

PIANTE, CAMBIAMENTO CLIMATICO E STRESS OSSIDATIVO

Giacomo Lorenzini, Elisa Pellegrini, Lorenzo Cotrozzi, Gemma Bianchi e
Giuseppe Quaratiello

Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro-ambientali dell'Università
di Pisa

Indice degli argomenti

- LO STRESS OSSIDATIVO: COME, QUANDO E PERCHÉ
- CAMBIAMENTO CLIMATICO, PIANTE E STRESS OSSIDATIVO
 - Squilibri termici e stress ossidativo
 - Carezza idrica (o, meglio, siccità) e stress ossidativo
 - Salinizzazione della falda e stress ossidativo
 - Squilibri luminosi e stress ossidativo
 - Inquinamento da ozono e stress ossidativo
- CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

* * *

Durante il loro ciclo, gli organismi vegetali si trovano frequentemente a fronteggiare condizioni di natura chimica o fisica non ottimali, complessivamente denominate “stress abiotici”. Più precisamente, i nuovi scenari ambientali dovuti ai noti fenomeni legati al riscaldamento globale sono responsabili dell'induzione di importanti stati di sofferenza in tutti i viventi. E sono soprattutto le piante, che – essendo sessili e radicate a terra – non possono riposizionarsi per gestire al meglio le situazioni avverse e devono affrontarle con meccanismi endogeni (enzimatici e non), per non incorrere in effetti negativi di ordine fisiologico e produttivo. Uno squilibrio a livello cellulare tra ossidanti e antiossidanti (in favore dei primi) e, più in generale, una alterazione nelle vie *redox* di segnalazione e controllo sono le conseguenze più comuni in queste circostanze; esse danno vita al fenomeno noto come “stress ossidativo”, la cui principale causa è una eccessiva produzione di specie chimiche ossidanti altamente reattive, in particolare i radicali liberi. Questi sono essenziali per il corretto funzionamento dell'organismo, ma la loro presenza deve essere sempre mantenuta entro una certa soglia considerata fisiologica. Se le difese antiossidanti sono insufficienti a mantenere lo stato di ossidoriduzione in equilibrio e la situazione di stress è prolungata, possono generarsi alterazioni vitali che, a lungo andare, diventano irreversibili.

LO STRESS OSSIDATIVO: COME, QUANDO E PERCHÉ

Tutti gli organismi viventi terrestri nascono e crescono in presenza di una atmosfera ossidante, composta per 20,9 % da ossigeno molecolare (nell'aria secca a livello del mare). Diversi sottoprodotti del metabolismo dell'ossigeno, caratterizzati da notevole ubiquità e potenzialità tossica, sono dotati di uno o più elettroni spaiati nell'orbitale più esterno (quindi sono “radicali liberi”), da cui deriva una spiccata reattività nei confronti di tutte le classi di biomolecole; essi sono definiti dall'acronimo

‘ROS’ (per *Reactive Oxygen Species*, specie reattive dell’ossigeno) e svolgono ruoli fondamentali nel metabolismo, sia della cellula sana, che in quella afflitta da un agente esterno di varia natura. Le ROS sono rappresentate da radicali liberi centrati sull’ossigeno (ossiradicali), come il radicale idrossilico $\bullet\text{OH}$ e l’anione superossido $\bullet\text{O}_2^-$; inoltre comprendono altre specie non radicaliche, quali il perossido di idrogeno (acqua ossigenata, H_2O_2) e l’ossigeno singoletto ($^1\text{O}_2$). Quest’ultimo è uno stato eccitato dell’ossigeno molecolare che si forma quando sufficiente energia viene assorbita dalla molecola in modo da attuare una inversione di *spin* di uno degli elettroni spaiati accompagnata da uno spostamento in un diverso orbitale.

In particolare, la riduzione univalente dell’ossigeno con l’aggiunta di un elettrone per volta nell’orbitale esterno produce ROS, secondo la seguente catena di eventi (Figura 1):

1. Partendo da una molecola di ossigeno e aggiungendo un elettrone nell’orbitale di valenza otteniamo il $\bullet\text{O}_2^-$, che è quindi il primo prodotto della riduzione univalente dell’ossigeno. Tale radicale può essere prodotto accidentalmente, a livello di trasporto elettronico microsomiale per trasferimento di un elettrone dai trasportatori di elettroni direttamente all’ossigeno, che pertanto viene ridotto a $\bullet\text{O}_2^-$ (Reazione 1). Esso reagisce con proteine, lipidi, polisaccaridi e acidi nucleici, ma la sua reattività è piuttosto bassa. L’azione tossica dipende in larga misura dalla produzione di H_2O_2 .
2. Nelle cellule il radicale superossido viene, appunto, rapidamente trasformato (‘dismutato’) in H_2O_2 e ossigeno, attraverso una reazione nella quale una molecola di superossido si ossida, diventando ossigeno, e l’altra molecola si riduce e si protona, diventando H_2O_2 (Reazione 2).
3. In base alla reazione di Haber-Weiss, il superossido reagisce con acqua ossigenata e dà luogo alla formazione di idrossile, che è una specie estremamente reattiva nei confronti di specifici bersagli biomolecolari (lipidi, acidi nucleici e proteine); con una emivita dell’ordine di microsecondi, esso rappresenta la minaccia maggiore, essendo capace anche di proprietà mutagene (Reazione 3).
4. Essendo un anione altamente reattivo, il superossido tende a reagire con l’ambiente biologico circostante e può essere convertito, mediante diverse tipologie di reazioni, in varie specie chimiche. Ad esempio, può interagire con lo ione ferrico Fe^{3+} ed essere ossidato in ossigeno molecolare, con la parallela riduzione di Fe^{3+} in ione ferroso Fe^{2+} (Reazione 4).
5. L’acqua ossigenata può essere dissociata tramite il metodo Fenton, il quale rientra nelle tecniche di ossidazione avanzata. Dal punto di vista chimico, il perossido di idrogeno viene scisso in idrossile e ione idrossido e tale reazione è promossa dalla presenza di sali di metalli di transizione (ad esempio di ferro) (Reazione 5).

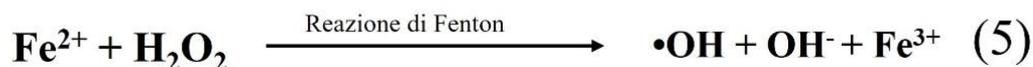
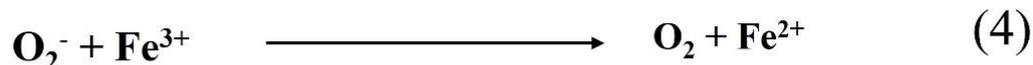
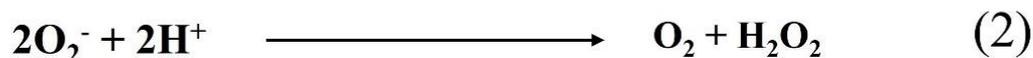
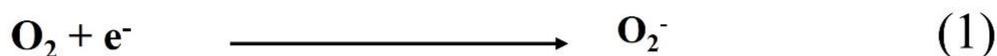


Figura 1: Schematizzazione delle reazioni chimiche alla base della formazione delle *Reactive Oxygen Species* (da: M. Reverberi, M. Ruocco, L. Covarelli, L. Sella, 2022, *Patologia vegetale molecolare*, Piccin, Padova, pp. 448-452). Abbreviazioni: e^- , elettrone; Fe^{2+} , ferro bivalente; Fe^{3+} , ferro trivalente; H^+ , idrogeno; H_2O_2 , acqua ossigenata; O_2 , ossigeno; OH , idrossido.

