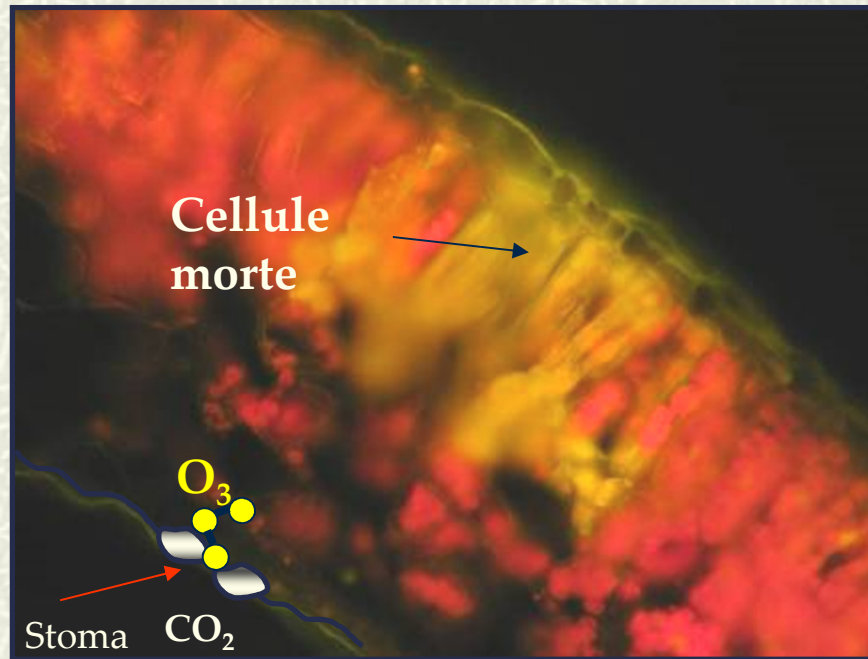




- COSA
- DOVE
- QUANDO
- **PERCHE'**

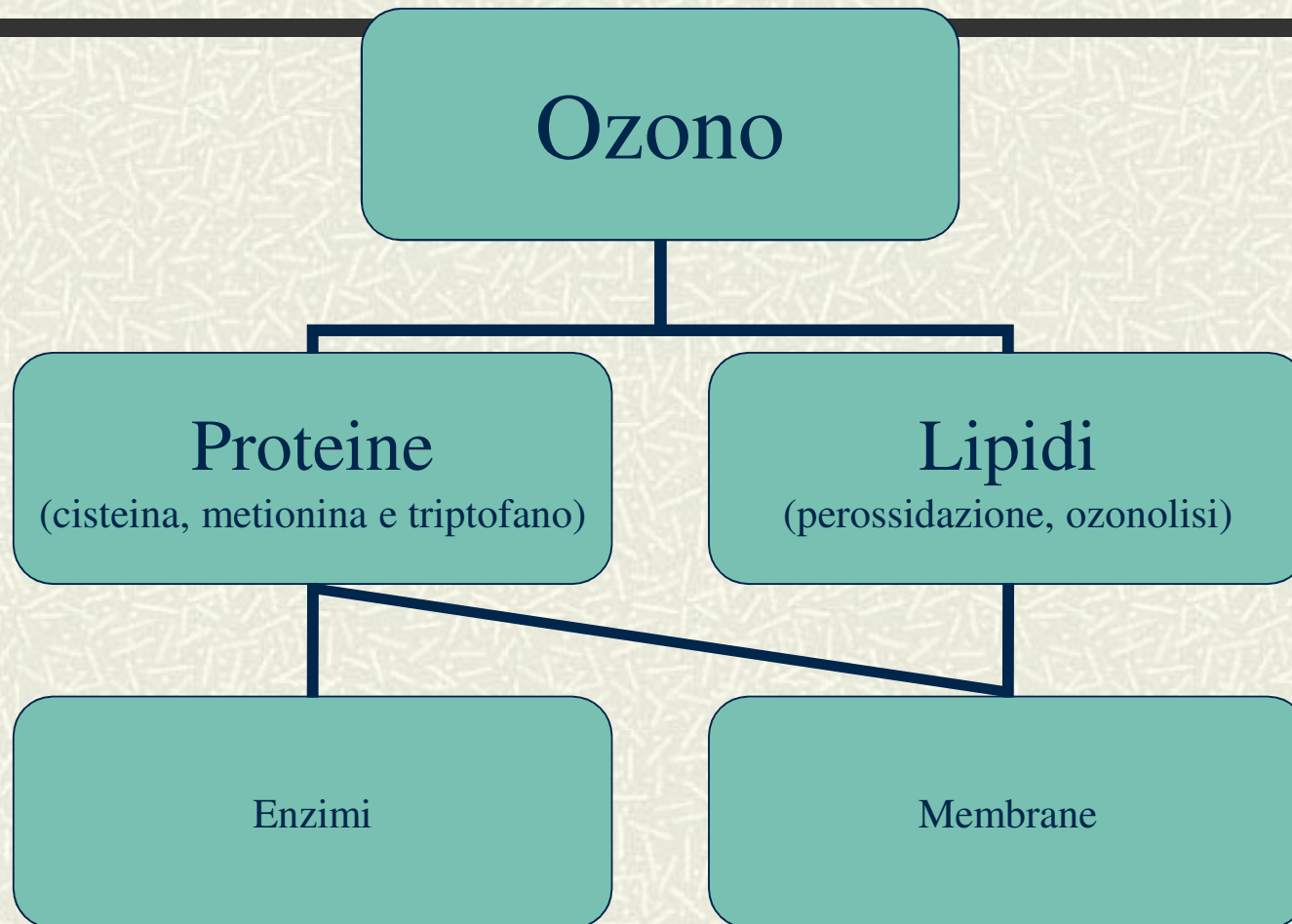


Dimensioni molecolari simili alla CO_2 : incontra la stessa resistenza nella penetrazione stomatica

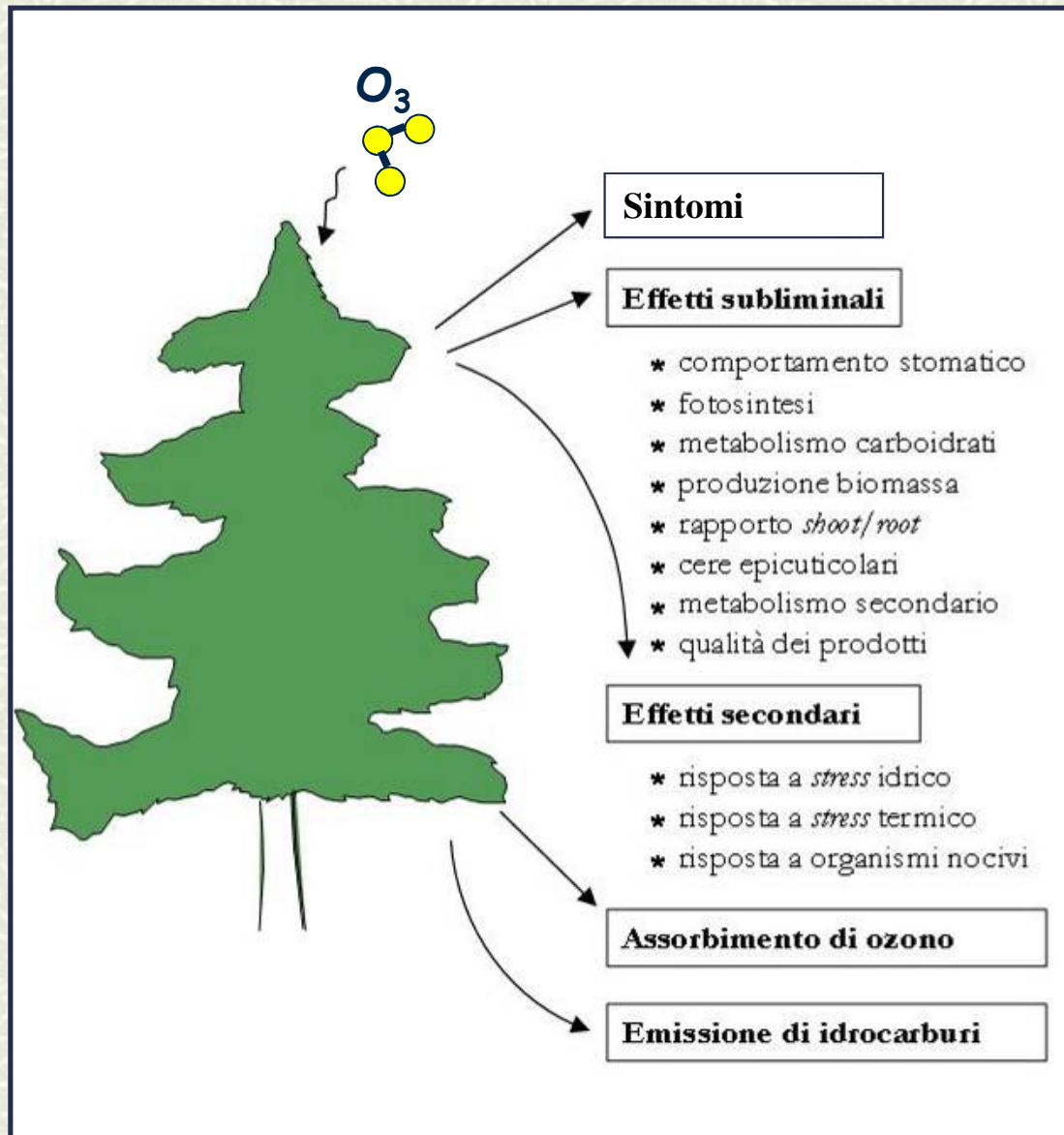
Elevata solubilità in acqua (10 volte maggiore dell' O_2): dall'apoplasto raggiunge facilmente la membrana

Elevato potenziale redox (+ 2,07 V)

I bersagli dell'ozono



L'ozono attacca la vegetazione



Schematizzazione delle molteplici interazioni tra ozono e piante

I danni da ozono

Variazioni anatomiche, biochimiche e fisiologiche, caratteristiche dei naturali processi di invecchiamento della pianta

Sintomi: Clorosi, necrosi ed abscissione fogliare

Diminuzione dell'attività fotosintetica,

Effetti subliminali: riduzione della produttività e dello sviluppo, senescenza precoce

“Sindrome da *stress* da ozono”

