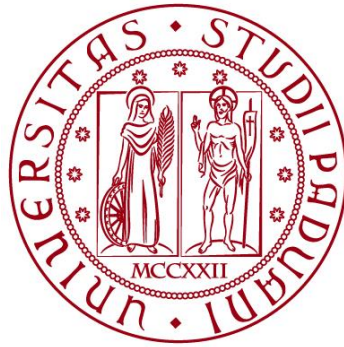


UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA

Corso di Laurea in Biologia



ELABORATO DI LAUREA

Risposte fisiologiche e anatomiche della radice di riso (*Oryza sativa*, L.) allo stress idrico

Tutor: Prof.ssa Elide Formentin

Dipartimento di Biologia

Laureanda: Crystal Vaccaro

ANNO ACCADEMICO 2021/2022

Indice

1. Introduzione.....	5
2. Anatomia e morfologia della radice.....	5
3. Come la pianta di riso risponde allo stress da siccità.....	8
4. Risposte della radice di riso allo stress da siccità.....	9
4.1 Risposte fisiologiche.....	10
4.2 Architettura delle radici in condizioni di siccità.....	11
4.3 Risposte anatomiche.....	13
4.4 Divisione e differenziazione cellulare in condizioni di stress.....	15
4.5 Variabilità genetica.....	16
5. Interazione tra fitormoni e stress abiotico.....	17
5.1 Etilene.....	18
5.2 Ruolo dell'etilene nella risposta alla siccità.....	20
6. Conclusioni e prospettive future.....	23
7. Bibliografia.....	25

1. Introduzione

Il riso (*Oryza sativa* L.) è l'alimento base per oltre il 50% della popolazione mondiale. Si prevede che la popolazione mondiale raggiungerà i 10 miliardi di persone entro il 2050 e richiederà 852 milioni di tonnellate di riso entro il 2035. [1] Il riso è una coltura ad alto consumo idrico e dal momento che è una coltura vulnerabile ad un'ampia gamma di stress abiotici, come siccità, metalli pesanti, salinità, freddo e sommersione, la disponibilità e l'accessibilità all'acqua dolce ne determinano la produzione globale. Gli attuali cambiamenti climatici imprevedibili stanno causando siccità frequenti e gravi. Tali circostanze sottolineano la necessità di comprendere la risposta delle piante allo stress da siccità, soprattutto nel riso, una delle più importanti colture di cereali. La conoscenza dei componenti della risposta allo stress da siccità è particolarmente importante per le radici delle piante, l'organo principale per l'assorbimento di acqua e nutrienti dal suolo. [2]

Gli stress, a cui le piante sono costantemente soggette durante le varie fasi di crescita e sviluppo, sono suddivisi in stress abiotici e biotici. Gli stress biotici possono essere controllati con pratiche di gestione sulle risposte delle piante, mentre gli stress abiotici, come le temperature estreme, i raggi UV e l'eccesso o la carenza di acqua nel suolo, sono un fattore dominante che limita la produttività delle colture in condizioni di campo. [2]

La siccità influisce massicciamente sulla crescita e sulla resa delle colture, induce una miriade di cambiamenti di natura biochimica, molecolare e fisiologica che si manifestano in una morfologia aberrante delle piante. È diventato un problema imminente che richiede la selezione di colture tolleranti e la modifica dei metodi di semina. [3]

2. Anatomia e morfologia della radice

Negli organismi pluricellulari, la crescita è definita dalla proliferazione cellulare che aumenta il numero di cellule e permette di aumentare la propria massa, e dall'espansione cellulare che ne aumenta il volume. Questi due processi sono strettamente coordinati. Nelle radici si assiste ad una crescita primaria che consiste nell'allungamento della radice lungo il suo asse longitudinale, e ad una crescita secondaria, la quale consiste nell'aumento di spessore della radice. [4]

Le piante sono organismi in grado di crescere e generare continuamente nuovi organi in risposta a stimoli ambientali e di sviluppo, grazie all'attività delle cellule staminali, raggruppate in regioni chiamate meristemi. Nella pianta modello *Arabidopsis thaliana* (L.), il meristema apicale radicale (RAM), determinato precocemente durante l'embriogenesi, genera la radice e contribuisce alla sua crescita primaria assiale. [4] Il RAM può essere descritto come una serie di cilindri concentrici in cui ogni cilindro rappresenta un tessuto che avvolge quelli interni (Fig. 1 (a)): il tessuto vascolare come tessuto interno (costituito da xilema e floema) che, assieme al periciclo che lo circonda, costituisce la stele; poi, l'endoderma; la corteccia; l'epidermide; la cuffia radicale laterale come tessuto protettivo più esterno. Alla base ed esternamente, la columella copre la punta del meristema. [4, 6]

Al momento della germinazione, le cellule staminali forniscono cellule figlie che proliferano per un numero finito di volte, generando la zona di divisione (DZ). Quando le cellule escono dal ciclo cellulare, acquisiscono una morfologia allungata che dà origine alla zona di allungamento (EZ). Successivamente, le cellule si differenziano acquisendo caratteristiche specifiche per il tessuto che andranno a formare in base alla loro posizione radiale, nella zona di differenziazione. La separazione funzionale tra le cellule che si dividono e quelle che si differenziano genera un confine di sviluppo chiamato zona di transizione (TZ). Pertanto, le attività delle diverse zone durante la crescita sono coordinate nel tempo e nello spazio. [4]

Al contrario, la crescita secondaria delle radici assicura la crescita in diametro delle radici e consiste nella generazione continua di tessuti vascolari grazie all'attività del cambio cribro-vascolare, il quale produce sia lo xilema, il tessuto vascolare interno che trasporta acqua, sia il floema, il tessuto vascolare esterno che trasporta zuccheri (Fig. 1 (b)). [4]

