), in parallelo alla **produzione di ROS**(reactive oxygen species) con cinetiche simili ai movimenti del Ca^{2+}

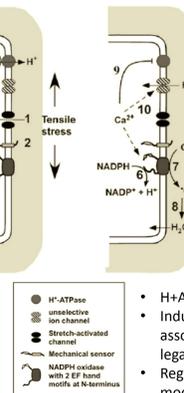


Dimostrata la produzione di ROS indotta dai cambiamenti della $[Ca^{2+}]$, effetto primario di SM, dopo 4-10 min.

La produzione è dovuta all'attivazione Ca^{2+} dipendente di NADPH ossidasi RBOH C (in Arabidopsis, di 10 geni RBOH, 8 sono espressi in radici, **alto livello di ridondanza del sistema**)

Target potenziali:
• Espressione genica nel lungo termine

ROS in apoplasto induce irrigidimento parete e rinforzo della cellula grazie a ossidative cross-linking tra i componenti della parete



Gli stimoli meccanici inducono cambiamenti in flusso di protoni transmembrana dipendenti dal calcio. Rapido cambiamento di PH(in e out) alcalinizzazione extracellulare e acidificazione citoplasma sono accoppiati

- H⁺-ATPase modulate da $[Ca^{2+}]$
- Inducono cambiamenti in proteine associate al citoscheletro, aquaporine e legami del calcio (calmodulina)
- Regolazione di numerosi enzimi che modificano la rigidità della cellula, come le espansine che sono implicate nel processo di distensione interrompendo i legami tra microfibrille di cellulosa e la matrice polimerica

Piccoli movimenti di PH possono modificare il funzionamento di alcuni enzimi. Il cambiamento di PH può essere il responsabile di arresto crescita dopo 5 min da stimolo.

Questo meccanismo di **controllo combinato** che coinvolge Ca^{2+} , PH e ROS non è indotto solo da stress meccanici esterni ma potrebbe potenzialmente essere una risposta a deformazione meccanica dovuta alla crescita in condizioni normali

PROPRIOPERCEZIONE E TIGMOMORFOGENESI

In condizioni naturali le piante sono sottoposte ad oscillazioni dovute al vento che includono un'ampia gamma di frequenze, intensità e velocità. Abbiamo visto come la prima risposta ad uno stimolo meccanico è l'arresto della crescita, per cui non potrebbe crescere, però lo fa. Questo significa che non si ha la medesima risposta (thigmomorfogenesi) a tutti gli stimoli meccanici.

Accomodazione: cambiamento temporaneo di un apparato sensoriale

- Desensitisation (Perdita di sensibilità)
- ipersensitisation

in alberi giovani sottoposti a piegamenti multipli, 3 ore/giorno per 6 settimane, la risposta di crescita diminuisce, processo di desensibilizzazione. Mettendo in relazione le risposte dei singoli trattamenti tra di loro si è visto una riaccomodazione rapida e 7 giorni per recuperare la sensibilità.

In un esperimento con Populus il livello dell'espressione di un fattore trascrizionale legato alla meccanopercezione torna ai livelli basali dopo 2 ore dal piegamento e dopo 5 giorni recuperano il massimo della sensibilità.

Non si comprende bene questo meccanismo ma si ipotizza che la calmodulina (che lega il calcio) subisca, sia una variazione nella sua localizzazione e abbondanza, che una mutazione in un'isoforma della calmodulina. Questo può indurre un cambiamento nella capacità delle cellule di processare i segnali meccanici, come una specie di memoria cellulare della propria storia meccanica

[C. Coutand 2010]

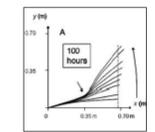
MECCANOPERCEZIONE E GRAVIPERCEZIONE

Questi due fenomeni sono strettamente legati perché appena un organo viene piegato, cambia la sua inclinazione (stimolo gravitropico) e tende a piegarsi sotto il suo stesso peso (stimolo Thigmomorfogenetico). È molto difficile separare i due processi.