**Quadro sintomatico
tipico dei naturali processi
di senescenza delle piante**



Ozono accelera la senescenza

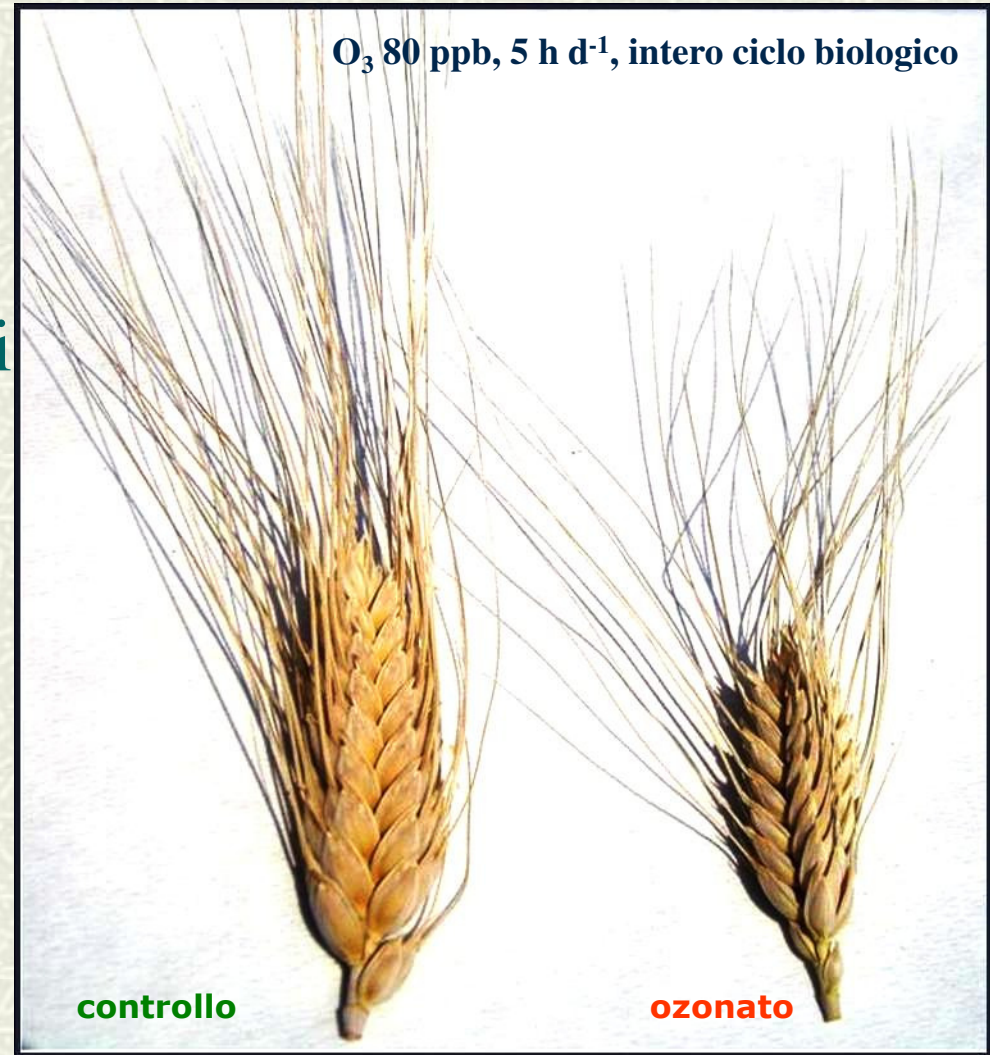
L'impatto biologico dell'ozono è solo in parte associato a manifestazioni sintomatiche; è evidente come gli effetti visibili siano preceduti da una serie di tappe che possono, comunque, portare a diminuzione della produttività delle piante



La produttività delle piante

Oggi il 10-35% della produzione cerealicola mondiale si realizza in aree dove l'ozono riduce i raccolti di almeno il 5-10%

Stime per il 2025 indicano che il 30-75% della produzione cerealicola sarà in tali condizioni



Quanto ci costa l'ozono?

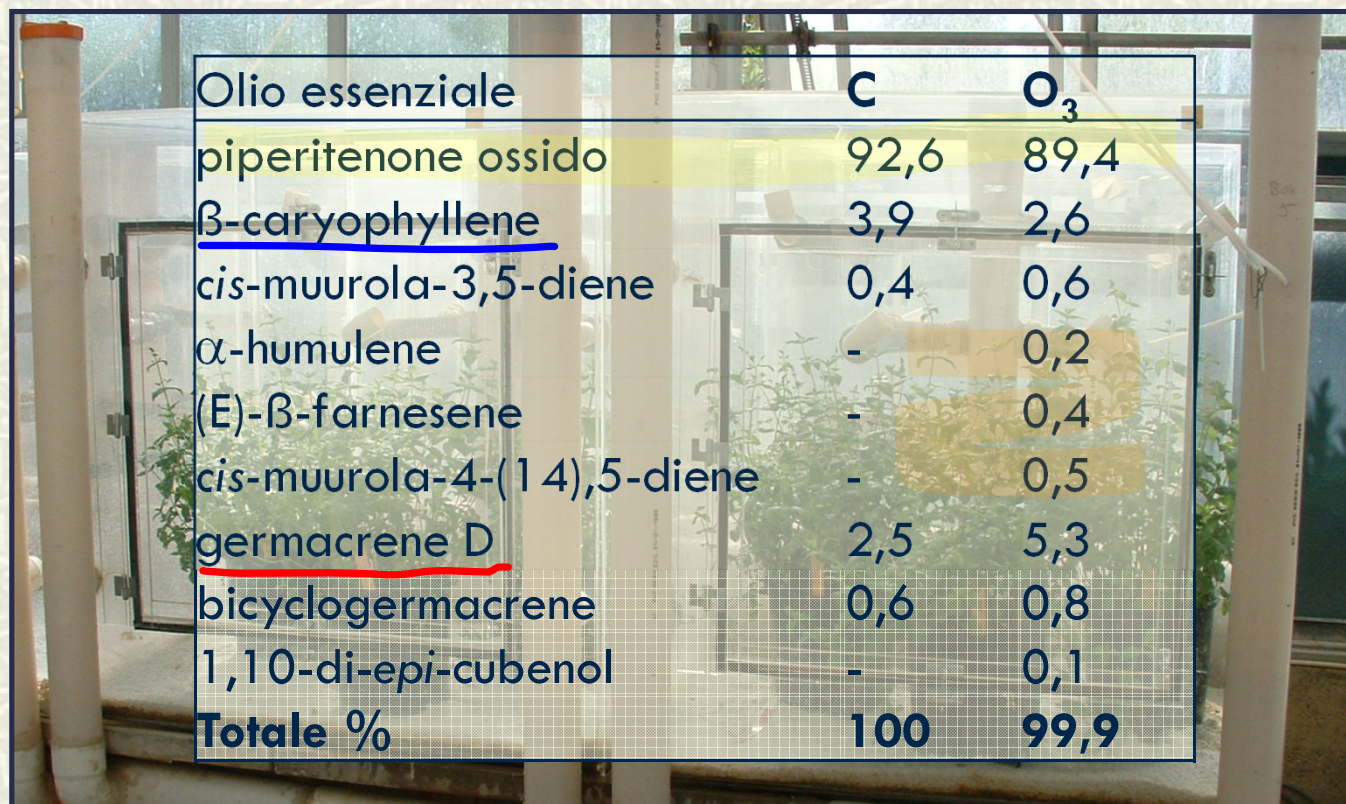
Table 5

Quantitative estimated yield losses caused by ozone on wheat, barley, alfalfa, corn, soybean and tomato in the districts of Florence, Lucca and Pisa in 1997; data on crop productivity are from ISTAT (1997)^a

Crop	Estimated yield loss					
	Florence		Lucca		Pisa	
	%	×10 ⁴ (kg)	%	×10 ⁴ (kg)	%	×10 ⁴ (kg)
Alfalfa	8	1862	4	116	6	1148
Barley	16	234	5	4	13	165
Corn	8	531	3	118	5	296
Soybean	27	7	17	8	24	70
Tomato	10	98	6	103	8	131
Wheat	17	920	6	10	14	603

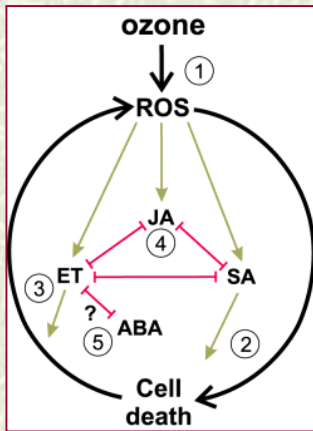
Economic loss (M€) 4.6 0.5 3.0

Oli essenziali e composti volatili in piante di menta esposte all'O₃



Olio essenziale	C	O ₃
piperitenone ossido	92,6	89,4
<u>β-caryophyllene</u>	3,9	2,6
cis-muurola-3,5-diene	0,4	0,6
α-humulene	-	0,2
(E)-β-farnesene	-	0,4
cis-muurola-4-(14),5-diene	-	0,5
<u>germacrene D</u>	2,5	5,3
bicyclogermacrene	0,6	0,8
1,10-di-epi-cubenol	-	0,1
Totale %	100	99,9

Un trattamento con O₃ (100 ppb, 5 h d⁻¹, 21 d) comporta una riduzione della resa di OE del 18%