La tabella 1 riassume le principali caratteristiche delle ROS.

Tabella 1: Proprietà e reattività di alcune *Reactive Oxygen Species* (ROS). Abbreviazioni: APX, ascorbato perossidasi; CAT, catalasi; GPX, glutazione perossidasi; PER, perossidasi; PRX, perossiredossina; SOD, superossido dismutasi; $t_{1/2}$, tempo di dimezzamento (modificato da R. Mittler, 2017; <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.08.002>).

ROS	$t_{1/2}$	Distanza migratoria	Reazione	Sito di produzione	Sistema scavenger
Anione superossido (O_2^-)	1-4 μ s	30 nm	Reagisce con proteine Fe-S Dismutato da H_2O_2	Apoplasto, cloroplasto, mitocondrio, perossisoma,	SOD, flavonoidi, ascorbato
Radicale idrossilico ($\bullet OH$)	1 ns	1 nm	Estremamente reattivo con tutte le biomolecole inclusi DNA, RNA, lipidi e proteine	Ferro e H_2O_2 (Reazione di Fenton)	Flavonoidi, prolina, zuccheri, ascorbato
Perossido d'idrogeno (H_2O_2)	>1 ms	>1 μ m	Reagisce con proteine legate ai residui di cisteina e metionina	Perossisoma, cloroplasto, mitocondrio, citosol, apoplasto	APX, CAT, GPX, PER, PRX, ascorbato, glutazione
Ossigeno singoletto (1O_2)	1-4 μ s	30 nm	Ossida lipidi, proteine (residui di Trp, His, Tyr, Met e Cys) e residui G di DNA	Membrane, cloroplasti, nuclei	Carotenoidi e α -tocoferoli

Il normale metabolismo prevede che si possano formare ROS anche in assenza di condizioni di stress: è questo il caso del mitocondrio, allorché le reazioni di trasferimento di elettroni non sono perfettamente coordinate con la formazione di ATP e pertanto gli elettroni possono 'sfuggire' e reagire con ossigeno molecolare. Più in generale, non vi è dubbio che le ROS siano presenti anche nella cellula 'sana': da tempo si è dimostrato come esse siano essenziali per garantire un corretto sviluppo dei processi cellulari di piante e animali. Ad esempio, il superossido è prodotto nel cloroplasto quando gli elettroni sono trasferiti direttamente dal fotosistema I (PSI) all' O_2 ; esso (insieme a H_2O_2) è anche necessario per la lignificazione e funziona da segnale nella risposta di difesa contro le aggressioni da patogeni. Altre azioni fisiologiche note sono la stimolazione della divisione e la differenziazione cellulare. La dipendenza delle funzioni vitali dalle ROS può essere illustrata da una tipica curva "a campana" (Figura 2): l'*optimum* dipende da parametri ambientali, tipologia di cellula e infiniti altri fattori che influenzano l'intero individuo. Un eccesso, ma anche un difetto, di ROS sono condizioni ostili per la salute della pianta, la quale deve cercare di mantenere un adeguato equilibrio *redox*, tra i livelli citostatici e quelli citotossici.

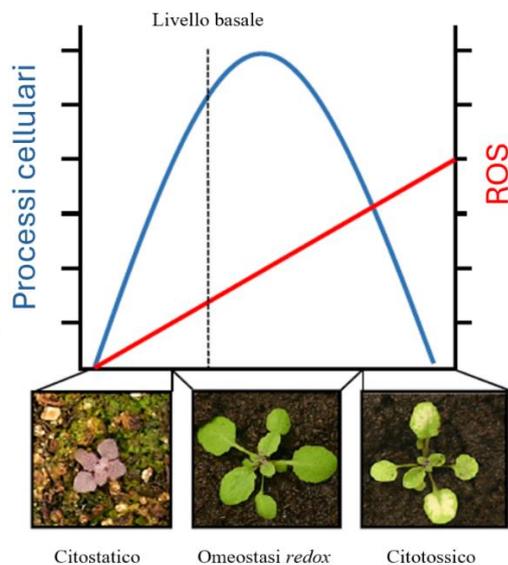


Figura 2: Schematizzazione grafica della dipendenza dei processi cellulari dalle concentrazioni delle *Reactive Oxygen Species* (ROS). La curva a campana (blu) rappresenta la dipendenza dal mantenimento di processi cellulari adeguati per l'aumento delle concentrazioni di ROS (linea rossa). Il normale metabolismo delle piante richiede quindi una gamma ottimale di livelli di queste specie che consentono di raggiungere il massimo potenziale di crescita e sviluppo (modificato da R. Mittler, 2017; <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.08.002>).

In realtà la pianta dispone di appropriati meccanismi per prevenire l'ossidazione dei propri componenti cellulari (Figura 3).

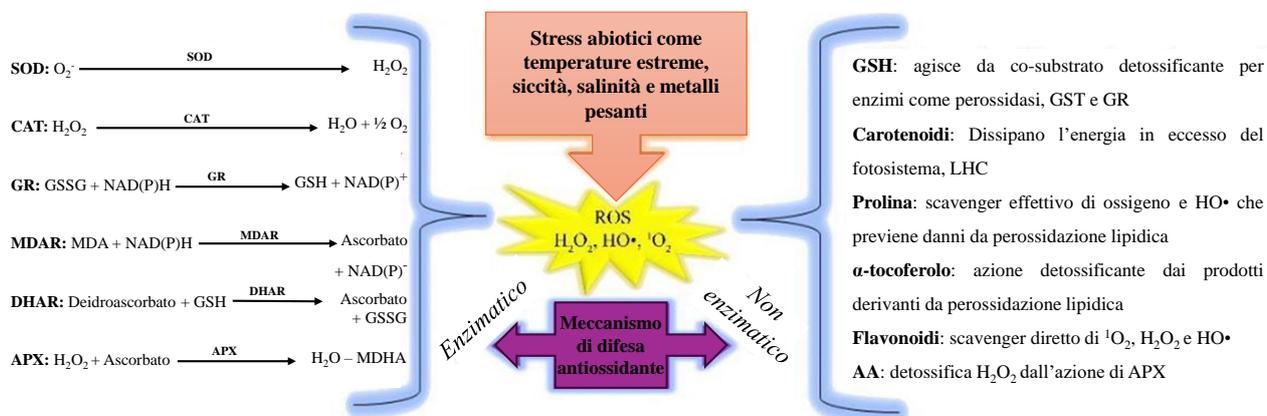


Figura 3: Meccanismi di difesa antiossidante enzimatici e non-enzimatici delle piante. Abbreviazioni: AA, acido ascorbico; APX, ascorbato perossidasi; CAT, catalasi; DHAR, deidroascorbato reductasi; GR, glutazione reductasi; GSH, glutatione; GSSG, glutatione ossidato; GST, glutatione S-transferasi; HO•, radicale idrossilico; H₂O, acqua; H₂O₂, perossido di idrogeno; LHC, *light harvesting complex*; NAD(P)⁺, nicotinammide adenina dinucleotide fosfato ossidato; NAD(P)H, nicotinammide adenina dinucleotide fosfato; MDA, malondialdeide; MDAR, monodeidroascorbato; MDHA, monodeidroascorbato; O₂, ossigeno; SOD, superossido dismutasi.