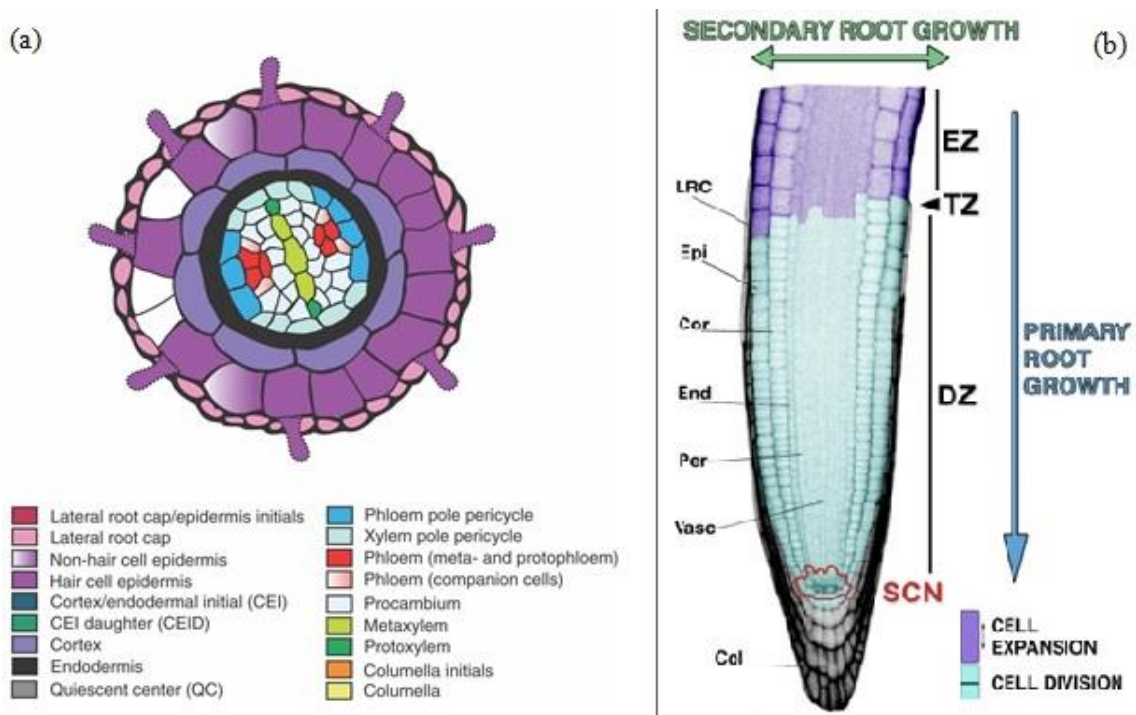


Figura 1: (a) Schema di una sezione trasversale della radice che mostra la simmetria intorno all'asse radiale per gli strati cellulari esterni (da WIREs Developmental Biology, modificato). (b) Panoramica del meristema apicale della radice di Arabidopsis, dei suoi tessuti e dei principali processi che contribuiscono alla sua crescita primaria e secondaria (da Svolacchia et al., 2020, modificato).

La pianta di riso è costituita da un denso apparato radicale fibroso composto da radici avventizie, chiamate anche nodali o radici della corona che si sviluppano dal fusto. La radichetta è la prima radice a crescere durante la germinazione ed è generata dal RAM. Successivamente, dal nodo del coleoptile emergono cinque radici della corona embrionale. La radichetta e le radici nodali possono poi ramificarsi e generare radici secondarie chiamate radici laterali fine e grosse a seconda del diametro (Fig. 2 (a-b-c)). [5]

Le radici di riso presentano un'organizzazione radiale simile a quella che si trova nella radice di Arabidopsis ma con un numero maggiore di strati cellulari nella corteccia. (Fig. 2 (d)) La particolare anatomia radiale delle radici di riso è data dall'adattamento alle condizioni semi-acquatiche ed è caratterizzata dalla differenziazione dell'aerenchima nella corteccia, un tessuto coinvolto nello scambio gassoso durante le condizioni di allagamento. [5]

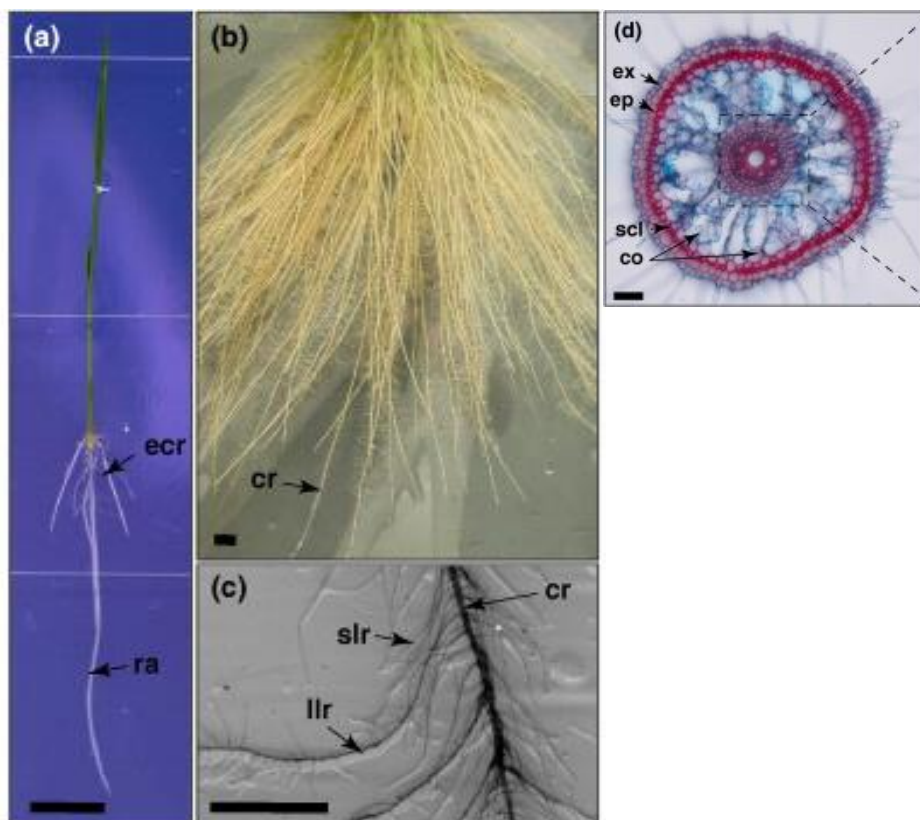


Figura 2: Architettura e anatomia delle radici di riso. (a) Apparato radicale della piantina (cultivar *nipponbare*) una settimana dopo la germinazione. (b) Sistema radicale 40 giorni dopo la germinazione. (c) Dettaglio di una radice della corona (cr). (d) Sezione trasversale di una radichetta, a circa 2 cm dalla punta della radice (da Coudert et al., 2010, modificato).

3. Come la pianta di riso risponde allo stress da siccità

La siccità è un fenomeno naturale causato dalla combinazione di forze idrologiche, climatiche e ambientali che determinano precipitazioni insufficienti per la produzione agricola per un periodo prolungato. [2] È uno stress abiotico in grado di intralciare la crescita e la produttività del riso e sta diventando una seria minaccia. Gli ormoni vegetali endogeni e le specie reattive dell'ossigeno hanno un'importanza fondamentale nella tolleranza alla siccità, la quale induce modifiche nelle proprietà biochimiche, molecolari e fisiologiche delle piante. [1, 7]

Il riso ha sviluppato diverse strategie morfologiche e fisiologiche per far fronte agli effetti da deficit idrico che ne compromettono la crescita, ostacolano il rapporto con l'acqua e riducono l'efficienza dell'uso dell'acqua. Queste strategie comprendono la regolazione stomatica, la regolazione osmotica, la risposta fotosintetica e lo sviluppo delle radici. [1]

Gli stomi sono delle minuscole aperture situate nell'epidermide della foglia e sono responsabili di oltre il 90% della traspirazione dell'acqua nelle piante. In condizioni di deficit idrico, l'acqua dev'essere conservata, per tale ragione la chiusura stomatica è una delle principali risposte per controllare la traspirazione durante lo stress idrico. [1]