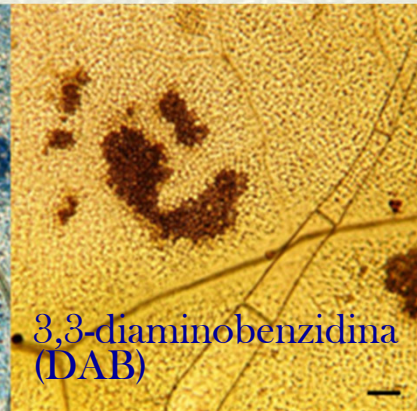
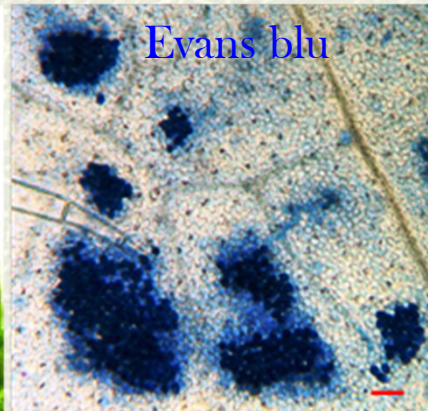
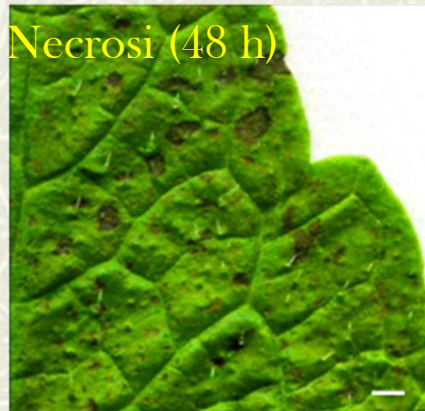
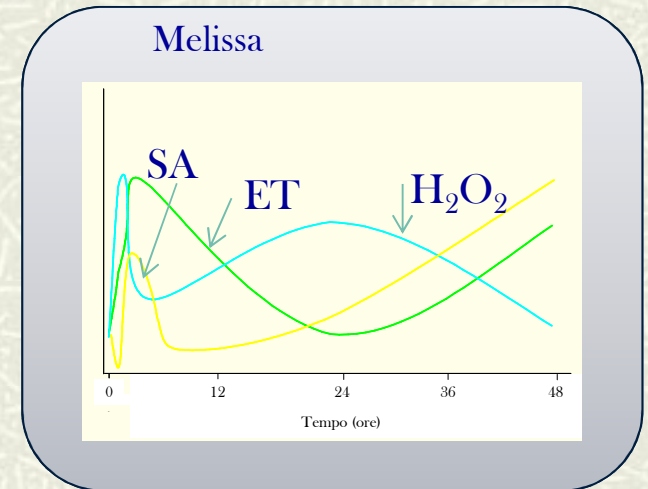
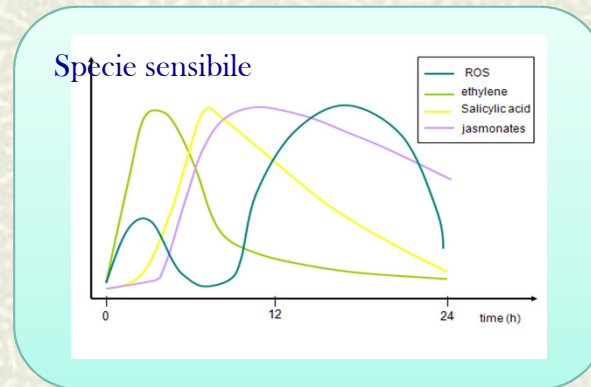
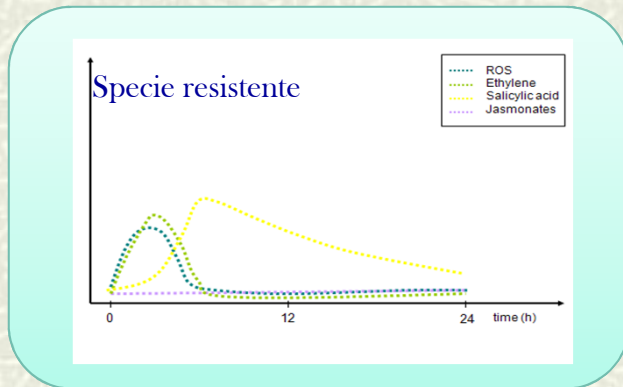


1. Produzione di ROS
2. Accumulo di SA e PCD
3. PCD porta alla produzione di ET → Propagazione della lesione
4. JA contrasta la morte cellulare → Contenimento della lesione
5. ABA antagonista di ET

Iniziazione della lesione

Propagazione della lesione

Contenimento della lesione

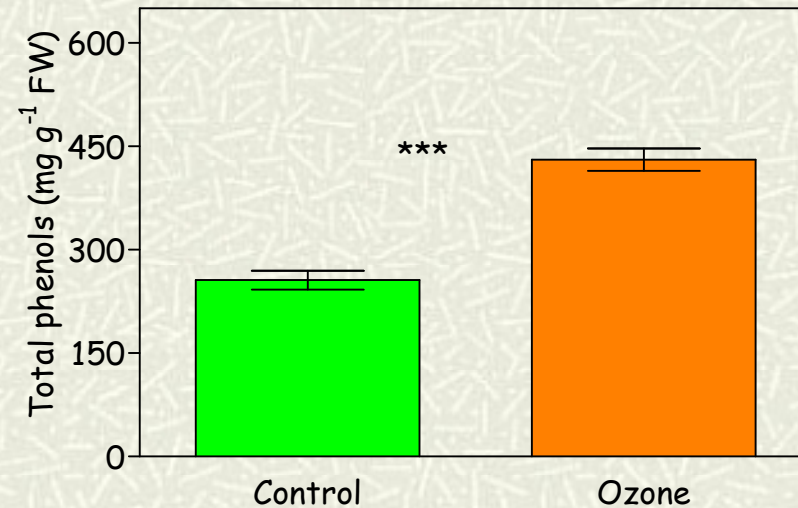
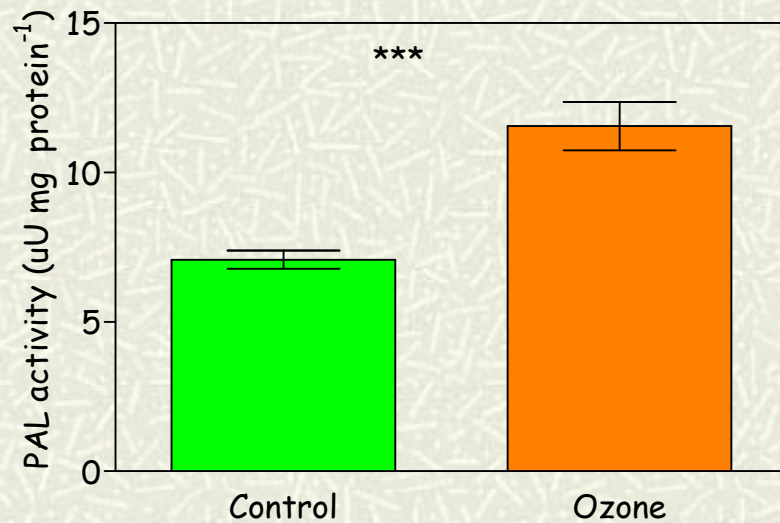


Plant Cell Rep (2013) 32:1965–1980
DOI 10.1007/s00299-013-1508-0

ORIGINAL PAPER

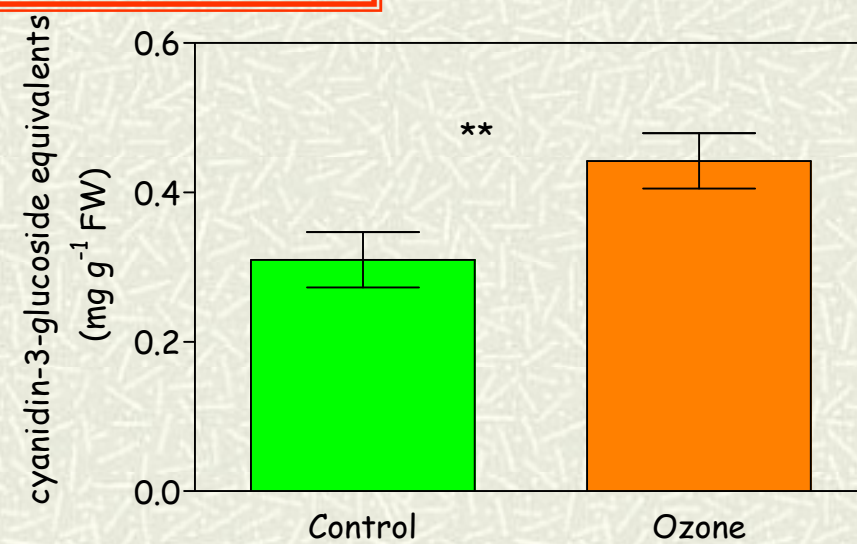
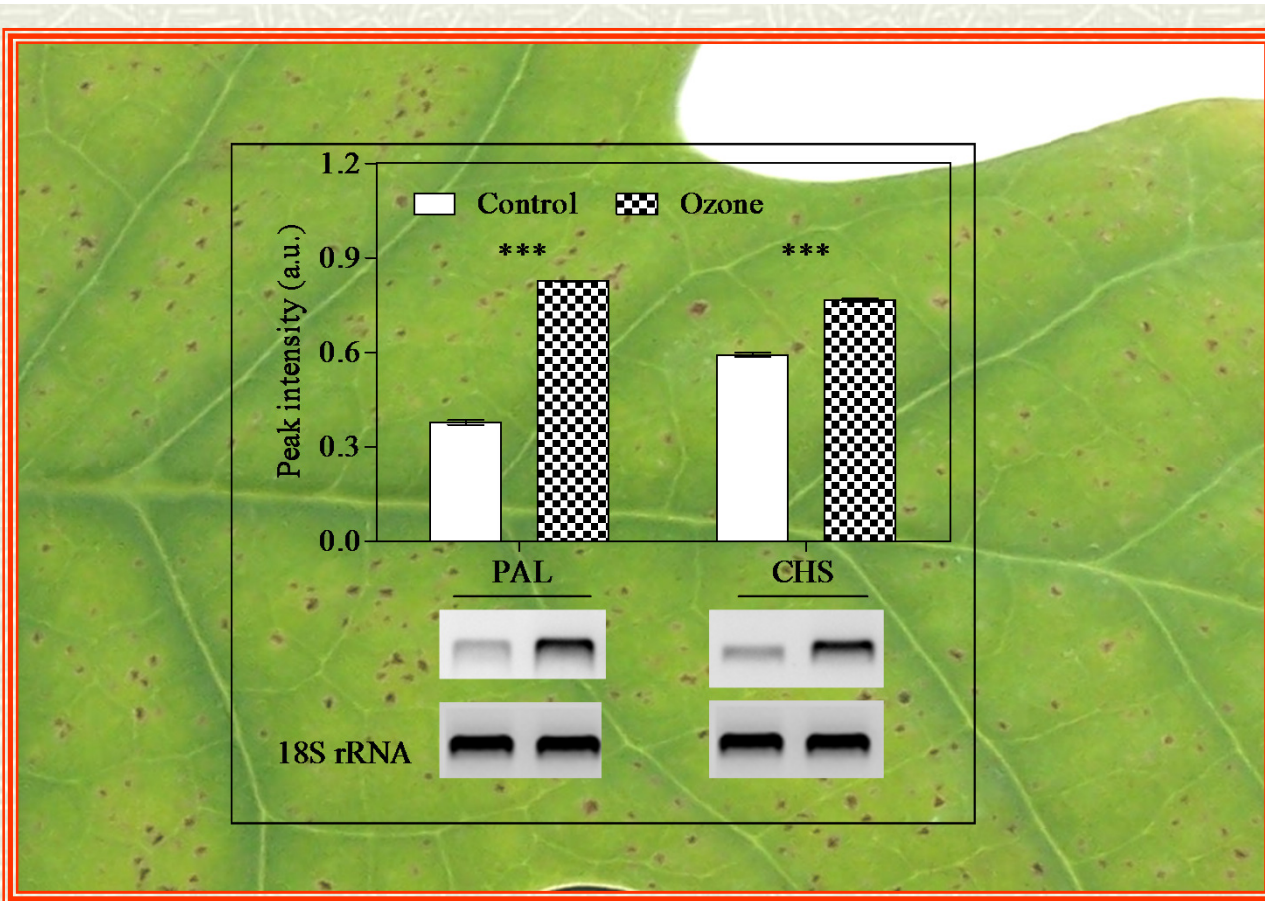
Signaling molecules and cell death in *Melissa officinalis* plants exposed to ozone