Tra i sistemi difensivi di natura catalitica, troviamo le superossido dismutasi (SOD), che convertono il superossido in H₂O₂ (anch'esso citotossico), il quale, a sua volta, è decomposto dalle catalasi ad H₂O e O₂; le perossidasi riducono H₂O₂ ad H₂O, utilizzando una gamma di donatori di elettroni presenti nella cellula. Radicali liberi sono neutralizzati anche mediante reazione diretta (reversibile o meno) con antiossidanti (molecole che fungono da accettori di elettroni), quali acido ascorbico (vitamina C), glutatione (un tripeptide composto da glicina, acido glutammico e cisteina), α-tocoferolo, β-carotene, carotenoidi (che rendono innocuo il singoletto di ossigeno) e i flavonoidi (che neutralizzano i radicali idrossilici, altrimenti non attivabili per via enzimatica). Queste sostanze

sono variamente localizzate a livello subcellulare. Il tasso di rigenerazione e quello di risintesi di questi ‘scavenger’ condizionano l’esito della risposta all’attacco ossidante. Pertanto, è fondamentale che si instauri un equilibrio dinamico (omeostatico) tra produzione e riduzione di ROS; nel caso di prevalenza dell’accumulo di radicali liberi la cellula entra in sofferenza (Figura 4).

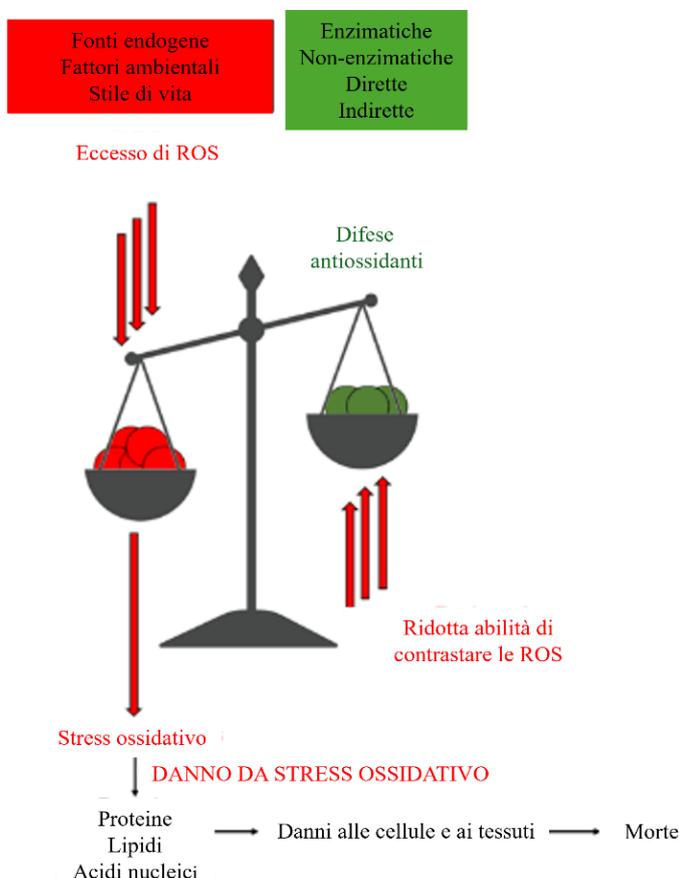


Figura 4: Schematizzazione grafica dell’equilibrio omeostatico tra produzione e riduzione delle *Reactive Oxygen Species* (ROS).

Lo stress ossidativo ha attirato l’attenzione di numerosi specialisti nel campo della Biologia: così, in Medicina umana troviamo come le ROS risultino coinvolte in numerosi stati patologici, cronici o acuti, dall’infarto al miocardio ai tumori, all’ictus, alla riduzione della longevità, ai morbi di Parkinson e di Alzheimer, all’aterosclerosi e ai processi infiammatori in genere. Una semplice ricerca per campi basata sulle parole chiave “*oxidative stress*” su una importante banca dati citazionale (Scopus, Elsevier, Amsterdam, Netherlands) individua in oltre 30.000 i lavori intercettati ogni anno al giorno d’oggi; erano circa 4.000 all’inizio di questo secolo. Per “*plants and oxidative stress*” i dati sono, rispettivamente, 4.000 e 300. Anche l’opinione pubblica è ormai consapevole dell’importanza della gestione dello stress ossidativo per il mantenimento di una buona condizione di salute. Non sorprende il successo commerciale di una serie di “integratori antiossidanti” per una supplementazione mirata della dieta.

CAMBIAMENTO CLIMATICO, PIANTE E STRESS OSSIDATIVO

Il cambiamento climatico consiste in una modificazione multidimensionale e simultanea nella intensità, frequenza e durata di numerosi parametri (a cominciare dalla temperatura) che influenza tutti gli organismi (animali, vegetali e microbici), imponendo loro condizioni di stress che modificano le prestazioni fisiologiche e produttive delle piante e gli equilibri tra specie nei sistemi complessi. I

cambiamenti climatici ci sono sempre stati, nella storia del Pianeta, ma i fenomeni ai quali abbiamo assistito negli ultimi 150 anni, primo tra tutti il riscaldamento climatico, sono anomali e conseguenza dell'uomo e dalle sue attività. A partire dalla rivoluzione industriale l'uomo ha emesso in atmosfera milioni di tonnellate di gas serra, primo tra tutti il diossido di carbonio, o anidride carbonica (CO₂). Tra le principali conseguenze di questo fenomeno possiamo citare l'aumento della temperatura media del Pianeta di 0,98 °C in media, che ha portato ad una diminuzione dei ghiacciai di circa il 12,8% per decennio, mentre i registri delle maree costiere mostrano un aumento medio annuo di 3,3 mm del livello del mare dal 1870. Lo stress ossidativo è una condizione a cui vanno incontro gli organismi quando sono esposti a queste nuove situazioni. L'ottimizzazione della risposta fisiologica a questo stress sarà probabilmente la chiave per la sopravvivenza.

Squilibri termici e stress ossidativo

La temperatura superficiale del pianeta (sia delle terre emerse che dei corpi d'acqua) sta aumentando rispetto ai dati di riferimento relativi all'era preindustriale (fine XVIII secolo). Non è questa la sede per discutere le cause del fenomeno, ma la comunità scientifica è concorde nell'individuare nelle attività antropiche e, in particolare nell'utilizzo di combustibili da fonti fossili (solidi, liquidi o gassosi) e nella conseguente liberazione in atmosfera di ingenti quantità di CO₂ la (quasi) totale responsabilità del fenomeno, che viene comunemente descritto come "effetto serra". Oggi la concentrazione media di CO₂ in troposfera si aggira intorno a 420 ppm (era molto meno di 300 ppm due secoli fa), e la temperatura è aumentata di almeno 1,5 °C rispetto al periodo di riferimento. Le variazioni termiche interessano tutti i periodi dell'anno, in termini sia di valori minimi che massimi, oltre – ovviamente – alle medie.