Il riso mostra vari adattamenti morfologici in risposta allo stress da siccità, tra cui la coordinazione, la divisione cellulare, la promozione della crescita di radici laterali verso le zone di maggiore umidità. Questo perché lo stress da siccità altera i tratti funzionali della radice come la lunghezza, la densità, il diametro e la profondità nel suolo in relazione all'acqua disponibile. [1]

Lo stress da siccità causa la chiusura degli stomi che controlla l'assunzione di CO₂ e, in questo modo, riduce la fotosintesi, influenzando la crescita e la resa. Nel riso il tasso di fotosintesi in condizioni di stress idrico è notevolmente ridotto, con conseguente bassa produttività della coltura e riduzione del peso finale dei chicchi di riso. [1]

Lo stress da siccità modifica anche il turgore e l'equilibrio osmotico e la pianta mette in atto degli aggiustamenti osmotici per diminuire i danni. I meccanismi di difesa delle piante attivano l'accumulo di osmoliti e osmoprotettori che regolano ulteriormente l'omeostasi a livello cellulare, agendo direttamente nella regolazione osmotica o assistendo i sistemi cellulari fornendo protezione alle proteine integrali. [1]

4. Risposte della radice di riso allo stress da siccità

Ci sono ricerche che sostengono che la pianta sia in grado di modificare le proprie radici per farle crescere più spesse e profonde nel terreno per evitare lo stress idrico, e ampie prove che gli assimilati vengano trasferiti alle radici invece che ai germogli in queste condizioni di stress. Altre ricerche, invece, hanno dimostrato che la risposta delle radici allo stress idrico dipende fortemente dal genotipo della coltura, dalla fase di sviluppo e dall'intensità/durata dello stress. [2]

Le radici sono l'organo della pianta che assorbe acqua e nutrienti dal terreno. L'accesso all'acqua per una pianta è determinato dal suo sistema radicale, dalle sue proprietà, dalla sua struttura e dalla sua distribuzione. La presenza di radici con diametro ridotto ed elevata lunghezza permette di aumentare la superficie radicale a contatto con il suolo e quindi con l'umidità presente nel suolo. I peli radicali sono delle estroflessioni presenti a livello della radice che aumentano la superficie assorbente. Nel riso, al contrario di

molte altre piante, non hanno un ruolo rilevante nell'assorbimento di acqua ma sono risultati fondamentali per l'assorbimento di nutrienti. [2]

4.1 Risposte fisiologiche

In condizioni di stress da scarsità di acqua il riso mette in atto meccanismi di adattamento come la regolazione osmotica delle radici e l'aumento della penetrazione delle radici nel suolo. Infatti, gli studi hanno dimostrato che radici di riso profonde sono più tolleranti allo stress idrico e mantengono la loro produttività. In condizioni di carenza idrica, si è visto che viene favorita la crescita delle radici rispetto a quella dei germogli. [2]

In uno studio sono stati osservati i cambiamenti dei tratti della radice di riso sensibile alla siccità (Tabella 1). Tra i risultati ottenuti, si è osservato che la formazione di radici laterali è aumentata in condizioni di stress idrico per ampliare la superficie a contatto con le colonne d'acqua ristrette. Si è verificata una riduzione del diametro delle radici nodali, portando a radici più fini, probabilmente per conservare le risorse. È diminuito il diametro e il numero di vasi xilematici, riducendo così il rischio di cavitazione dei vasi xilematici. La cavitazione è, infatti, un fenomeno che aumenta in condizioni di stress idrico e la pianta, con questi cambiamenti nei tratti, cerca di ridurre i danni. Sotto stress da siccità si è osservato un aumento del diametro delle cellule sclerenchimali poiché le cellule strettamente impacchettate non sono necessarie per la ritenzione di ossigeno in condizioni di siccità. Si è osservata anche una diminuzione della formazione delle cellule dell'aerenchima perché la loro funzione è soprattutto quella di fornire ossigeno nei terreni allagati. [2]

Trait	Trends observed	Suggested function for water uptake under drought
Morphological		
Lateral root formation	Increased lateral root formation with drought stress	Improved contact with shrinking water columns in the soil, differential conductivity due to differential anatomy/biochemistry compared with coarse roots
Nodal root diameter	Decreased under drought	Finer root formation to conserve resources
Anatomical		
Proportion of root cross-sectional diameter represented by stele	Increased under drought	Prioritization of retaining water in vascular tissue rather than reducing radial oxygen loss as drought occurs
Diameter/number of xylem vessels	Decreased under severe drought	Reduced risk of xylem vessel cavitation
Width of/number of cells in the outer part of the root	Decreased under drought	Reduced impedance to water uptake from the soil, and/or senescence of outer cells due to stress
Sclerenchyma cell diameter	Increased under drought	Tightly packed cells not needed for retention of oxygen as drought occurs

Tabella 1: tratti osservati della radice di riso durante la siccità e i loro ruoli suggeriti nell'assorbimento dell'acqua (da Henry et al., 2012, modificato).

4.2 Architettura delle radici in condizioni di siccità

In uno studio sono state selezionate quattro cultivar di riso con la maggiore biomassa secca dei germogli in assenza di siccità per studiare l'effetto della siccità sull'architettura e l'anatomia. Per ottenere lo stress da siccità è stata interrotta l'irrigazione in modo che la parte superiore del substrato di crescita diventasse gradualmente secca, mentre il substrato profondo conservasse una certa umidità. [8]

Tratto	Modifica osservata in condizioni di siccità nelle cultivar
Biomassa secca dei germogli	Riduzione del 70-84%
Biomassa secca delle radici	Riduzione del 82,65-92,81%
Numero dei germogli	Riduzione
Profondità massima delle radici	Riduzione del 20-26%
Numero di radici nodali	Riduzione media di oltre l'80%
Ramificazione delle radici	Aumento ramificazione nei segmenti profondi

Tabella 2: modifiche osservate in condizioni di siccità (dati ricavati da Hazman et al., 2018).

Lo stress da siccità ha ridotto in modo significativo la biomassa secca dei germogli e delle radici e il numero dei germogli (Tabella 2). La profondità massima delle radici è diminuita con la siccità e la scarsità di acqua ha ridotto il numero di radici nodali mediamente di oltre l'80% in tutte le cultivar. [8]

La ramificazione delle radici laterali è variata lungo gli assi delle radici nodali, con una maggiore ramificazione nei segmenti più profondi delle radici in condizioni di siccità. Sono state quindi valutate separatamente la ramificazione delle radici laterali nei segmenti apicali (20 cm più profondi) e basali (il resto della radice) delle radici nodali. Si è osservato che lo stress da siccità ha aumentato in maniera rilevante la densità di ramificazione delle radici laterali grandi, soprattutto nei segmenti apicali. I segmenti basali hanno mostrato una maggiore densità di ramificazione di piccole radici laterali rispetto ai segmenti apicali. La lunghezza delle radici laterali grandi è stata notevolmente aumentata dalla siccità in misura simile in tutte le cultivar, mentre la lunghezza delle radici laterali piccole è stata fortemente influenzata dalla siccità, dalla cultivar e dalla loro interazione. [8]

Nell'immagine (Fig. 3) è possibile osservare gli effetti della siccità sulla quattro cultivar.