Elisa Pellegrini · Alice Trivellini · Alessandra Campanella ·
Alessandra Francini · Giacomo Lorenzini ·
Cristina Nali · Paolo Vernieri

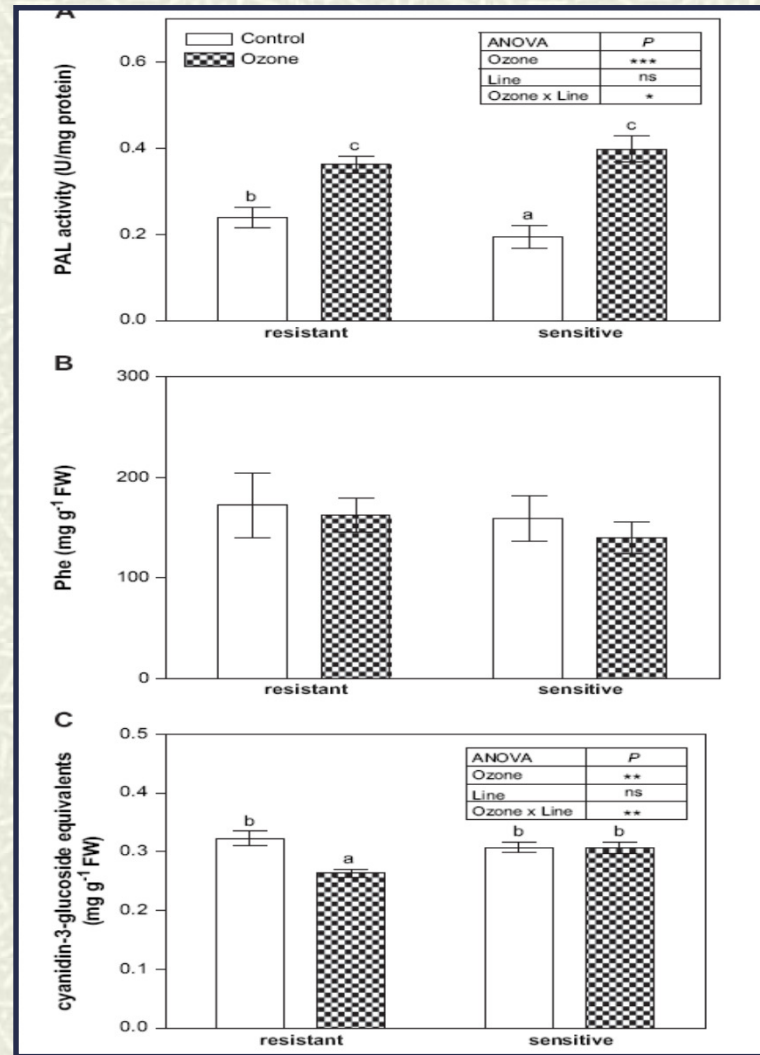
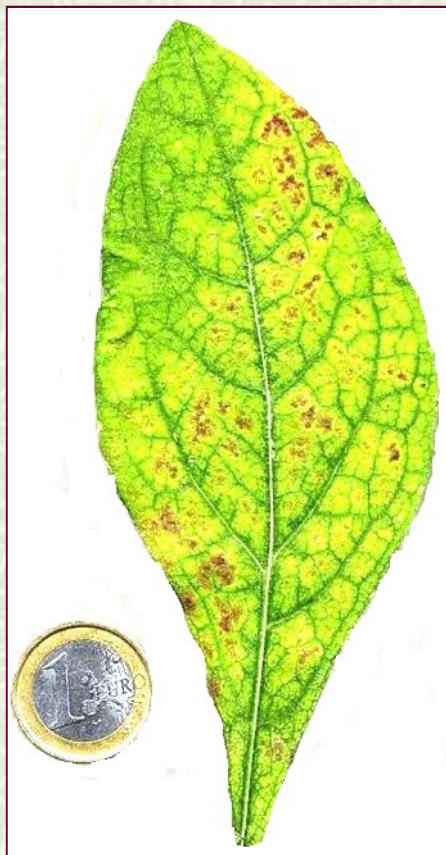


Liriodendron tulipifera
 O₃ 120 ppb, 5 h d⁻¹, 45 giorni

	Control	Ozone	<i>P</i>
Gallic acid	243±31.8	283±37.7	ns
Catechin acid	1098±51.3	1590±120.6	*
Dihydroxybenzoic acid	227±11.7	591±24.4	***
Chlorogenic acid	28±3.0	69±10.7	**
Caffeic acid	13±1.8	35±14.6	**
Vanillic acid	53±7.6	118±11.1	**
Syringic acid	126±9.8	230±31.1	**
Rosmarinic acid	43±3.6	42±4.2	ns



Centaurea jacea
200 ppb O₃, 5 h



Environmental Pollution 151 (2008) 272–279

Characterization and isolation of some genes of the shikimate pathway in sensitive and resistant *Centaurea jacea* plants after ozone exposure

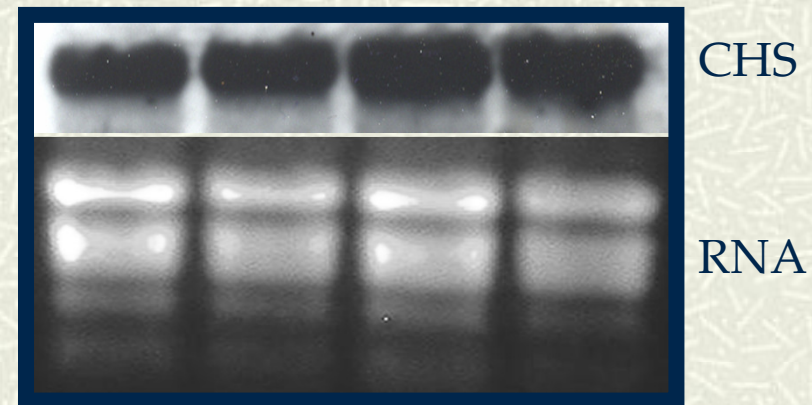
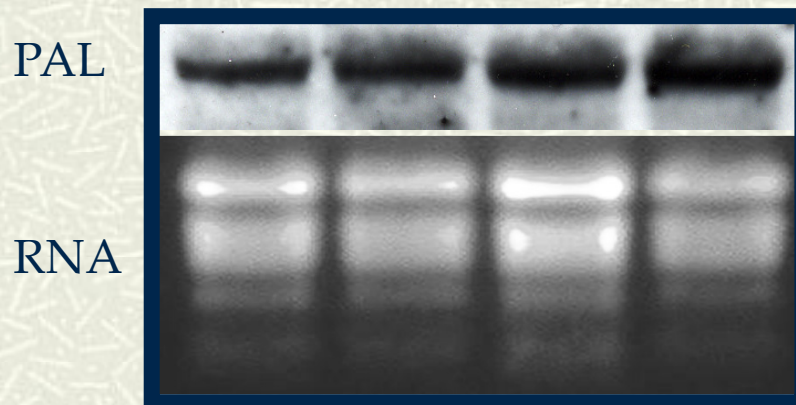
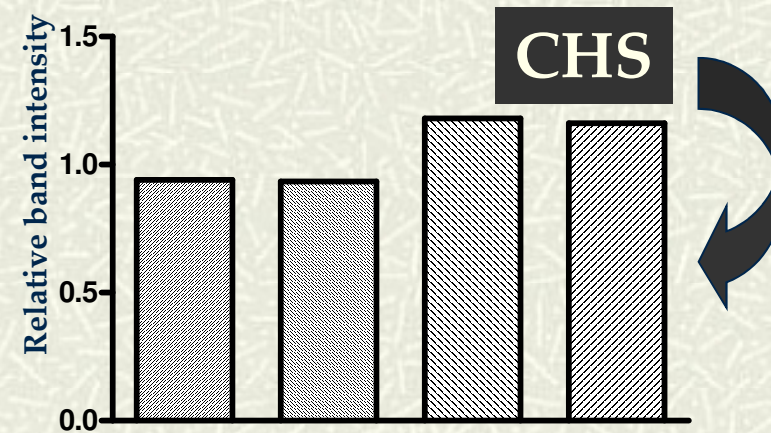
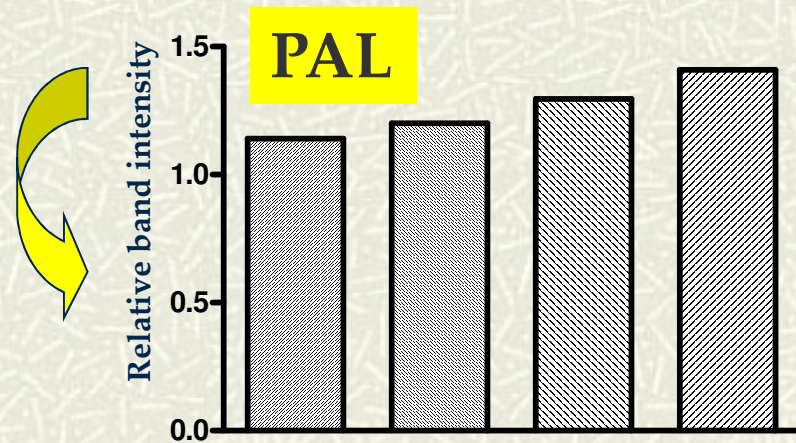
A. Francini, C. Nali*, E. Pellegrini, G. Lorenzini