Tutte le funzioni vitali sono termo-dipendenti: dalla cinetica di un enzima, alla dinamica di popolazione di ecosistema. Anche per quanto riguarda il mondo vegetale, tra i fattori ambientali, la temperatura è quello che influenza notevolmente la crescita delle piante. Infatti, da essa sono strettamente dipendenti sia il processo fotosintetico, che la respirazione cellulare. I tessuti vegetali disidratati possono sopravvivere a temperature molto più alte rispetto a quelli in attivo accrescimento vegetativo. Ad esempio, i granuli pollinici del pino rosso tollerano picchi di temperatura di 70 °C e i semi dell'erba medica possono sopportare addirittura i 120 °C.

Le conseguenze degli squilibri termici sugli organismi vegetali possono essere distinte tra quelle a medio-lungo e breve termine. Ogni vegetale presenta proprie specificità nei confronti delle due temperature critiche ('cardinali'), la minima e la massima, al di sotto o al di sopra delle quali le funzioni vitali si arrestano, per riprendersi (eventualmente) con valori più idonei. Più in dettaglio, nella stessa pianta le diverse funzioni fisiologiche mostrano limiti ed esigenze termiche diverse. Questi parametri determinano la localizzazione degli areali di distribuzione geografica delle specie e la loro capacità competitiva nei confronti degli altri *taxa*. È inevitabile che i mutati scenari ambientali comportino, nel tempo, variazioni negli equilibri biologici, anche in relazione a eventuali interazioni complesse, come il ruolo degli impollinatori o quello degli organismi nocivi.

Ma è nelle situazioni di tipo acuto (alta intensità, breve durata) che si riscontrano gli effetti più eclatanti dell'impatto sulla vita vegetale. A livello biochimico e molecolare, le alte temperature inducono modifiche a carico della composizione delle membrane cellulari e tilacoidali, con alterazione del passaggio di ioni, disaccoppiamento dei meccanismi di assorbimento della luce (a causa della riduzione della quantità di pigmenti fotosintetici) e del trasporto elettronico (dovuto all'inibizione dell'attività del fotosistema II, PSII). Inoltre, lo *shock* termico può danneggiare la frazione proteica di membrana con conseguente precipitazione delle proteine cellulari. Nell'ambito degli stress da bassa temperatura, è possibile distinguere tra freddo ('*chilling*', tra 0 e +10 °C) e gelo ('*freezing*', valori al di sotto del punto di congelamento dei tessuti). Nel primo caso, viene osservata una riduzione della crescita vegetativa con la progressiva formazione di lesioni fogliari e il contemporaneo blocco della funzionalità del sistema radicale. Invece, il *freezing* provoca la formazione di cristalli di ghiaccio negli spazi intercellulari (ghiaccio extracellulare) portando a un

progressivo abbassamento della tensione di vapore in grado di richiamare attivamente l'acqua dall'interno delle cellule.

Un effetto del cambiamento climatico è rappresentato dall'occorrenza delle "ondate di calore", condizioni meteo estreme, caratterizzate da episodi di caldo intenso e prolungato. La responsabilità è attribuita ai variati equilibri atmosferici, con significative modifiche alla circolazione delle masse d'aria, cosicché l'anticiclone africano è libero di effettuare incursioni sempre più frequenti sull'area mediterranea, a seguito di un indebolimento dell'anticiclone delle Azzorre. Secondo la *World Meteorological Organization* un'ondata di calore si ha quando si verificano almeno sei giorni consecutivi in cui la temperatura massima è superiore al 90° percentile di quel determinato giorno rispetto al periodo climatologico di riferimento (1981-2010, o se disponibile 1991-2020). Tali condizioni rappresentano un rischio, di natura cardiaca e non solo, per la salute della popolazione, soprattutto anziana e fragile, a causa dello stress a cui viene sottoposto l'organismo. In Europa, sono state stimati in oltre 60.000 i decessi attribuibili alle temperature estreme dell'estate 2022 (18.000 in Italia).

Nella valutazione degli effetti delle ondate di calore sulla vita vegetale occorre considerare che, spesso, le elevate temperature sono accompagnate da analoghi periodi di siccità. In funzione di regime termico (in particolare delle massime), durata dell'esposizione, periodo dell'anno, capacità adattative della pianta e disponibilità idrica, gli effetti negativi sulle prestazioni fisiologiche sono molto variabili. In realtà il ruolo dell'acqua è strategico: il raffrescamento evaporativo attraverso il *Soil-Plant-Atmosphere-Continuum* può aiutare a ritardare e ridurre i danni. La Figura 5 riassume le principali risposte di una specie arborea durante un'ondata di calore, al variare della disponibilità idrica. Andando più nello specifico, una prima strategia di risposta alle alte temperature è legata all'aumento dei livelli di saturazione di acidi grassi dei lipidi di membrana allo scopo di ridurre e/o impedire il progressivo incremento di fluidità. Un'altra via di riparazione è rappresentata dall'accumulo intracellulare di soluti compatibili e dall'attivazione del sistema antiossidante. Infine, le cellule vegetali possono reagire allo *shock* termico attraverso la sintesi di specifiche proteine, denominate *Heat Shock Proteins* (HSP), che riconoscendo e legandosi a proteine denaturate o in uno stato instabile, sono in grado di stabilizzarle e ripararle. Riguardo allo stress da freddo/gelo, i meccanismi di difesa attivati dalle piante sono molto simili a quelli messi in atto in condizioni di stress idrico e salino. Per stabilizzare proteine e membrane durante la disidratazione indotta dalle basse temperature, le cellule possono rispondere incrementando la sintesi di osmoliti compatibili che in tal caso sono definiti 'crioprotettivi', come saccarosio, raffinosa, fruttani e sorbitolo. In più, la criostabilità delle membrane può essere favorita dall'aumento dei livelli di desaturazione degli acidi grassi. Infine, la regolazione stomatica controllata dall'ABA è un'ulteriore strategia di difesa attuata dalla pianta per tollerare le basse temperature, così come avviene in condizioni di *deficit* idrico.