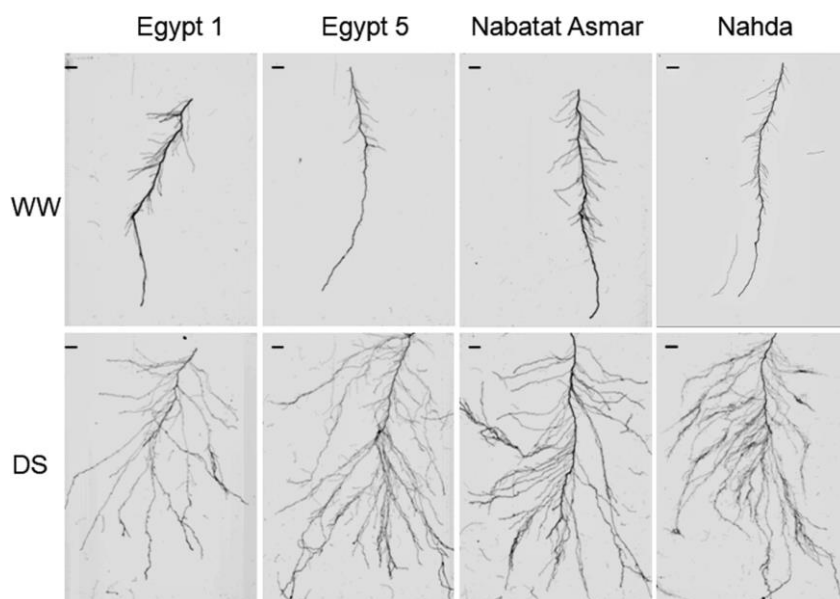


Figura 3: 20 cm apicali delle radici nodali di piante ben irrigate (WW) e sottoposte a stress da siccità (DS) (da Hazman et al., 2018).

4.3 Risposte anatomiche

Nello stesso studio sono stati misurati gli effetti della siccità sull'anatomia delle radici di riso (Tabella 3).

Tratto	Modifica anatomica osservata in condizioni di siccità nelle cultivar
Area radice nodale	Riduzione del 32-71% nei segmenti radicali basali e riduzione del 31,9-61,6% nei segmenti apicali
Area della stele	Conservata
Lignificazione delle radici nodali	Riduzione nell'epidermide, nell'esoderma e nello sclerenchima
Lignificazione delle grandi radici laterali	Riduzione
Aerenchima	Riduzione

Tabella 3: modifiche osservate in condizioni di siccità (dati ricavati da Hazman et al., 2018).

In condizioni di siccità, l'area della sezione trasversale della radice nodale è risultata inferiore a quella ben irrigata sia nei segmenti radicali basali, sia nei segmenti apicali (Fig. 4). Le aree della stele sono state conservate a scapito delle aree corticali, e sono diventate una porzione maggiore dell'area trasversale totale. [8]

Lo stress da siccità ha portato a una riduzione della lignificazione dell'epidermide, dell'esoderma e dello sclerenchima sia nei segmenti basali che apicali delle radici nodali. Allo stesso modo, le cellule corticali che separano le lacune dell'aerenchima mancano della lignificazione riscontrata in condizioni di buona irrigazione. [8]

Osservando le grandi radici laterali si è notato un aumento della sezione trasversale dalla base della radice all'apice, in condizioni di siccità. Come le radici nodali, le radici laterali di grandi dimensioni mostrano lignificazione in condizioni di buona irrigazione, mentre le radici di piante sottoposte a stress da siccità presentano una minore lignificazione all'esterno della stele. L'aerenchima si è mostrato meno sviluppato nei segmenti mediali delle radici stressate dalla siccità. [8]

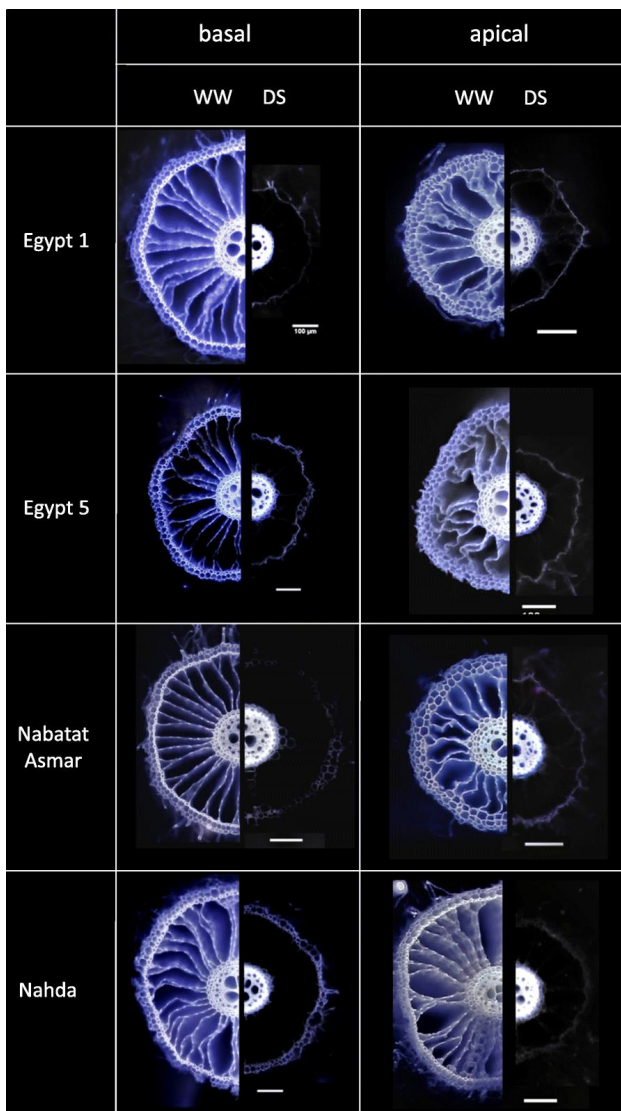


Figura 4: Immagini di tomografia ad ablazione laser (LAT) di segmenti di radice nodale di riso campionati a 20 cm dalla base della radice (basal) e a 10 cm dalla punta della radice nodale (apical), in condizioni di buona irrigazione (WW) e di stress da siccità (DS) (da Hazman et al., 2018).