Espressione genica

Environmental Pollution 151 (2008) 272–279

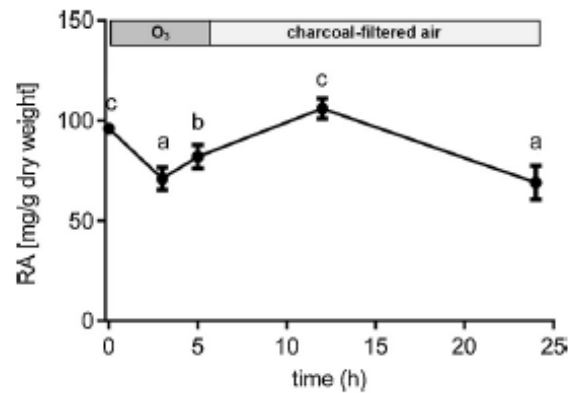
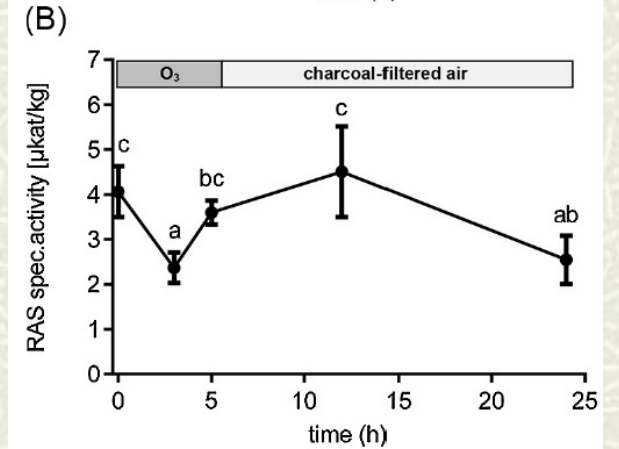
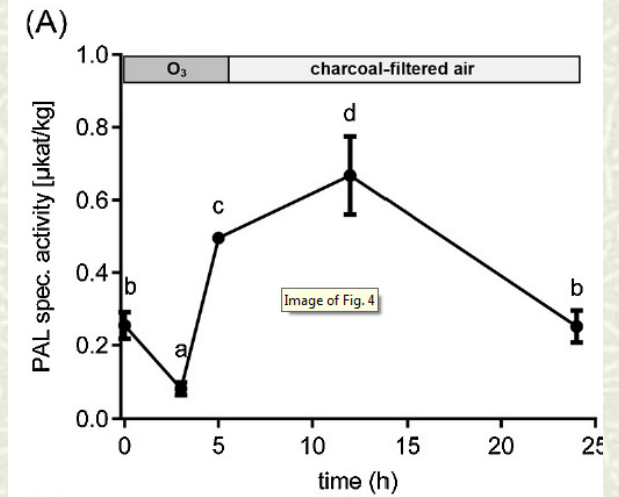
Characterization and isolation of some genes of the shikimate pathway in sensitive and resistant *Centaurea jacea* plants after ozone exposure

A. Francini, C. Nali*, E. Pellegrini, G. Lorenzini



O₃-resistente O₃-sensibile
Controllo Ozono Controllo Ozono

O₃-resistente O₃-sensibile
Controllo Ozono Controllo Ozono



Journal of Plant Physiology 171 (2014) 35–41

Contents lists available at ScienceDirect



Journal of Plant Physiology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jplph



Physiology

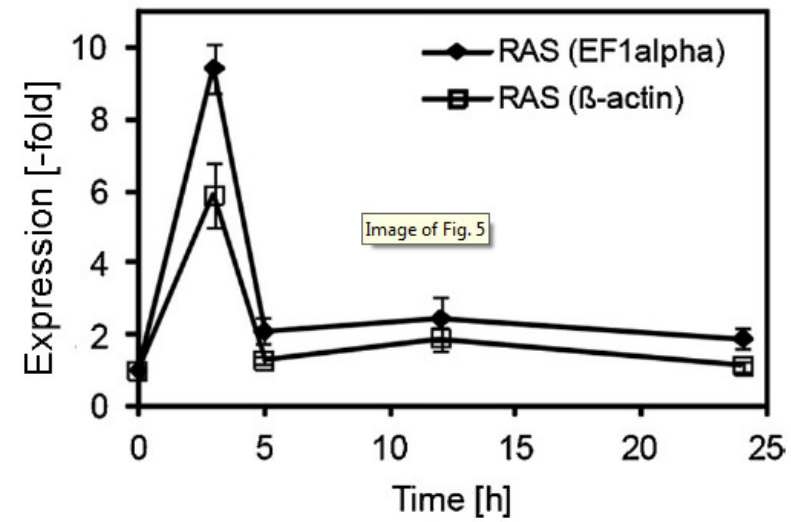
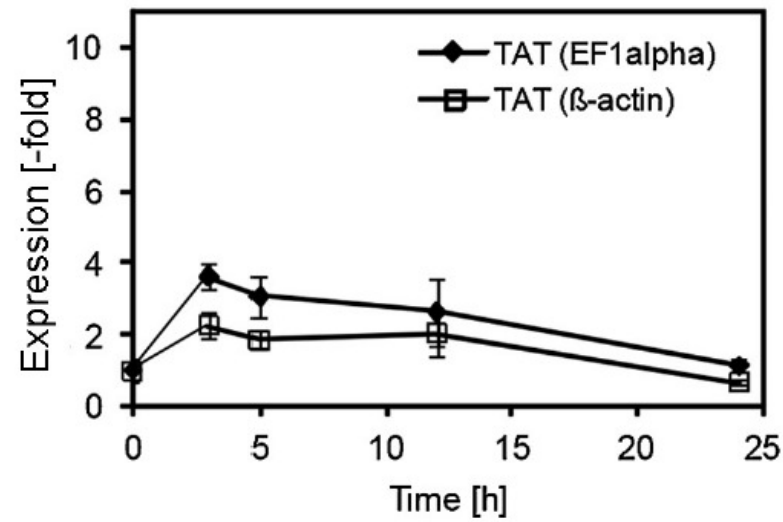
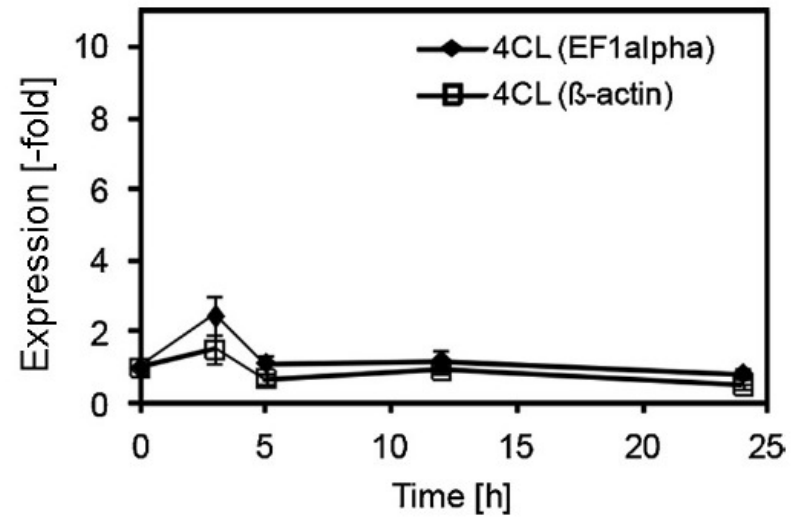
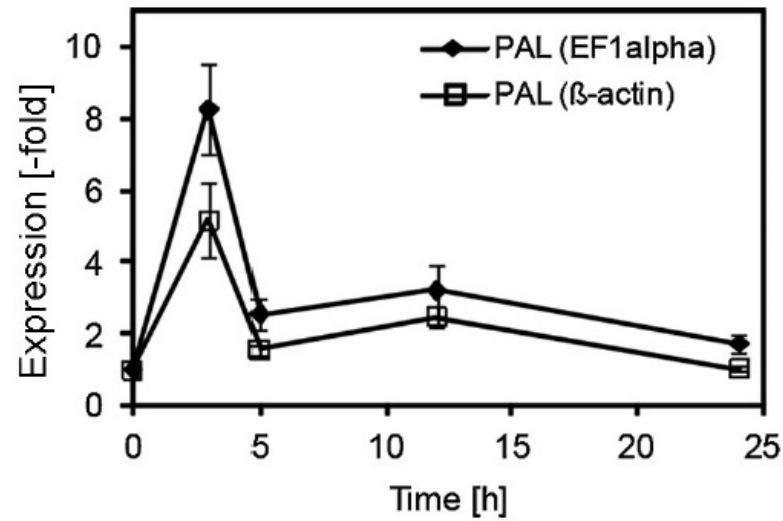
How do background ozone concentrations affect the biosynthesis of rosmarinic acid in *Melissa officinalis*?

Anne S. Döring^{a,1}, Elisa Pellegrini^{b,1}, Michele Della Batola^b, Cristina Nali^b, Giacomo Lorenzini^b, Maïke Petersen^{a,*}

^a Institut für Pharmazeutische Biologie und Biotechnologie, Philipps-Universität Marburg, Deutschhausstr. 17A, D-35037 Marburg, Germany

^b Department of Agriculture, Food and Environment, University of Pisa, Via del Borghetto 80, I-56124 Pisa, Italy





fenilalanina ammonio liasi (PAL), 4-cumarato-CoA-ligasi (4CL), tirosina amino transferasi (TAT) e acido rosmarinico sintasi (RAS)

Phillyrea latifolia, O₃ 110 ppb, 5 h d⁻¹, 90 giorni

Conservazione della risposta a stress da O₃

Tra le 41 sequenze espresse solo 5 non sono ancora associate a specifica funzione

Tre sono invece specificatamente correlate a ruoli nel metabolismo secondario

Biosintesi di isoprenoidi, poliammine, lignine

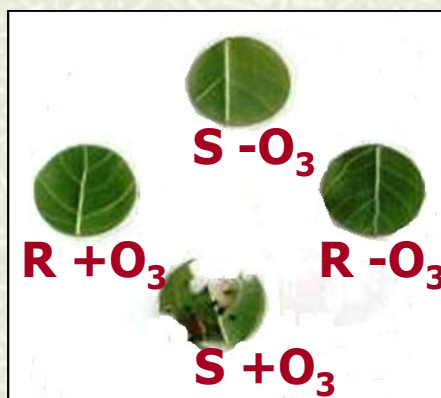
Table 1. Homologies with sequences in protein databases of *Phillyrea latifolia* cDNA sequences preferentially expressed in ozonated plants. Abbreviation: Express. = Expression; and trans. = transporter.