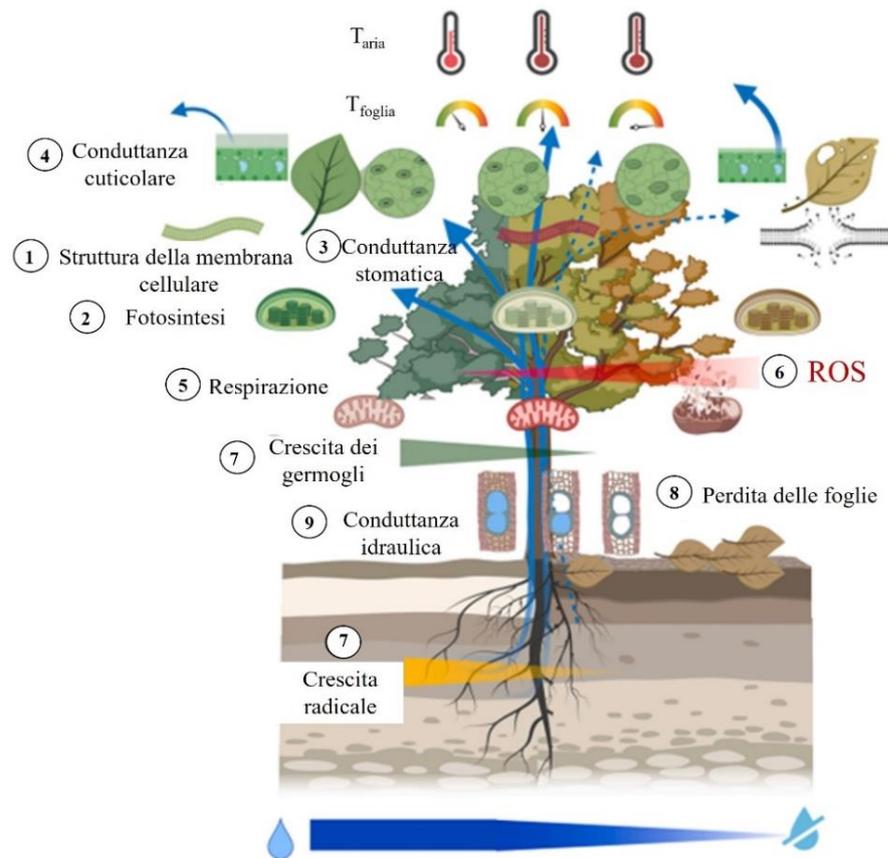


Figura 5: Schematizzazione grafica delle principali risposte di una specie arborea durante un'ondata di caldo quando la disponibilità di acqua diminuisce. Abbreviazioni: T_{aria} , temperatura dell'aria; T_{foglia} , temperatura delle foglie (modificato da R. López et al., 2022; <https://doi.org/10.1016/j.flora.2022.152148>).

Carenza idrica (o, meglio, siccità) e stress ossidativo

Il termine 'siccità' indica una condizione naturale e temporanea in cui si manifesta una severa diminuzione della disponibilità idrica di norma a seguito di carenza di precipitazioni. I nuovi scenari climatici sono caratterizzati anche da una irregolarità di regimi e modelli pluviometrici, che spesso intervallano lunghi/lunghissimi periodi di asciutta a nubifragi e altri eventi catastrofici, come le "alluvioni lampo". L'aumento delle temperature, poi, comporta un incremento dei fenomeni di evapotraspirazione, con conseguente ulteriore ridotta disponibilità di acqua per le radici.

Nelle nostre regioni stiamo assistendo a un aumento significativo delle superfici di terreno agrario interessate da situazioni di estrema aridità. L'acqua costituisce l'80-85% del peso fresco di una pianta e svolge ruoli strategici: (i) è reagente nella fotosintesi e partecipa a tutti i processi idrolitici, (ii) consente il trasporto a distanza dei soluti, (iii) regola la temperatura mediante i processi di traspirazione, (iv) assicura il turgore cellulare che è una condizione necessaria per il rigonfiamento e la crescita cellulare, e così via. È inevitabile che la carenza idrica rappresenti di gran lunga la principale manifestazione di stress abiotico nel mondo vegetale, fattore limitante le prestazioni produttive e responsabile primario della distribuzione naturale delle specie. Di norma, esso si abbina ad altre condizioni ostili, come l'eccesso di temperatura e la salinizzazione del substrato. La successione di sintomi che caratterizzano lo stress idrico inizia con l'epinastia (anomalo allargamento dell'angolo di inserzione del picciolo fogliare sul ramo che provoca una curvatura verso il basso della lamina fogliare), che precede appassimento (la temporanea perdita di turgore da parte delle cellule; fenomeno elastico, cioè reversibile), clorosi e necrosi fogliare, e, infine, avvizzimento (con plasmolisi, ovvero riduzione del volume cellulare e successivo distacco della membrana plasmatica

dalla parte cellulare; fenomeno plastico, cioè definitivo). Segue la morte dell'individuo se non si ristabiliscono condizioni minime di disponibilità di acqua.

Le piante hanno evoluto strategie di resistenza e adattamento per sopravvivere ed espletare le proprie prestazioni fisiologiche in ambienti asciutti (Figure 6-7): si va da *escape* (raccorciamento del ciclo per evitare i periodi più ostili), ad *avoidance* (riduzione delle perdite per traspirazione attraverso la regolazione delle aperture stomatiche e l'aumento dell'attività radicale), a *tolerance* (diminuzione di biomassa, aggiustamento osmotico attraverso l'accumulo di soluti osmoticamente attivi, difesa antiossidante).

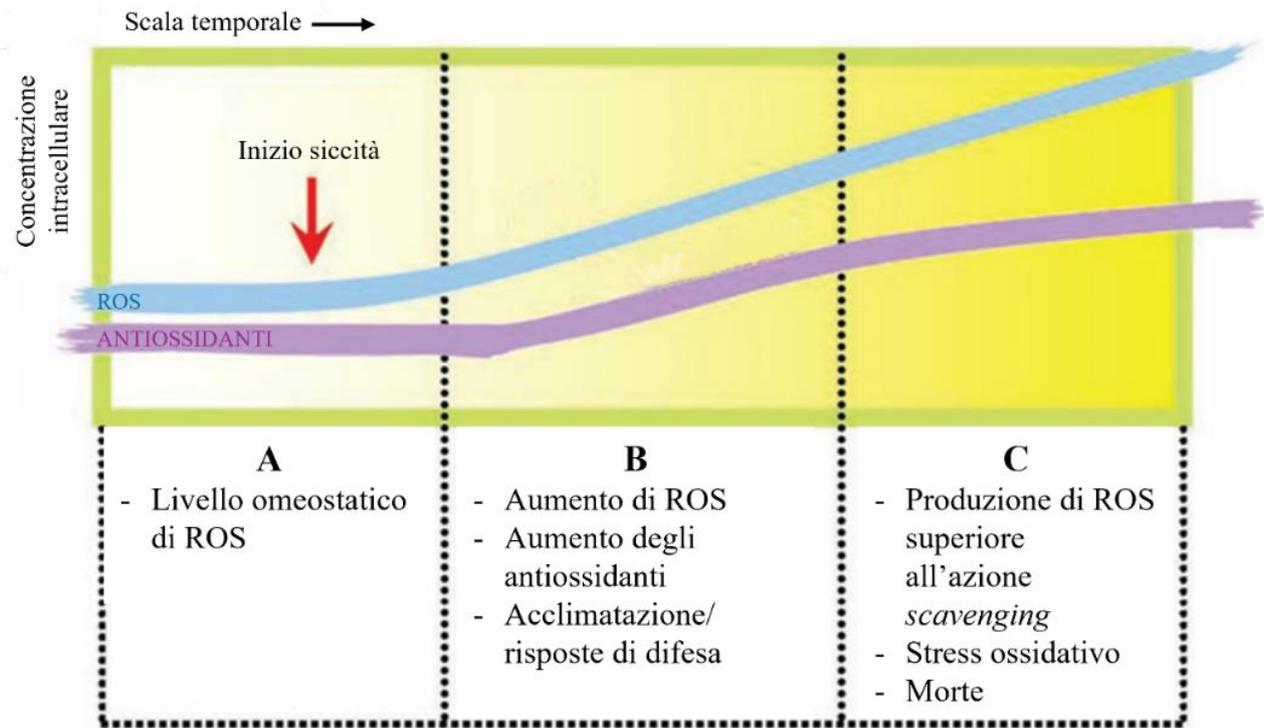


Figura 6: Schematizzazione grafica del livello omeostatico di *Reactive Oxygen Species* (ROS) alterato dalla siccità (A); l'aumento della produzione di ROS a causa della chiusura stomatica cambia l'equilibrio attivando così le risposte di difesa (B); se prolungato, lo stress da siccità comporta una produzione elevata di ROS che non può essere bilanciata dal sistema antiossidante, portando a eventi ossidativi dannosi che provocano la morte cellulare (C) (modificato da M.H. Cruz de Carvalho, 2008; <https://doi.org/10.4161/psb.3.3.5536>).