4.4 Divisione e differenziazione cellulare in condizioni di stress

I meristemi sono in continua divisione cellulare per sostenere la crescita e lo sviluppo delle piante. La proliferazione cellulare nei meristemi è finemente regolata. Vi è un controllo dipendente dalla fase del ciclo cellulare da parte delle cicline e delle protein-chinasi ciclina-dipendenti (CDK), e la regolazione avviene in coordinamento con la differenziazione delle cellule vicine, per mantenere le funzioni meristematiche. [9]

In condizioni di stress, la divisione cellulare viene rallentata per garantire un'accurata progressione del ciclo cellulare in molti organismi. Nelle piante, gli stress abiotici inducono gli inibitori della CDK, come l'ICK1 in *Arabidopsis* e EL2 in riso. Tuttavia, non è noto come le attività proliferative dei meristemi e il coordinamento tra divisione e differenziazione cellulare siano mantenuti in condizioni di stress ambientale. [9]

In uno studio su riso si è dimostrato che RSS1, una proteina precedentemente non caratterizzata, ha un ruolo critico nella tolleranza a molteplici stress abiotici nelle piante. RSS1 funziona soprattutto nelle cellule in fase di divisione e la sua stabilità è regolata dalla degradazione proteica attraverso la via del proteasoma. [9]

È stato identificato un gene il cui difetto causa un fenotipo nano e una radice corta in condizioni di concentrazioni di sale elevate, ma non in condizioni di crescita normale nelle monocotiledoni. Il mutante loss-of-function ottenuto, *rss1* (rice salt-sensitive 1), ha mostrato un'inibizione irreversibile della crescita dopo l'esposizione a NaCl 150 mM per 15 giorni (Fig. 5). Le piantine *rss1* hanno mostrato radici molto ramificate, che probabilmente riflettono una ridotta attività dell'apice radicale, al contrario delle piante wild-type (WT). Nell'apice radicale delle giovani piantine *rss1*, in condizioni di elevata salinità, si è osservata una riduzione delle dimensioni della zona meristematica (MZ), della zona di allungamento (EZ) e del numero di cellule di entrambe le zone. La riduzione delle dimensioni della MZ è stata probabilmente causata da una diminuzione del tasso di divisione cellulare e da un tasso di differenziazione costante. [9]

Si è quindi dimostrato che RSS1 è una proteina fondamentale per mantenere l'attività di autoalimentazione delle cellule proliferative nei meristemi in condizioni di stress da salinità. RSS1, quindi, è necessario per la crescita continua e la sopravvivenza in condizioni di stress ambientali. [9]

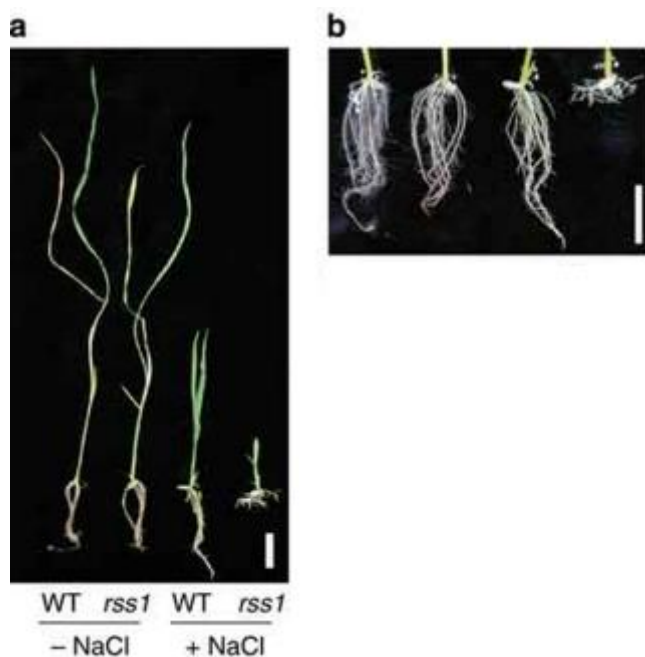


Figura 5: (a, b) Fenotipo di *rss1*. Le piantine WT e *rss1* sono state coltivate in assenza (-) o in presenza (+) di NaCl 150 nM per 15 giorni (da Ogawa et al., 2011, modificato).

4.5 Variabilità genetica

Tra le diverse cultivar di riso esiste un'importante variabilità genetica per i tratti morfologici delle radici, come il diametro delle radici, la profondità, la forza di trazione, il rapporto tra radici profonde e germogli, il numero di radici, la plasticità della crescita e la capacità di penetrazione delle radici. [7]

Esistono molti studi sulla variabilità genetica dei caratteri radicali del riso. Per esempio, è stata riportata una variabilità genetica significativa tra le cultivar di pianura e di montagna di Asia, Africa e Sud America. Le varietà asiatiche di pianura hanno radici più fini e più ramificate, mentre le cultivar africane e sudamericane hanno radici di diametro maggiore e meno ramificate. Si è scoperto che la resistenza alla siccità è associata a radici grosse e lunghe, a un sistema radicale denso e a un elevato rapporto tra radici e germogli e le cultivar di riso di montagna tendono ad avere radici più profonde rispetto alle cultivar di riso di pianura. [7]

In un altro studio si è osservata variabilità genotipica dei tratti radicali nelle varietà di riso *indica*, *japonica* e *aus*. Le varietà di riso *indica* hanno radici superficiali fini e molto ramificate e un basso rapporto tra radici e germogli; le varietà *japonica* hanno radici grossolane, lunghe, meno ramificate e un ampio rapporto tra radici e germogli; mentre le varietà *aus* hanno radici con un diametro intermedio. [7]

Le specie selvatiche di *Oryza* presentano un numero maggiore di nuovi alleli rispetto al riso coltivato. In uno studio sono state confrontate per la radice e altri tratti adattivi alla siccità e alcune specie selvatiche hanno dimostrato una crescita radicale superiore rispetto al riso coltivato. [7]

5. Interazione tra fitormoni e stress abiotico

La plasticità delle piante è la capacità di un singolo genotipo di adattare dinamicamente il proprio sviluppo a diverse condizioni interne e ambientali. I fitormoni sono uno dei trasduttori di queste condizioni interne ed esterne che permettono la sopravvivenza e la plasticità delle piante. [10]

I diversi fitormoni possono promuovere o inibire lo sviluppo della radice primaria in *Arabidopsis thaliana* a seconda della loro crescita in diverse condizioni ambientali. [10] Per esempio, molti studi hanno dimostrato che la concentrazione di ABA aumenta durante lo stress da siccità e aiuta la crescita della radice primaria in condizioni di scarsa disponibilità idrica e controlla la crescita radicale anche in condizioni di stress osmotico e salino. [10]