Clone	bp	Accession No.	Express. pattern	Homology (Acc. No.)	BLAST score	Species	Homologous protein	Function
16) OPHH-72 ¹	465	AM262950	II	AF396829	216	<i>Hevea brasiliensis</i>	3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase	Metabolism (isoprenoids biosynthesis)
17) OPHH-80A ¹	560	AM262952	II	AB194102	224	<i>Prunus persica</i>	Arginine decarboxylase	Metabolism (polyamines biosynthesis)
18) OPHH-82 ¹	366	AM262953	II	AAY26021	168	<i>Eucommia ulmoides</i>	Cinnamyl alcohol dehydrogenase	Metabolism (ligninins and lignans)

IPP
Arginina decarbossilasi
CAD (cinnamil alcool deidrogenasi)

Le piante sottoposte a *stress* da ozono risultano essere più vulnerabili all'attacco di fitofagi, poiché i cambiamenti chimici indotti dall'inquinante possono aumentare i valori nutrizionali o ridurre le difese chimiche della pianta stessa

L'interazione tra pioppo e *Melasma populi*



PARAMETRO ANALIZZATO	FUNZIONE
Proteine totali	Risorsa nutritiva necessaria per la crescita e per la riproduzione dell'insetto
Zuccheri	Risorsa nutritiva necessaria per la crescita e per la riproduzione dell'insetto
Aminoacidi	Risorsa nutritiva necessaria per la crescita e per la riproduzione dell'insetto
Contenuto in acqua	Necessario per rendere il materiale vegetale facilmente commestibile e convertibile
Contenuto in pigmenti	Definisce il colore del materiale vegetale
Fenoli	Potere deterrente nei confronti di alcuni insetti
Terpeni	Messaggeri chimici nella relazione pianta-insetto
Acido abscissico	Ormone vegetale con potere attrattivo per certi insetti
Lignina	Determina la digeribilità del materiale vegetale
Acido ascorbico	Composto necessario per il normale sviluppo della larva
Glutatione, Giasmonato e Salicilato	Sistemi di difesa della pianta



Contents lists available at ScienceDirect

Innovative Food Science and Emerging Technologies

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ifeset



Preparation of a resveratrol-enriched grape juice based on ultraviolet C-treated berries

R. González-Barrio^a, M.L. Vidal-Guevara^b, F.A. Tomás-Barberán^a, J.C. Espín^{a,*}

Contents lists available at ScienceDirect

Industrial Crops and Products

journal homepage: www.elsevier.com/locate/indcrop



Foliar application of chitosan activates artemisinin biosynthesis in *Artemisia annua* L.

Caiyan Lei^{a,b,c}, Dongming Ma^{a,c}, Gaobin Pu^{a,c}, Xiaofang Qiu^{a,c}, Zhigao Du^a, Hong Wang^{a,*}, Guofeng Li^a, Hechun Ye^a, Benye Liu^{a,**}

doi:10.1017/S0007...

British Journal of Nutrition, page 1 of 10
© The Authors 2011

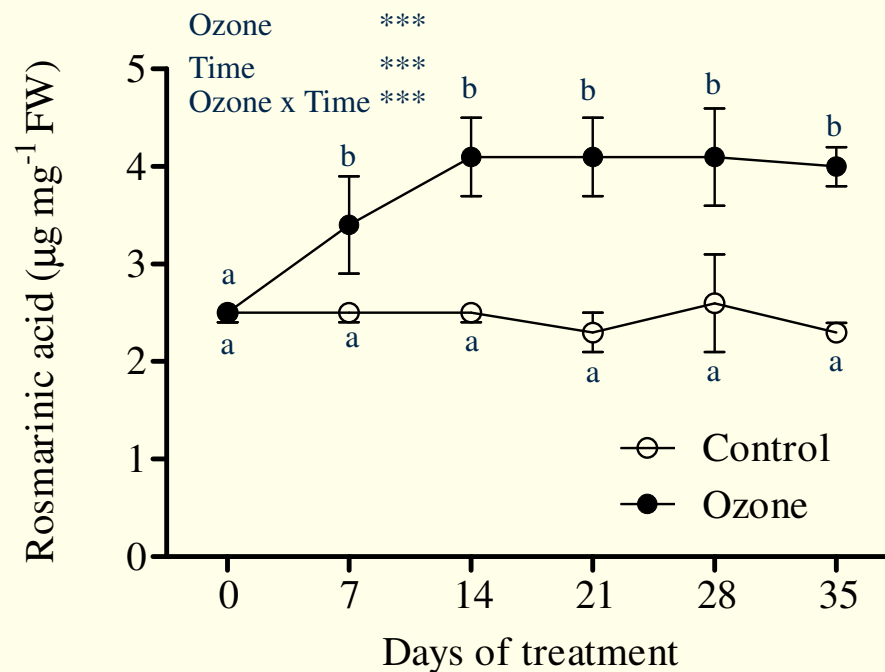
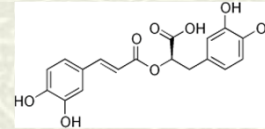
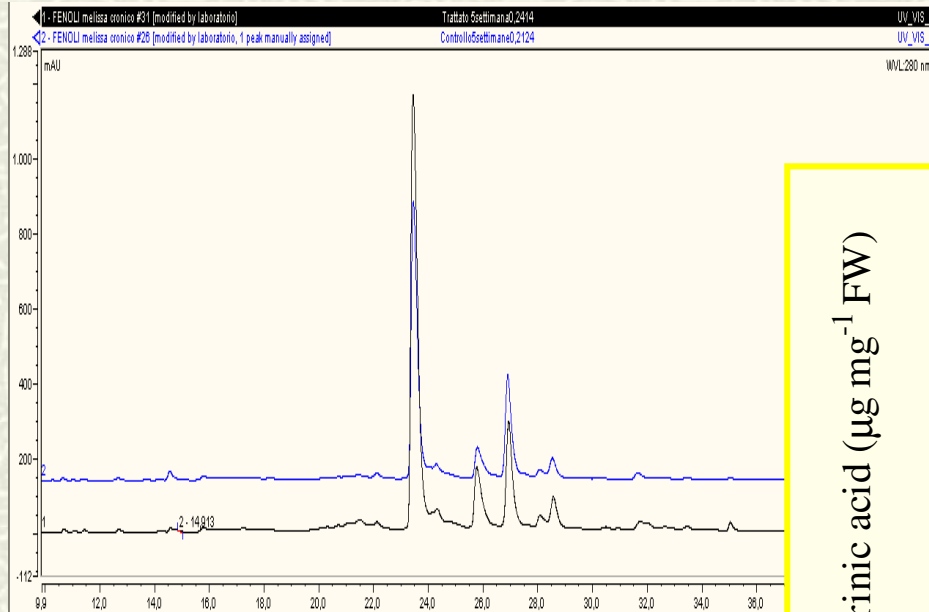
Nutraceutical value and safety of tomato fruits produced by mycorrhizal plants

M. Giovannetti^{1*}, L. Avio², R. Barale³, N. Ceccarelli¹, R. Cristofani⁴, A. Iezzi¹, F. Mignolli¹, P. Picciarelli¹, B. Pinto⁴, D. Reali⁴, C. Sbrana² and R. Scarpato³

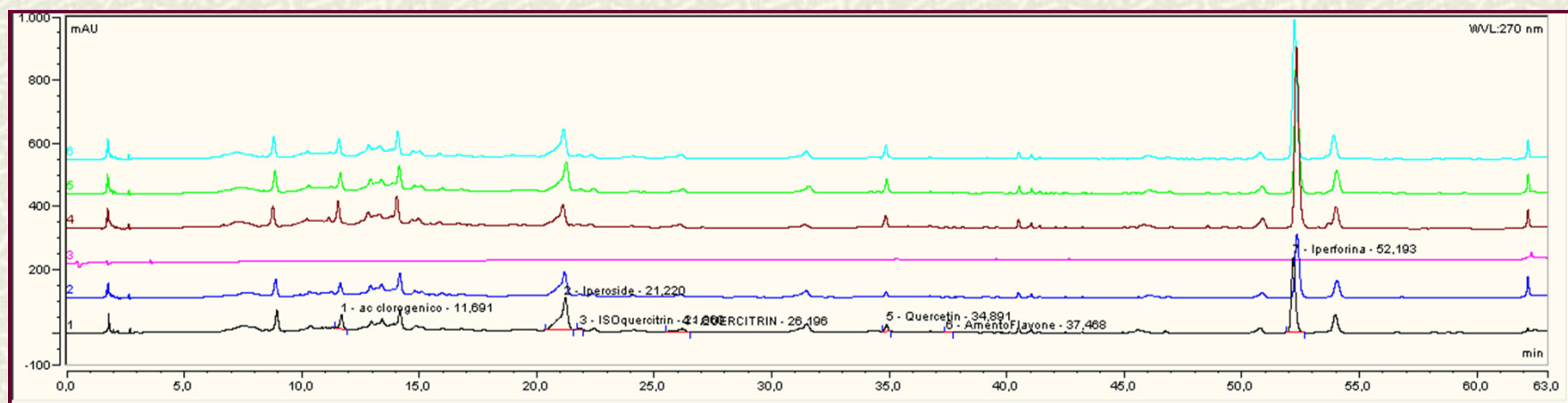
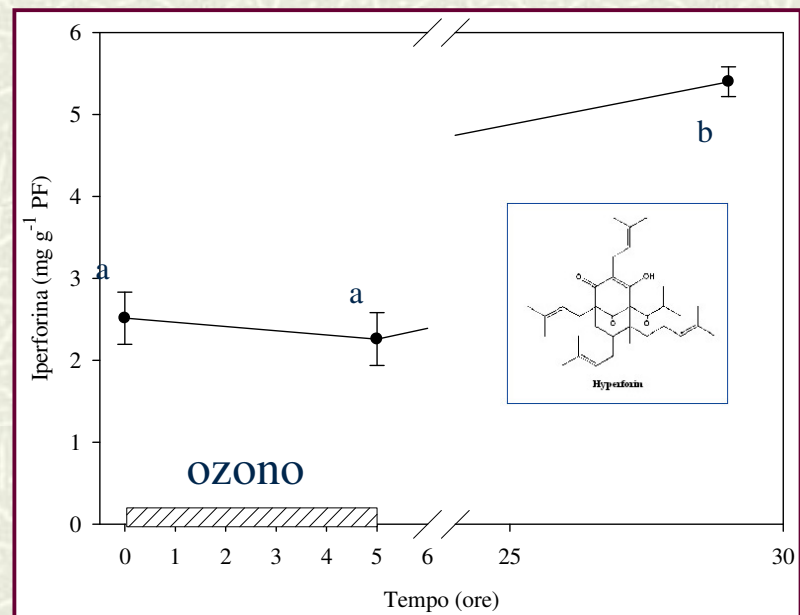
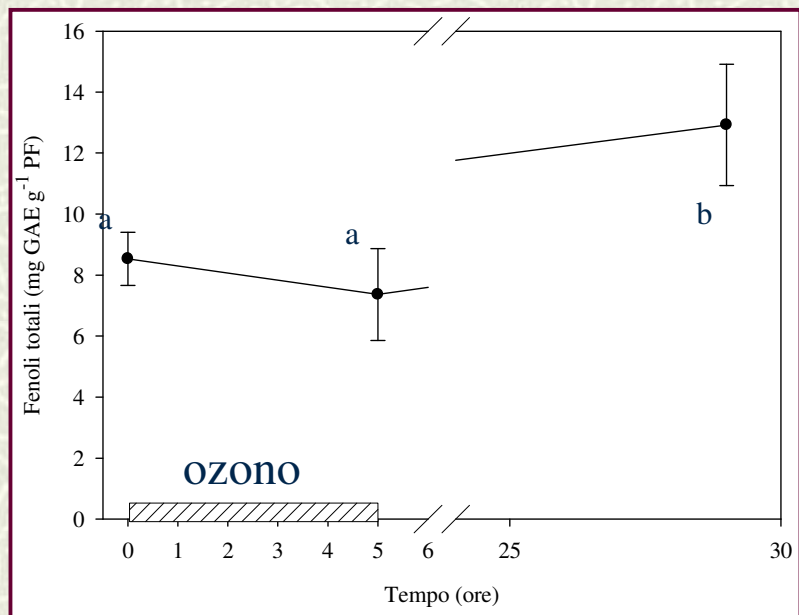
E allora perché non cominciare a studiare la possibilità di usare l'esposizione (deliberata) all'ozono per arricchire nella pianta la concentrazione di composti fenolici bioattivi, a patto ovviamente di non influenzare negativamente la produzione quali- e quantitativa?