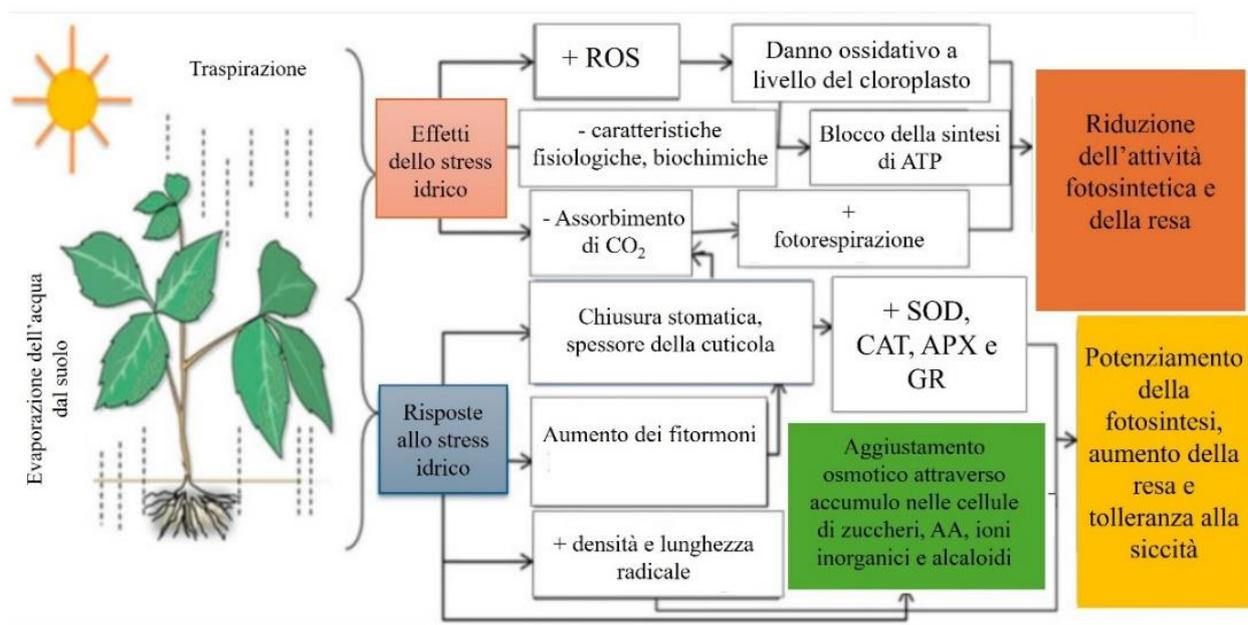


Figura 7: Schematizzazione grafica di effetti avversi e adattamenti delle piante alla siccità (modificato da M. Seleiman et al., 2021; <https://doi.org/10.3390/plants10020259>). Abbreviazioni: SOD, superossido dismutasi; CAT, catalasi; APX, ascorbato perossidasi; GR, glutazione riduttasi; ATP, adenosina trifosfato; CO₂, diossido di carbonio; AA, amino acidi.

Salinizzazione della falda e stress ossidativo

Le nuove condizioni climatiche e, in particolare l'irregolarità delle precipitazioni, contribuiscono all'accumulo di sali solubili nel terreno, con implicazioni sulla fisiologia (e produttività) delle piante e sulla struttura stessa del substrato. La salinizzazione della falda assume particolare importanza anche in agricoltura, dove una ridotta crescita della pianta (dovuta da carenza di nutrienti) si traduce in una minore resa. Per questa ragione, spesso si ricorre all'uso di fertilizzanti per reintegrare i composti carenti. Tuttavia, l'uso intensivo di tale pratica, insieme all'avanzamento del cuneo salino nelle aree costiere, contribuisce all'aumento dei sali nel terreno. Questo fenomeno porta a gravi conseguenze sull'agricoltura e sull'ambiente, compromettendo la produzione alimentare (diminuzione di fertilità del suolo e disponibilità di terreni coltivabili) e la sostenibilità delle risorse idriche. Nelle aree costiere, il fenomeno è anche attribuibile all'intrusione di acqua salmastra, in relazione anche all'innalzamento del livello marino a seguito della fusione dei ghiacciai e dell'aumento di volume correlato con le nuove condizioni termiche. Sono in particolare quattro i cationi principali (Na⁺, K⁺, Mg²⁺ e Ca²⁺) e cinque gli anioni (HCO₃⁻, Cl⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻ e CO₃²⁻) che contribuiscono alla salinità, così come misurata in termini di conducibilità elettrica di un estratto saturo.

La salinizzazione dei suoli può causare nelle piante almeno due tipi di stress: il primo riguarda l'alterazione dello stato idrico, dovuto a una riduzione dell'approvvigionamento di acqua provocato dalla diminuzione della capacità dei tessuti radicali di assorbirla nel terreno poiché il suo potenziale idrico (ψ_w) diventa più negativo man mano che cresce la concentrazione di ioni in soluzione (con conseguente stress osmotico; Figura 8). Il secondo è dovuto alla tossicità indotta nei tessuti vegetali dall'alta concentrazione di alcuni ioni (quali Na⁺ e Cl⁻). In merito a questo, è importante sottolineare che qualsiasi elemento è in grado di risultare letale oltre una determinata soglia; tuttavia, ci sono alcuni elementi, nello specifico Na⁺, B⁻ e Cl⁻, che possono raggiungere livelli di tossicità estrema a concentrazioni realmente e facilmente riscontrabili. In linea generale, l'impatto della salinità è abbastanza diretto, per questo viene definito "shock salino" e alcune delle conseguenze di questo

stress sulla vegetazione sono danni a processi fotosintetici, respirazione e metabolismo proteico, causati dalla perdita di permeabilità delle membrane, e la produzione di ROS, con seguenti effetti dannosi su lipidi di membrana, organuli, enzimi e acidi nucleici. Per quanto riguarda la tossicità ionica, l'alterazione del pH e dell'equilibrio osmotico, la competizione con altri elementi essenziali, l'incremento consistente della produzione di ROS, l'interferenza con i potenziali di membrana e, quindi, la compromissione delle attività delle pompe protoniche con tutte le conseguenze che ne derivano (una per tutte la perdita di turgore cellulare), sono solo alcuni degli aspetti su cui influisce l'iper-biodisponibilità salina.

Nelle piante che sono suscettibili, la resistenza a livelli moderati di salinità nel terreno dipende in parte dalla capacità delle radici di prevenire il raggiungimento dei germogli, da parte di ioni potenzialmente dannosi. Come succede anche in presenza di carenza d'acqua, le cellule vegetali possono regolare il loro potenziale idrico (Ψ_w) in risposta allo stress salino abbassando il loro potenziale osmotico. Due processi intracellulari che contribuiscono alla diminuzione di quest'ultimo sono: accumulo di ioni nel vacuolo e sintesi di soluti compatibili nel citosol. Questa compartimentazione, che può avvenire a sia livello epigeo, che ipogeo, viene definita *avoidance* citostologica. Inoltre, le piante possono tollerare questi stress avvalendosi di: esclusione (chiusura stomatica, sopra descritta), assorbimento selettivo, compartimentazione ed espulsione (per guttazione o attraverso essudati radicali), riducendo la superficie fogliare e/o lasciando cadere direttamente le foglie tramite l'abscissione.