Nel controllo dell'attività del RAM sono coinvolte le auxine che stimolano la divisione cellulare, mentre le citochinine regolano l'uscita dallo stato proliferativo. Agiscono in maniera antagonista per controllare l'attività del meristema radicale. Mentre elevati rapporti auxina/citochinina stimolano la formazione delle radici, bassi rapporti auxina/citochinina portano alla formazione di germogli. [10, 11] L'accumulo di auxina nelle radici diminuisce in condizioni di stress osmotico e salino. Questo è dovuto alla riduzione della quantità di trasportatori per l'auxina (PIN) sulle membrane. Infatti, in condizioni di stress iperosmotico, che simula la siccità, l'endocitosi dei PIN aumenta modificando così la distribuzione dell'auxina e, probabilmente, il pattern radicale. La siccità diminuisce la produzione di citochinine attraverso la repressione dei geni dell'ISOPENTENYL TRANSFERASE (IPT), responsabile della fase limitante della biosintesi di CK; di conseguenza, aumenta la crescita della radice primaria. Al contrario, inibisce la crescita della radice primaria in condizioni di stress osmotico e salino. [10]

L'etilene è necessario per resistere a condizioni di stress osmotico e salino. Il trattamento delle piante WT con NaCl e mannitolo inibisce l'espressione di EIN2, un

gene la cui proteina è coinvolta nella regolazione positiva della segnalazione dell'etilene. [10]

5.1 Etilene

L'etilene è un ormone gassoso delle piante. Oltre a stimolare la maturazione dei frutti, l'etilene regola numerosi processi di crescita e sviluppo, tra cui la divisione e l'espansione cellulare, la differenziazione dei tessuti, la germinazione dei semi, la formazione dei peli radicali, la fioritura e la determinazione del sesso. L'etilene funziona anche come ormone dello stress che svolge un ruolo importante nelle risposte delle piante agli stress biotici e abiotici, tra cui l'infezione da parte di patogeni, la salinità, la siccità, l'ipossia, il freddo e il caldo. [12]

In *Arabidopsis* l'etilene viene percepito dai recettori dell'etilene sulla membrana del reticolo endoplasmatico (ER), trasdotto e poi amplificato per attivare l'espressione dei geni che rispondono all'etilene, innescando la risposta all'etilene. [12]

Nell'immagine (Fig. 6) il dettaglio della via di signaling dell'etilene in *Arabidopsis*.

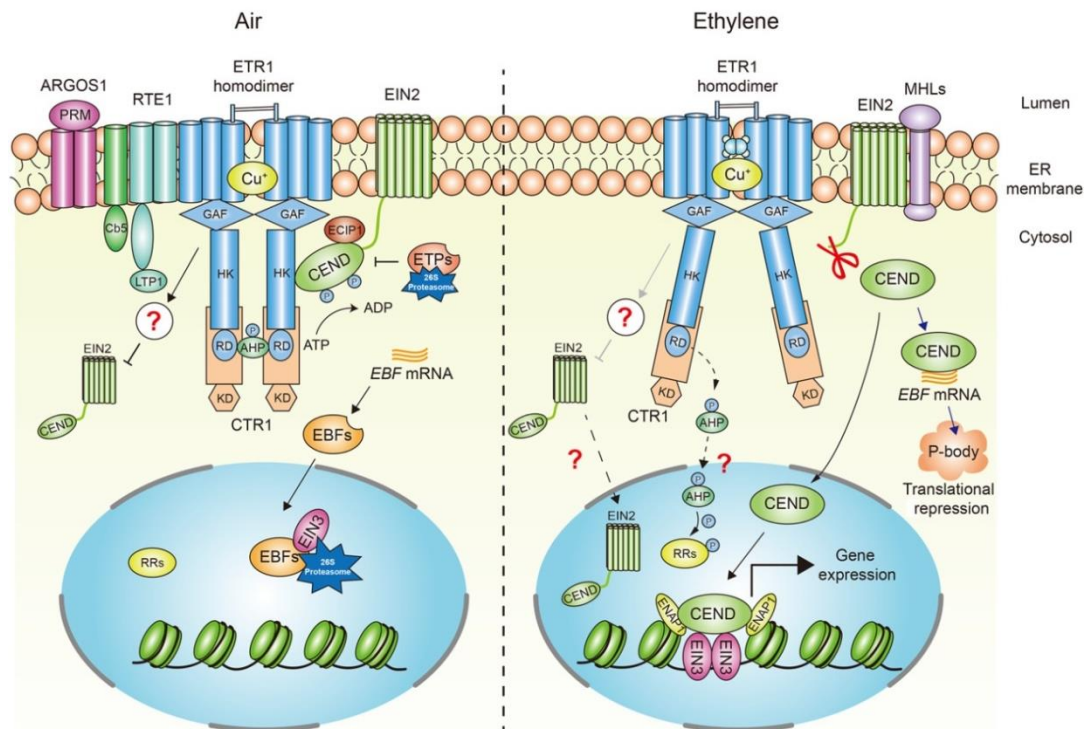


Figura 6: Modello schematico della via di signaling dell'etilene in *Arabidopsis* (da Zhao et al., 2021).

A differenza di *Arabidopsis*, il riso (*Oryza sativa*), pianta modello monocotiledone, cresce in ambienti semiacquatici e presenta una struttura distinta. Per adattarsi alle

condizioni di ipossia, dal momento in cui cresce in condizioni di allagamento, il riso ha evoluto diverse risposte di acclimatazione, tra cui l'allungamento del coleoptile, la formazione di aerenchima (Fig. 7), la formazione di radici avventizie, l'allungamento internodale, l'inibizione della crescita dei germogli e l'acclimatazione post-sommersione.

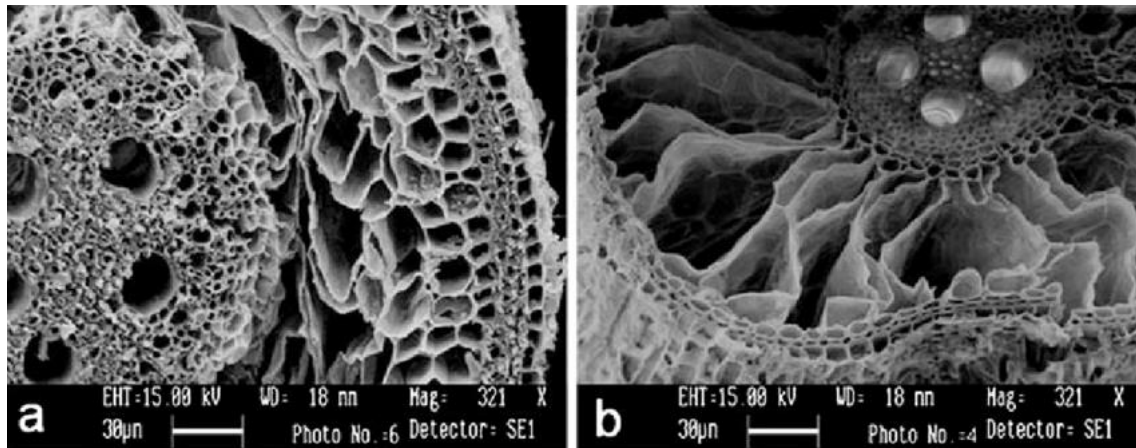


Figura 7: Formazione di aerenchima nelle radici di riso in condizioni di ipossia. (a) Sezione trasversale di radice emersa in condizioni aerobiche che mostra meno aerenchima. (b) Sezione trasversale di radice emersa rimasta in condizioni allagate per 2 settimane che mostra aerenchima completamente sviluppato (da Joshi et al., 2011).