Melissa e ozono (80 ppb, 5 settimane, 5 h d⁻¹)

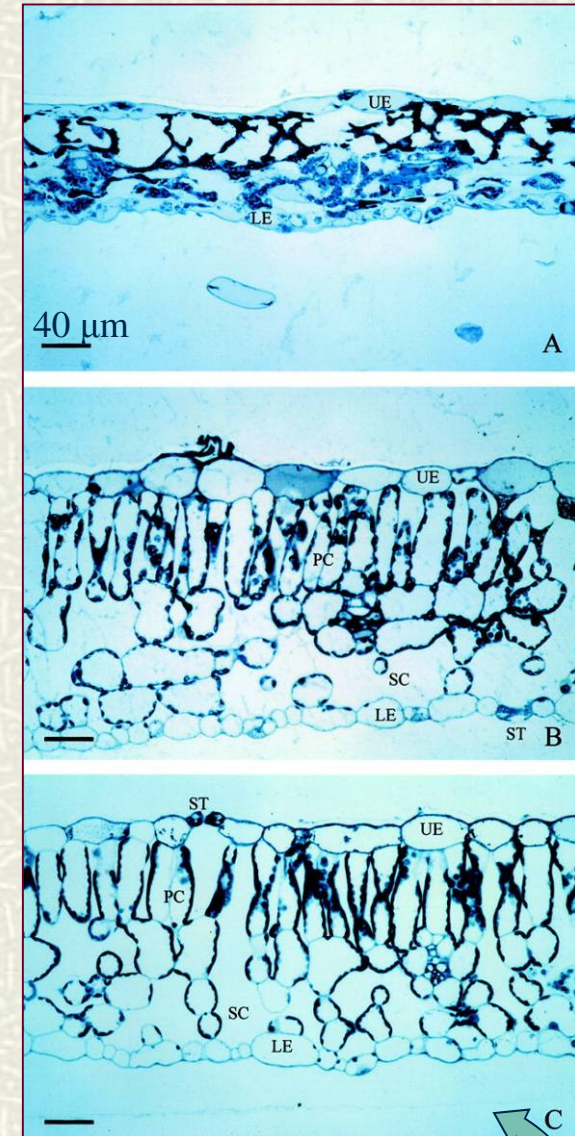
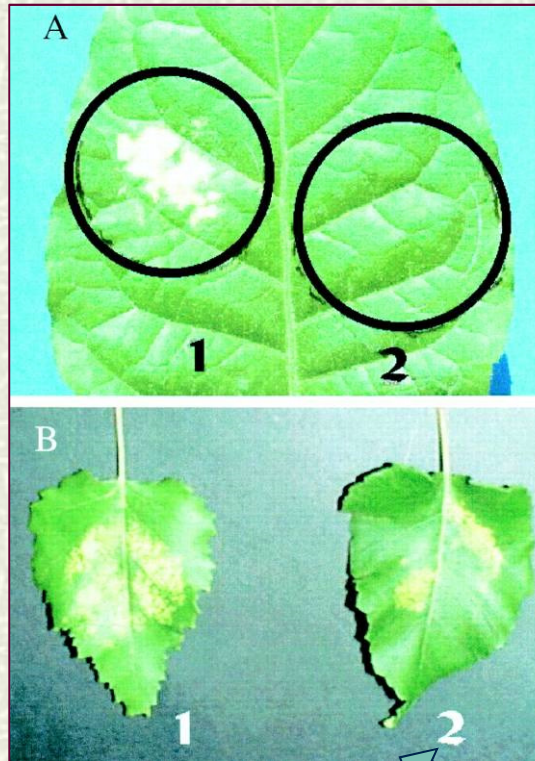
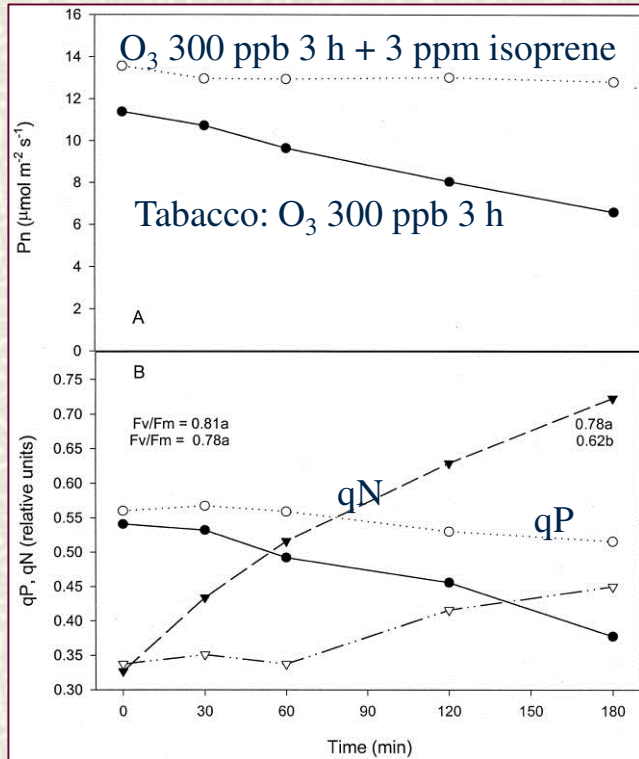
Some pharmacological properties have been attributed to the principal constituent, *rosmarinic acid*. Under O₃ exposure, treated plants showed an increase of this compound (+60% average) with a range values of 3.4-4.1 μg mg⁻¹ FW



Iperico e ozono (100 ppb, 5 h)



Isoprenoidi volatili come antiossidanti



O₃ 300 ppb 3 h su tabacco (A) e betulla (B)
 (1) O₃ 300 ppb 3 h e (2) O₃ 300 ppb 3 h + 3 ppm isoprene

Piante transgeniche di tabacco, che esprimono isoprene sintasi, confermano resistenza a *stress* da O₃; l'effetto protettivo è associato a produzione endogena di isoprene

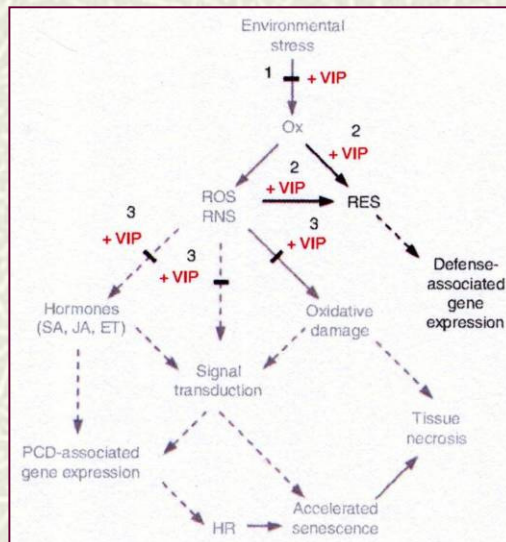
Tabacco: (A) O₃ 300 ppb 3 h, (B) O₃ 300 ppb 3 h + 3 ppm isoprene, (C) no O₃ no isoprene

Isoprenoidi volatili come antiossidanti

Classes of compounds	ML		YL		Source of variation		
	-O ₃	+O ₃	-O ₃	+O ₃	O ₃	Leaf age	Leaf age x O ₃
Eridano							
Oxygenated monoterpenes	13.9	18.5	21.7	25.7	241.66 ^{***}	758.75 ^{***}	1.40 ^{ns}
Sesquiterpene hydrocarbons	12.2 a	25.9 d	16.6 b	19.7 c	672.01 ^{***}	7.34 ^{ns}	271.67 ^{***}
Oxygenated sesquiterpenes	5.4 b	17.0 c	2.3 a	5.1 b	279.33 ^{***}	303.01 ^{***}	104.78 ^{***}
Non-terpene oxygenated	23.0 a	24.3 a	32.1 b	24.4 a	59.08 ^{**}	122.67 ^{***}	122.67 ^{***}
Non-terpene hydrocarbons	31.0 c	12.9 a	13.2 a	24.1 b	10.68 [*]	8.18 [*]	174.42 ^{***}
I-214							
Oxygenated monoterpenes	10.7 a	29.0 d	15.1 b	22.5 c	1668.08 ^{***}	10.57 [*]	296.16 ^{***}
Sesquiterpene hydrocarbons	19.9	39.4	28.7	46.0	681.97 ^{***}	120.08 ^{***}	2.45 ^{ns}
Non-terpene oxygenated	29.2 b	14.7 a	48.8 c	27.4 b	719.01 ^{***}	578.25 ^{***}	25.49 ^{**}
Non-terpene hydrocarbons	33.4 c	17.0 b	1.3 a	1.5 a	27.93 ^{**}	234.21 ^{***}	28.96 ^{***}

Pellegrini et al., J. Chem. Ecol. (38:924-932)