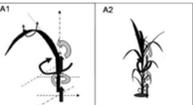
La risposta di una pianta o di un organo ad uno stimolo gravitropico è una **curvatura**, in direzione del vettore di gravità per le radici e nella direzione opposta per gli organi epigei. Alla fine di una risposta gravitropica l'organo è dritto. Questo implica che il processo di raddrizzamento avviene durante la risposta gravitropica.

Cinematica del movimento e controllo posturale

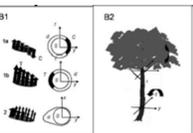
Due disegni strutturali diversi



Articolato (erbacee): si può descrivere come articolato-telescopico, nel limite tra le lamine vi è una guaina di tessuto che conserva una differenziazione primaria → hydraulic motor zone



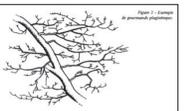
Continuo(arboree): inizialmente si registra una curvatura arcuata seguita poi da una fase di raddrizzamento basipeto. Il processo di raddrizzamento inizia prima che l'organo raggiunga la verticale, per cui non è un movimento tropico di graviorientamento ma una reazione **auto-tropica**



[Moulla et al. 2006, C. Coutand 2010, Teleski 2016]

Il processo di raddrizzamento è stato definito autotropismo o proprio percezione. La posizione eretta è garantita da un comportamento coordinato di gravitropismo e anticipato autotropismo.

In alberi ramificati, con rami plagiotropi (orientamento orizzontale e simmetria bilaterale), la plagiotropia è mantenuta tramite un controllo attivo con continui movimenti compensativi.



I movimenti di curvatura e raddrizzamento necessitano di un MOTORE. Negli organi in allungamento il motore è la crescita differenziale mentre in organi che hanno già terminato la distensione ma che posseggono un cambio attivo il motore è la produzione asimmetrica di legno di reazione



BIBLIOGRAFIA:

F. W. Teleski «thigmomorphogenesis: the response of plants to mechanical perturbation» in *Italian Hortus* 23, 1-16. 2016
F. W. Teleski «a unified hypothesis of mechanoperception in plants» in *American Journal of Botany* 93:1466-1476. 2006.
M. L. Prunb, B. J. Ewers, F. W. Teleski «thigmomorphogenesis: changes in the morphology and mechanical properties of two Populus hybrids in response to mechanical perturbation» in *Tree Physiology* 20: 535-540. 2000.
C. Coutand «mechanosensin and thigmomorphogenesis, a physiological and biomechanical point of view» in *plant science* 179 :168-182. 2010
G. B. Monshausen, S. Gilroy «feeling green: mechanosensing in plants» in *Elsevier* (1 April 2009)
G. B. Monshausen, T. N. Bibikova, M. H. Weisensteil, S. Gilroy «Ca²⁺ Regulates reactive oxygen species production and pH during mechanosensing in Arabidopsis roots» in *the plant cell* vol.21 2341-2356 (august 2009)
B. Moulla, C. Coutand, C. Lenne «Posture control and skeletal mechanical acclimation in terrestrial plants: implication for mechanical modeling of plant architecture» in *American Journal of Botany* 93, (2006)1477-1489
L. Martin, N. Leblanc-Fournier, J. Julien, B. Moulla, C. Coutand «acclimation (kinetics of physiological and molecular response of plants to multiple mechanical loadings» in *Journal of Experimental Botany* 61: 2403-2412. 2010.
C. Coutand, L. Martin, N. Leblanc-Fournier, M. Decourteix, J. Julien, B. Moulla «strain mechanosensing quantitatively controls diameter growth and PtaZFP2 gene expression in poplar» in *Plant Physiology* 151: 223-232. september 2009
R. Bastien, S. Douady, B. Moulla «A Unified Model of shoot tropism in plants: photo-, Gravi- and Proprio-ception» in *Computational Biology* 10. february 18, 2015