L'etilene svolge un ruolo fondamentale in queste risposte adattative. Piantine eziolate di *Arabidopsis*, in caso di trattamento con etilene, mostrano la "triplice risposta" che consiste in un allungamento inibito delle radici e del fusto, un gancio apicale rafforzato e un rigonfiamento del fusto. La triplice risposta viene attivata quando la piantina cerca di germogliare e permette di facilitare il superamento di ostacoli meccanici durante il percorso sotterraneo verso la luce. [11, 12] A differenza di *Arabidopsis*, le piantine eziolate di riso mostrano una "doppia risposta" che comporta un aumento della crescita del coleoptile e un'inibizione della crescita delle radici (Fig. 8). Studi su altre piantine monocotiledoni eziolate hanno mostrato che l'etilene inibisce la crescita sia delle radici che dei coleptili, dimostrando che le risposte dell'etilene sulle piantine di riso sono differenti. L'effetto promozionale dell'etilene sui coleptili di riso può essere coerente con il fatto che il riso vive in un suolo saturo d'acqua per quasi tutto il suo ciclo di vita e che i coleptili a crescita più rapida favoriscono l'emergere del riso da acque poco profonde, questo rende ragionevole l'ipotesi che il riso possa aver evoluto caratteristiche uniche di segnalazione dell'etilene per adattarsi al suo ambiente. [12, 13]

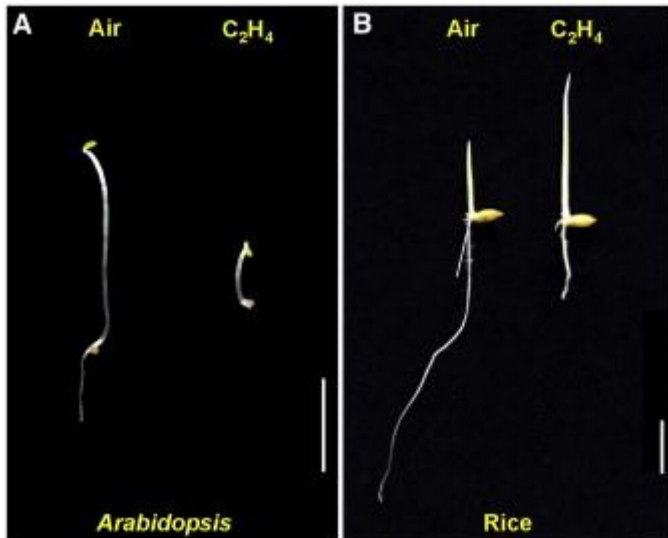


Figura 8: Confronto dei fenotipi di risposta all'etilene nelle piantine eziolate di (A) Arabidopsis e (B) Riso (da Yang et al., 2015, modificato).

5.2 Ruolo dell'etilene nella risposta alla siccità

I deficit idrici influiscono pesantemente sullo sviluppo e sulla produttività delle piante. Per questo motivo, vengono fatte sempre più ricerche per migliorare le colture attraverso la manipolazione dei meccanismi di resistenza alla siccità, che comprendono la fuga, l'evasione e la tolleranza allo stress da siccità. [14]

Studi recenti hanno scoperto che fattori di trascrizione, come AP2/ERF, bZIP, MYB e NAC, sono importanti regolatori dei meccanismi di resistenza alla siccità delle piante, dal momento che lo stress da siccità induce la loro espressione, seguita dall'attivazione di geni a valle che rispondono alla siccità e che sono necessari per lo sviluppo e le risposte fisiologiche. Diversi studi hanno dimostrato che la sovraespressione di fattori di trascrizione che rispondono alla siccità può portare a una maggiore resistenza alla siccità. Ad esempio, piante di Arabidopsis che sovraesprimono *AtMYB96* o *HARDY* (un fattore di trascrizione AP2/ERF) o linee transgeniche di riso che sovraesprimono *OsAP37*, *OsNAC5*, *OsNAC9*, *OsNAC10*, *OsbZIP12*, *OsbZIP12* o *OsbZIP23* hanno mostrato una forte resistenza allo stress da siccità. [14]

Attualmente i meccanismi dell'etilene nella tolleranza agli stress sono poco conosciuti ma è stato dimostrato che diversi geni ERF (Ethylene Response Factors) nelle piante svolgono ruoli importanti negli stress da siccità e da sale. Per esempio, *OsERF3* modula la tolleranza alla siccità interagendo con *OsDERF1* per regolare negativamente la produzione di etilene. *OsERF71* è fortemente indotto dalla siccità e dalla salinità e

migliora la tolleranza alla siccità alterando la struttura della radice mediante l'elevazione dei geni per la mobilitazione della parete cellulare e la biosintesi della lignina nel riso. [15]

OsERF71 è stato identificato come un gene AP2/ERF sensibile allo stress. In uno studio sono state confrontate le prestazioni di piante di riso che sovraesprimono *OsERF71* con quelle di piante non transgeniche (NT). La sovraespressione di *OsERF71* sia a livello dell'intera pianta che della radice in piante di riso transgeniche ha dato origine a fenotipi resistenti alla siccità nelle fasi vegetative della crescita, indicando che la sovraespressione specifica della radice è sufficiente a conferire il fenotipo (Fig. 9). [14]

In questo studio, le radici che sovraesprimono *OsERF71* hanno presentato una crescita radiale più spessa a causa di un aerenchima più grande e di un maggior numero di strati cellulari nella vascolarizzazione. Il fatto che la sovraespressione di *OsERF71* induca un aerenchima più grande può essere considerato un adattamento strutturale delle radici per ottimizzare la crescita, dato che riduce i costi metabolici delle radici e ottimizza l'assorbimento dell'acqua. [14]

Come descritto precedentemente, lo stress idrico riduce la lignificazione nelle radici e questo studio ha evidenziato che la sovraespressione di *OsERF71* aumenta i livelli di lignificazione delle radici. Anche in assenza di stress da siccità l'espressione dei geni biosintetici della lignina è maggiore nelle radici dei genotipi transgenici. Si è scoperto che *OsERF71* modula i geni a valle, compresi i geni inducibili da stress generale, i geni associati alla parete cellulare e i geni della biosintesi della lignina, che insieme contribuiscono a migliorare la resistenza alla siccità. [14]