“Single biochemical mechanism for multiple physiological stressors” model

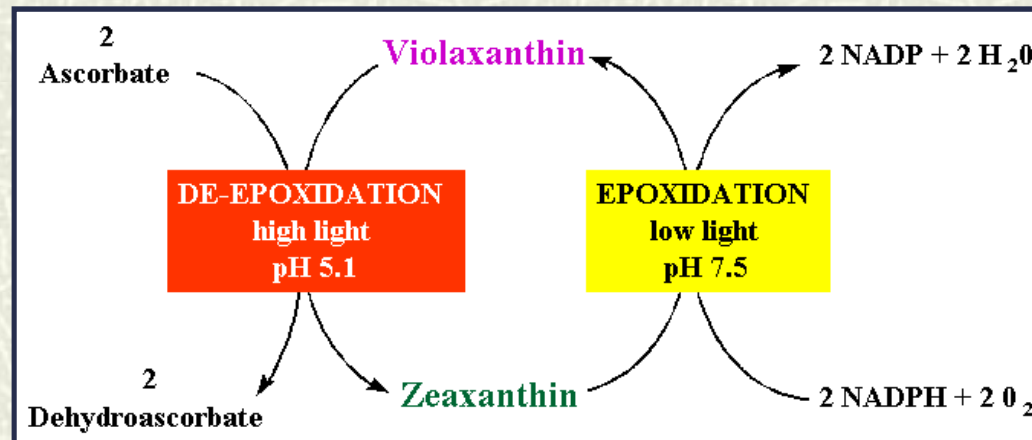


1. Stabilizzazione delle membrane, evitando perossidazione lipidica
2. Reazione con fattore di stress o ROS a produrre RES (metacroleina e metilvinilchetone), che innescano risposte di difesa antiossidanti
3. Comportamento antiossidante diretto

Liriodendron tulipifera, O₃, 120 ppb, 45 gg., 5 h d⁻¹



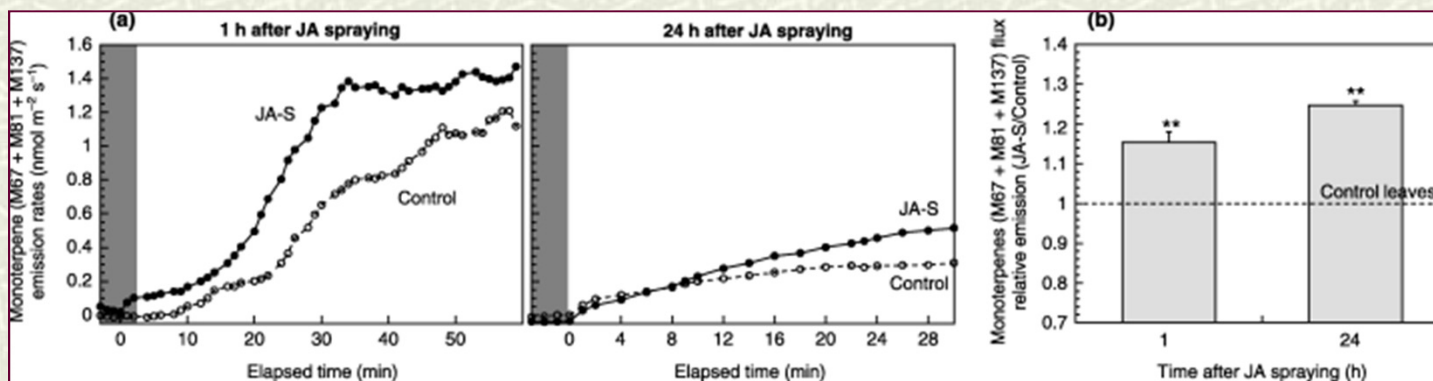
	Control	Ozone		
		0 h	24 h	48 h
Neoxanthin	0.87 ± 0.034 b	0.56 ± 0.107 a	0.60 ± 0.089 a	0.65 ± 0.164 a
Lutein	0.18 ± 0.008 d	0.10 ± 0.011 a	0.12 ± 0.014 b	0.16 ± 0.004 c
β-carotene	5.86 ± 0.965 b	4.61 ± 0.394 a	4.50 ± 0.252 a	4.66 ± 0.506 a
Chl <i>a</i>	16.3 ± 0.88 b	12.7 ± 2.08 a	13.7 ± 0.46 a	12.7 ± 1.14 a
Chl <i>b</i>	7.23 ± 0.589 b	5.45 ± 0.500 a	5.49 ± 0.444 a	5.48 ± 0.619 a
Violaxanthin	1.09 ± 0.056 a	1.37 ± 0.096 b	1.34 ± 0.110 b	1.53 ± 0.162 c
Antheraxanthin	0.40 ± 0.008 a	1.01 ± 0.011 c	0.82 ± 0.014 b	0.88 ± 0.024 bc
Zeaxanthin	0.29 ± 0.004 a	0.52 ± 0.008 b	0.58 ± 0.006 c	0.69 ± 0.005 d
VAZ	1.16 ± 0.048 ay	1.51 ± 0.099 b	1.47 ± 0.122 b	1.67 ± 0.169 c
Total xanthophyll	2.21 ± 0.080 ay	2.17 ± 0.135 a	2.20 ± 0.067 a	2.49 ± 0.093 b
DEPS	4.61 ± 0.781 ay	7.85 ± 0.737 by	7.48 ± 0.591 b	8.08 ± 1.309 b
Total chlorophyll/VAZ	20.2 ± 1.05 c	12.0 ± 1.44 ab	13.1 ± 1.33 b	10.9 ± 0.61 a



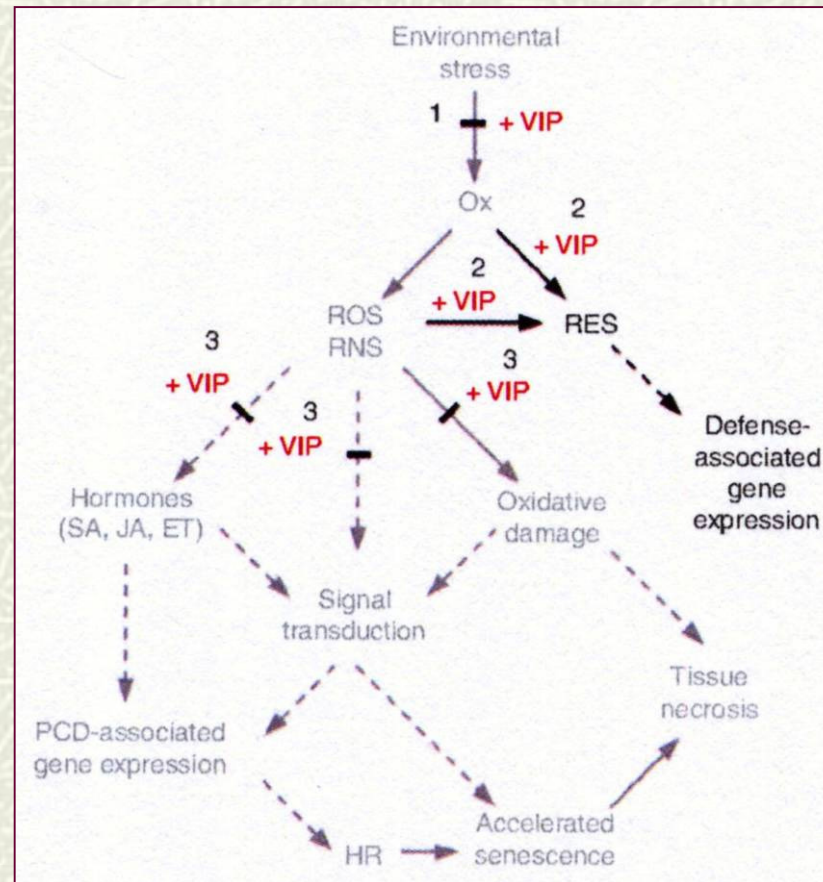
La produzione di isoprenoidi volatili costituisce una perdita irreversibile per la pianta, in termini di C ed energia

Emissioni costitutive da parte di emettitori di isoprene e monoterpeni sono nel *range* di 1-100 nmol m⁻² s⁻¹, che corrisponde all'1-2% del C fissato con la fotosintesi

In condizioni di *stress* (eccesso di temperatura e luce, carenza idrica) questa emissione non solo è sostenuta, ma anche aumentata



“Single biochemical mechanism for multiple physiological stressors” model



1. Stabilizzazione delle membrane, evitando perossidazione lipidica
2. Reazione con fattore di stress o ROS a produrre RES (metacroleina e metilvinilchetone), che innescano risposte di difesa antiossidanti
3. Comportamento antiossidante diretto

Phillyrea latifolia, O₃ 110 ppb, 5 h d⁻¹, 90 giorni

Conservazione della risposta a stress da O₃

Tra le 41 sequenze espresse solo 5 non sono ancora associate a specifica funzione

Tre sono invece specificatamente correlate a ruoli nel metabolismo secondario

Biosintesi di isoprenoidi, poliammine, lignine

Table 1. Homologies with sequences in protein databases of *Phillyrea latifolia* cDNA sequences preferentially expressed in ozonated plants. Abbreviation: Express. = Expression; and trans. = transporter.

Clone	bp	Accession No.	Express. pattem	Homology (Acc. No.)	BLAST score	Species	Homologous protein	Function
16) OPHH-72 ¹	465	AM262950	II	AF396829	216	<i>Hevea brasiliensis</i>	3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase	Metabolism (isoprenoids biosynthesis)
17) OPHH-80A ¹	560	AM262952	II	AB194102	224	<i>Prunus persica</i>	Arginine decarboxylase	Metabolism (polyamines biosynthesis)
18) OPHH-82 ¹	366	AM262953	II	AAY26021	168	<i>Eucommia ulmoides</i>	Cinnamyl alcohol dehydrogenase	Metabolism (ligninins and lignans)

IPP
Arginina decarbossilasi
CAD (cinnamil alcool deidrogenasi)

... Per non perdere la rotta!

Stress ossidativo:

- ✓ condizione patologica molto comune in piante
- ✓ è dovuto ad accumulo di ROS endogeni ed esogeni
- ✓ la pianta è dotata di meccanismi endogeni atti a prevenire l'ossidazione

Metabolismo secondario

- ✓ la via del **precorsinato**: lo *switch* che modula il flusso di C dal metabolismo primario a quello secondario
- ✓ **fenilpropanoidi**: coinvolti in tutte le risposte della pianta a *stress* biotici e abiotici
- ✓ **isoprenoidi**: antiossidanti diretti e indiretti
- ✓ **poliammine**: neutralizzazione dei ROS o inibizione della sintesi di ET