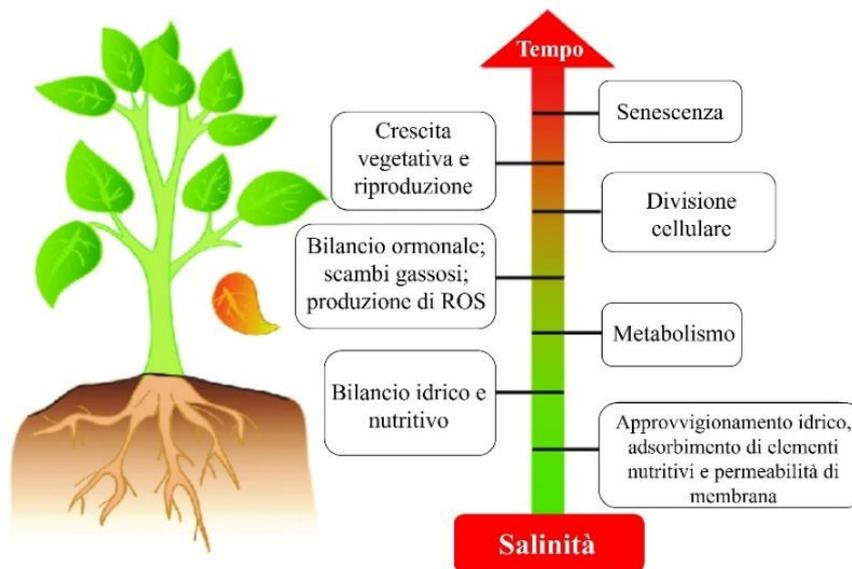


Figura 8. Schematizzazione grafica di ipotetici cambiamenti nella fisiologia di piante in condizioni di stress salino. Abbreviazioni: ROS, *Reactive Oxygen Species*.

Squilibri luminosi e stress ossidativo

La luce ha un ruolo chiave nella vita delle piante, non solo perché rappresenta una fonte insostituibile di energia, ma anche per la sua influenza sulle attività di crescita, sviluppo e riproduzione. Lo spettro della radiazione solare può essere suddiviso in 'sezioni', che giocano ruoli diversi e più o meno importanti nella vita delle piante, tre delle quali sono: ultravioletto (100-400 nm), visibile (400-700 nm) e infrarosso vicino (700-1300 nm). La radiazione nel visibile viene utilizzata dalle piante per il processo fotosintetico, mentre la luce nella prima e nella terza regione viene impiegata per processi quali la fotomorfogenesi (regolazione della crescita e dello sviluppo della pianta da parte della luce)

e il fototropismo (orientamento della pianta, o parti di essa, rispetto alla luce). Ne deriva che l'intensità della luce è un fattore fondamentale che controlla più funzioni vegetali come crescita delle foglie, germinazione dei semi, divisione cellulare, fotosintesi, fioritura ed espansione delle gemme.

In condizioni ordinarie, la fotosintesi è direttamente proporzionale alla quantità di radiazione assorbita (*Photosynthetic Photon Flux Density*), fino al raggiungimento di uno stato stazionario denominato "punto di saturazione". Quando, però, la radiazione che raggiunge la pianta supera la capacità di fissazione, si attivano dei meccanismi che dissipano termicamente l'energia in eccesso. Nelle condizioni in cui l'intensità luminosa e i tempi di esposizione non rispecchiano le necessità delle piante, si verificano condizioni di stress. In caso di irradianza elevata per un periodo d'esposizione prolungato, l'apparato fotosintetico può essere danneggiato, con conseguenze deleterie in termini di capacità assimilativa della pianta (fotoinibizione). Dall'altro lato, lo stress da scarsa illuminazione ostacola la circolazione di acqua, sostanze nutritive e prodotti fotosintetici che causano importanti perdite nella resa. L'ombreggiamento porta anche a modifiche morfo-anatomiche e fisiologiche. Per esempio, piante cresciute in ombra spesso manifestano la cosiddetta *Shade Avoidance Syndrome* e sono caratterizzate da steli allungati, internodi molto pronunciati e lamina fogliare più ampia, sottile e con un maggior contenuto di clorofilla, atta a massimizzare l'assorbimento della (scarsa) luce incidente. Ovviamente, come per qualsiasi altro tipo di stress, la risposta all'eccesso luminoso è influenzata dalle modalità di esposizione: se graduale permette di contenere gli effetti negativi, non solo attivando meccanismi di difesa, ma anche mettendo in opera cambiamenti morfologici. Si deve inoltre considerare lo stato di benessere complessivo della pianta e la presenza concomitante di ulteriori stress; ad esempio, carenza idrica, alte temperature e presenza di inquinanti rendono la pianta più sensibile anche a irradianze normalmente non dannose.

A livello biochimico, le principali strategie di difesa messe a punto dalle piante sono il *quenching* non fotochimico (che vede protagonisti i carotenoidi) e l'attivazione di sistemi antiossidanti in grado di contrastare le ROS, la riparazione del danno fotochimico e la sintesi di specifiche proteine (ad esempio la famiglia delle *Early light-induced proteins*) e pigmenti ad azione fotoprotettiva, come antociani e flavonoidi in senso lato. Nei casi, invece, di scarsa illuminazione la pianta si adatta ad assorbire quanta più energia luminosa possibile per ottimizzare il processo fotosintetico; generalmente, in questi casi la pianta tende a ridurre il suo punto di compensazione della luce e di saturazione (Figura 9).

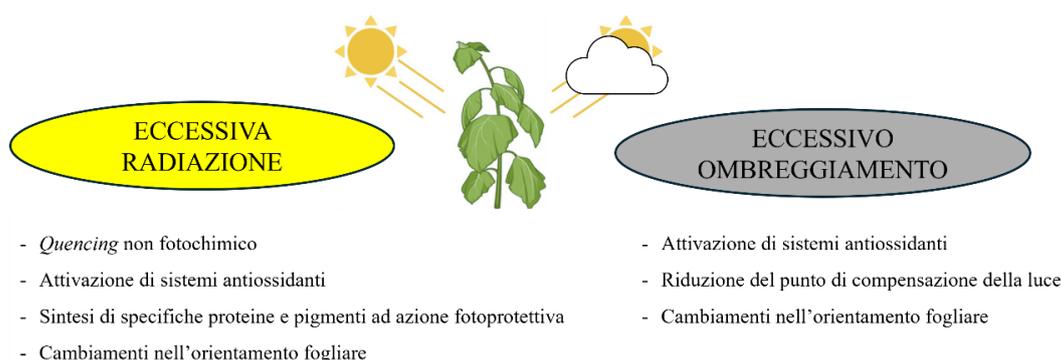


Figura 9: Schematizzazione grafica di adattamenti delle piante agli squilibri luminosi.

