

# Analisi di MDA e pigmenti sui licheni epifiti: un nuovo approccio sperimentale

Bove Federica<sup>1,2</sup>, Alessandra Campanella<sup>1</sup>, Stefano Bertuzzi<sup>2</sup>, Mauro Tretiach<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro-ambientali, Università di Pisa

<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Trieste

federica@bove-italy.com ; alessandra.campanella@for.unipi.it; sbertuzzi@units.it; tretiach@units.it

## INTRODUZIONE

La malondialdeide (MDA) è uno dei prodotti finali della degradazione ossidativa degli acidi grassi insaturi e, grazie alla sua reattività con l'acido tiobarbiturico, con il quale produce un addotto rilevabile spettrofotometricamente, può essere utilizzata per quantificare l'entità dell'alterazione delle membrane cellulari. Il saggio dell'MDA è ampiamente utilizzato su materiale vegetale. Nei licheni è, invece, meno diffuso e richiede la verifica dei protocolli sperimentali in uso, anche in relazione alla complessità intrinseca all'ecosistema fungo+alga, ma soprattutto in funzione delle modifiche indotte dai processi di disidratazione e reidratazione, che esercitano importanti effetti sulla funzionalità delle membrane.

I pigmenti fotosintetici accessori sono coinvolti in meccanismi biochimici di protezione cellulare, come ad esempio la dissipazione dell'eccesso di energia sotto forma di calore.

## OBIETTIVI

1. Delineare le risposte del lichene *Flavoparmelia caperata* (L.) Hale all'esposizione a differenti umidità relative e successivi trattamenti pre-stoccaggio in termini di integrità delle membrane e composizione del pool di pigmenti fotosintetici accessori.
2. Identificare le condizioni ottimali di raccolta del materiale per esperimenti o campagne di biomonitoraggio.

## MATERIALI E METODI

Porzioni di tallo di *F. caperata* sono stati esposti per una settimana a tre umidità relative (UR) (~100%, ~90%, ~76%), 20±1 °C, 19±2 μmol fotoni m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, con un ciclo luce/buio di 12/12 ore. Prima di essere stoccati a -20 °C, i campioni subiscono differenti trattamenti al buio: congelamento rapido (direttamente a -20 °C), congelamento lento (3 ore a 0-4 °C); essiccazione rapida (in silica gel per 24 ore) o lenta (3 ore a temperatura ambiente e successivamente in silica gel per 24 ore). I campioni sono stati macinati in azoto liquido, e quindi sono stati determinati i contenuti in MDA e pigmenti fotosintetici accessori, adattando, rispettivamente, i protocolli di Heath e Packer (1968) e Kevers e Gaspar (1985).

Parametro	Umidità Relativa (UR) %	Trattamento pre-stoccaggio (TPS)				ANOVA a 2 vie	
		Congelamento		Essiccazione			
		Rapido	Lento	Rapida	Lenta		
MDA (nmol g <sup>-1</sup> PS)	100%	1,67±0,909 de	1,60±0,134 de	1,76±0,203 e	0,72±0,126 ab	UR	**
	90%	1,64±0,098 de	1,58±0,079 de	1,14±0,227 abcd	1,12±0,281 abcd	TPS	ns
	76%	0,59±0,194 a	1,00±0,245 abc	1,16±0,339 bcd	1,33±0,220 cde	UR x TPS	**
VAZ (μmol g <sup>-1</sup> PS)	100%	0,95±0,027 e	0,55±0,107 cd	0,36±0,080 ab	0,39±0,015 abc	UR	ns
	90%	0,52±0,127 bcd	0,65±0,203 d	0,32±0,075 a	0,41±0,121 abc	TPS	***
	76%	0,59±0,135 d	0,61±0,052 d	0,51±0,105 bcd	0,38±0,066 abc	UR x TPS	**
DEPS %	100%	36±4,0 e	11±1,6 c	10±0,3 bc	11±0,7 c	UR	***
	90%	17±0,8 d	10±0,4 bc	12±2,3 c	5±0,1 a	TPS	***
	76%	11±0,8 c	8±0,5 b	11±1 c	5±0,6 a	UR x TPS	***

Contenuti di MDA e di pigmenti fotosintetici accessori nei campioni di *F. caperata*. I valori riportati rappresentano la media ± deviazione standard. I dati sono stati elaborati con Analisi della Varianza (ANOVA) a due vie (fattori: umidità relativa e trattamento pre-stoccaggio) e Fisher's LSD test; a lettere diverse (per ciascun parametro, sia in colonna che in riga) corrispondono differenze statisticamente significative; ns = non significativo; \*\* = P<0,01; \*\*\* = P<0,001; DEPS = indice di de-epossidazione; PS = peso secco; VAZ = contenuto dei pigmenti del ciclo delle xantofille

## RISULTATI E DISCUSSIONE

Per i campioni sottoposti ad UR di 76% o 90%, le modalità di trattamento pre-stoccaggio non determinano sostanziali alterazioni a carico dell'indice di perossidazione lipidica; in essi tuttavia la rapidità di congelamento/essiccazione determina maggiori livelli di DEPS. L'essiccazione sembra invece deprimere i livelli delle xantofille coinvolte. I campioni esposti al 100% di UR subiscono un'alta perossidazione lipidica in tutti i trattamenti, ad eccezione dell'essiccazione lenta. Essi comunque con il congelamento sembrano accumulare più xantofille, soprattutto nelle forme de-epossidate (verificandosi un incremento in DEPS).

I risultati confermano che i diversi regimi di UR possono influire sulle risposte fisiologiche di *F. caperata* e verosimilmente sull'attivazione di meccanismi di difesa, quali il ciclo delle xantofille, in risposta alla riduzione più o meno repentina della temperatura e/o dello stato idrico.

## BIBLIOGRAFIA

- Heath R. L. and L. Packer (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts. Archives of Biochemistry and Biophysics 125: 189-198
- Kevers C. and Th. Gaspar (1985) Soluble, membrane and wall peroxidases, phenylalanine ammonia-lyase, and lignin changes in relation to vitrification of carnation tissues cultured in vitro. Journal of Plant Physiology 118: 41-48

Questo studio rientra nel progetto "Licheni urbani e climi future previsti: l'importanza di essere (metabolicamente) attivi" (Tree City Lichens) parte del PRIN 2011-11 "Progettare la città verde nell'era del cambiamento globale: funzioni degli alberi urbani e loro adattabilità nelle future condizioni climatiche" (TreeCity)