Inquinamento da ozono e stress ossidativo

Le aumentate temperature, specie nella stagione estiva, nonché la prevedibile maggiore intensità della radiazione solare (conseguenza, ad esempio, della minore presenza di nuvole), costituiscono fattori favorevoli alle reazioni fotochimiche che portano alla formazione di ozono (O₃) nella troposfera. In

breve, l'elevato calore che accompagna molti processi di combustione (ad esempio traffico veicolare e riscaldamento domestico) rompe l'inerzia chimica caratteristica della molecola di azoto a condizioni ordinarie e consente la sintesi di monossido di azoto (NO), la cui ossidazione spontanea genera biossido di azoto (NO₂), destinato a subire velocemente una fotolisi da parte della radiazione ultravioletta. Il singoletto di ossigeno così prodotto si combina con una molecola biatomica e dà luogo a O₃, che tende ad accumularsi (Figura 10). In realtà sono numerose le sostanze che partecipano allo "smog fotochimico", tra le quali anche i composti organici volatili di origine biogenica (BVOCs). I nuovi scenari climatici comportano un'aumentata emissione di BVOCs e una maggiore liberazione di ossidi di azoto da parte della microflora tellurica.

La tossicità di O₃ nei confronti di tutti gli organismi è nota da tempo e le piante rappresentano un bersaglio particolarmente sensibile. Il processo fitotossico dell'O₃ non è ancora del tutto chiaro: il gas entra nella foglia attraverso le aperture stomatiche e mediante una serie di passaggi arriva nella soluzione acquosa dell'apoplasto, dove rapidamente degrada in diversi derivati dell'O₂, responsabili dello stress ossidativo (ROS). I sintomi che le piante presentano a seguito di esposizioni croniche consistono in una riduzione della crescita e dell'attività fotosintetica, così come una senescenza anticipata; invece, quelli derivanti da esposizioni acute sono caratterizzati nelle specie sensibili da morte cellulare con danni visibili. In generale, gli effetti macroscopici visibili sulle piante esposte ad O₃ sono una iniziale aspecifica clorosi fogliare diffusa, seguita da fenomeni di 'bronzatura' o da comparsa di necrosi puntiformi (*stippling*) o localizzate (*flecking*). I sintomi sopra descritti si manifestano in maniera anche molto diversa tra loro in base alla specie colpita; tuttavia, quello più diffuso è l'induzione prematura della senescenza, non sempre rilevabile in campo. A questi effetti si aggiungono anche quelli che coinvolgono aspetti biochimici e fisiologici (danni 'subliminali') responsabili della riduzione della crescita e dei livelli quali-quantitativi della produzione. Nell'insieme, tali processi possono essere definiti "sindrome da stress da O₃".

Le piante possono adottare due linee di difesa nei confronti di questo inquinante: la prima è rappresentata dalla chiusura stomatica indotta dall'ABA, mentre la seconda è basata sulla degradazione della molecola in ROS quali H₂O₂, O₂⁻ e OH e la loro successiva detossificazione (ciclo di Halliwell-Asada).

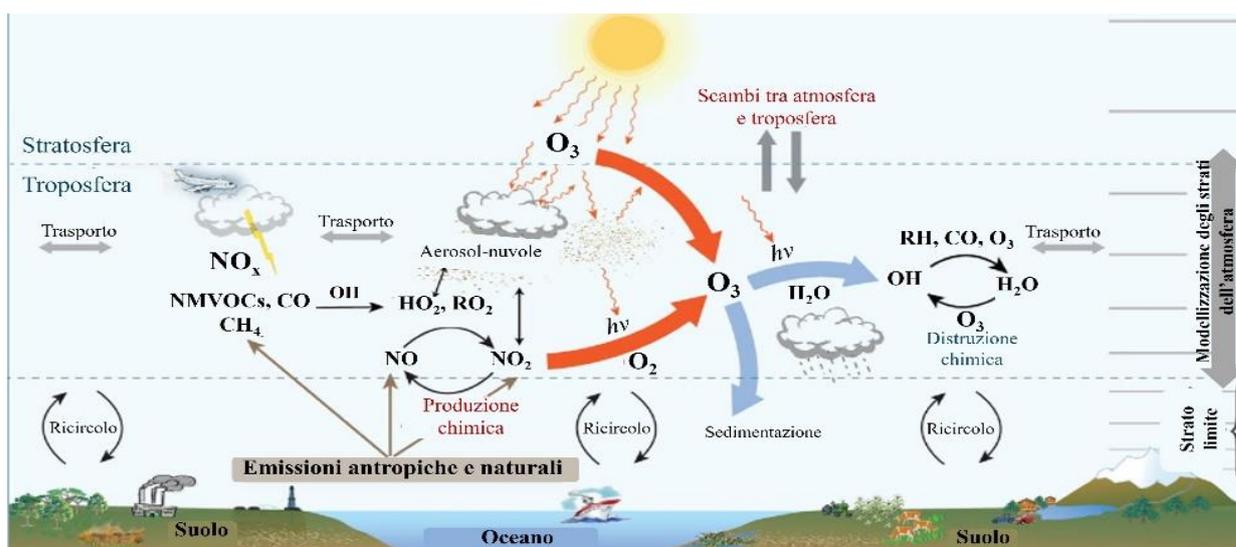


Figura 10: Schematizzazione grafica dei processi chimici e fisici che si verificano normalmente portando alla formazione dell'ozono troposferico (modificato da P.J. Young *et al.*, 2018; DOI: <https://doi.org/10.1525/elementa.265>). Abbreviazioni: CH₄, metano; CO, monossido di carbonio; HO₂, idroperossido; H₂O, acqua; NMVOCs, composti organici volatili non metanici; NO_x, ossidi di azoto; NO, monossido di azoto; NO₂, diossido di azoto; O₂, ossigeno; O₃, ozono; OH, idrossido; RH, radicale peridrossile; RO₂, radicali perossido.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Gli stress ambientali influiscono negativamente sulla crescita e sullo sviluppo di tutti gli organismi. Tali condizioni avverse alterano il metabolismo delle ROS; infatti, se le concentrazioni di tali specie superano i meccanismi difensivi, si ha un'alterazione dell'omeostasi *redox*, danneggiando così le macromolecole biologiche e risultando in uno stress ossidativo e morte delle cellule. Tuttavia, se il livello delle ROS è mantenuto al di sopra di quello citostatico e al di sotto di quello citotossico, esse possono giocare anche un ruolo 'positivo', regolando non solo proliferazione e differenziazione cellulare, ma anche il generale metabolismo sia degli organismi animali che vegetali.

Tuttavia, le attività antropogeniche stanno inducendo dei rapidi cambiamenti nella composizione dell'atmosfera, alterando non solo i globali flussi energetici, ma anche i tassi di precipitazione e di temperatura. Tutto ciò inasprisce gli eventi climatici estremi, come le ondate di calore, fenomeni di siccità estrema e inondazioni. Gli organismi possono fronteggiare le sfide del cambiamento climatico attraverso due meccanismi biologici, la migrazione e la plasticità. Le piante di domani dovranno essere necessariamente diverse da quelle di ieri, perlomeno per quanto riguarda la capacità di adattarsi alle condizioni climatiche estreme e di rispondere dal punto di vista molecolare e biochimico al generale aumento delle ROS legato ai futuri (e più frequenti) stress ossidativi indotti dal cambiamento climatico.