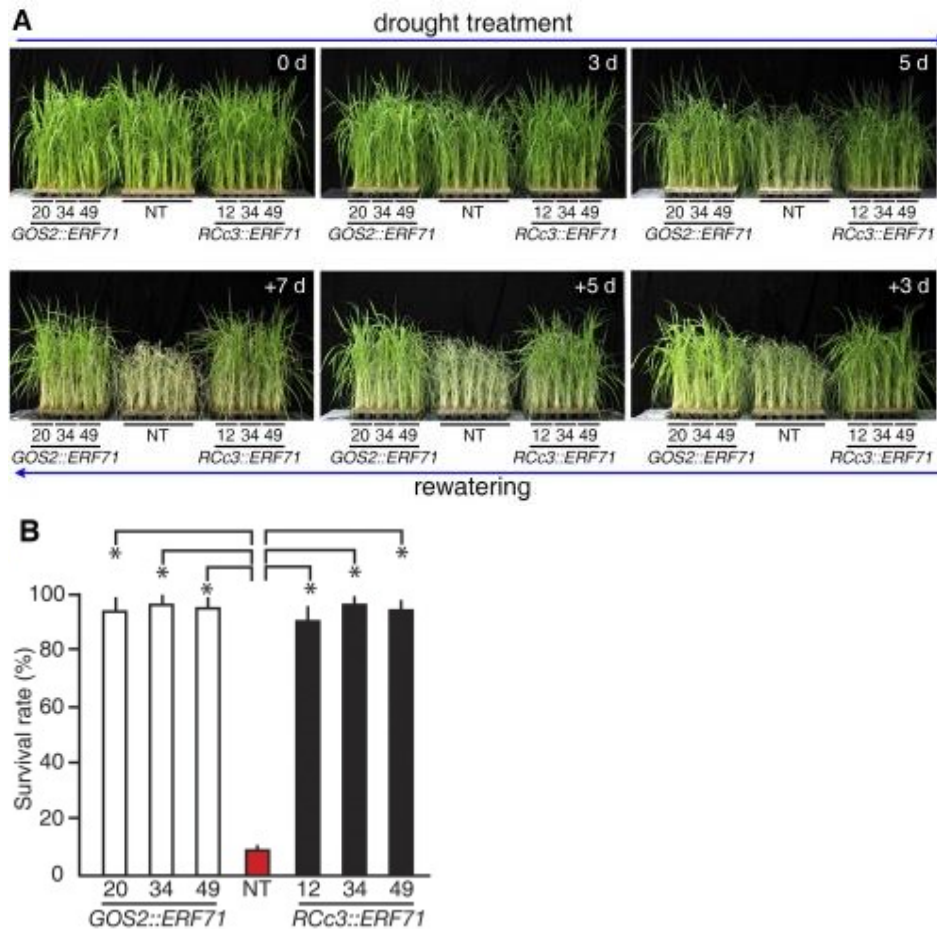


Figura 9: La sovraespressione di *OsERF71* nel riso migliora la resistenza alla siccità. (A) Resistenza alla siccità di *GOS2::OsERF71* e *RCc3::OsERF71*, due diversi tipi di piante transgeniche sovraesprimenti *OsERF71* allo stadio vegetativo. Le linee transgeniche *OsERF71* e le piante di controllo NT sono state coltivate nel suolo per 1 mese ed esposte alla siccità per 5 giorni, seguite da irrigazione. (B) Tasso di sopravvivenza a 15 dopo la successiva irrigazione. Gli asterischi indicano differenze significative rispetto a NT (da Lee et al., 2016, modificato).

OsERF109 è un fattore di risposta all'etilene del riso. L'espressione di *OsERF109* viene indotta da stress e fitormoni. In uno studio le piante transgeniche che sovraesprimono (OE) *OsERF109* hanno mostrato una resistenza alla siccità ridotta, mentre le piante transgeniche che silenziano (RI) *OsERF109* hanno mostrato una resistenza alla siccità migliorata, indicando che *OsERF109* regola negativamente la resistenza alla siccità nel riso. Sulla base dei risultati ottenuti, i dati dimostrano che *OsERF109* regola la resistenza alla siccità influenzando la biosintesi dell'etilene nel riso ed ha un ruolo negativo nella biosintesi dell'etilene e nella tolleranza alla siccità del riso. Il fatto che le linee RI di *OsERF109* abbiano migliorato significativamente la tolleranza alla siccità indica la potenziale applicazione di *OsERF109* per aumentare la tolleranza del riso agli stress abiotici. [16]

6. Conclusioni e prospettive future

Il riso è una pianta che consuma grandi quantità di acqua e la carenza idrica, in aumento a causa del cambiamento climatico, comporta perdita di resa e difficoltà nella coltivazione.

Come illustrato precedentemente, il riso mette in atto una serie di adattamenti per rispondere a condizioni di siccità, come l'aumento della formazione di radici laterali per aumentare la superficie di assorbimento, l'aumento del rapporto radici-germogli, la riduzione della biomassa secca radicale o la riduzione della profondità radicale.

Sta diventando sempre più urgente riuscire a sviluppare varietà di riso resistenti agli stress abiotici e per fare ciò sarà importante approfondire i meccanismi fisiologici coinvolti nella risposta agli stress, per poter selezionare piante resistenti.

Si è dimostrato che radici più profonde risultano essere più resistenti alla siccità e abbiamo visto che alcune specie selvatiche hanno un potenziale di crescita radicale superiore rispetto al riso coltivato. Il genoma di queste specie selvatiche potrebbe essere sequenziato e alcuni dei loro geni potrebbero essere introdotti nelle varietà di riso attualmente coltivate, aumentando così la biodiversità agricola odierna.

Linee transgeniche come *OsERF71* OE o *OsERF109* RI potrebbero essere una possibile soluzione alla crescente domanda di riso. Infatti, è stato dimostrato che *OsERF109* non influisce sulla normale crescita e sullo sviluppo del riso [16], questo ne consente l'utilizzo da parte dell'ingegneria genetica per migliorare la tolleranza del riso allo stress idrico.

Per poter utilizzare linee transgeniche di questo tipo sarà importante svolgere ulteriori studi e verificare cosa comporta sostituirle alla linea di riso wild-type. Per esempio, sarà importante verificare se c'è differenza tra la coltivazione di linee transgeniche e il riso WT, se le linee transgeniche sono sicure dal punto di vista alimentare, dovranno passare controlli di sicurezza e non essere un rischio per la salute umana. La siccità è un problema politico ed economico, per questo, dovranno essere valutati i costi e se c'è un guadagno nel tempo e quanto tempo ci vorrà prima che i costi di queste nuove linee si abbassino fino a diventare più accessibili. La popolazione mondiale è in aumento e così anche il fabbisogno alimentare e i metodi attuali di breeding non sono in grado di produrre nuove varietà resistenti alla siccità alla stessa velocità alla quale sta cambiando il clima. Non bisogna dimenticare che la commercializzazione di riso transgenico è ancora difficile a causa dell'opinione pubblica ma le varietà di riso con geni provenienti

dalla stessa specie ma selvatica potrebbero essere più accettate rispetto a piante con geni batterici, per esempio.

Aumentando la resa agricola non si risolverà il problema della fame nel mondo ma piante transgeniche di questo tipo potrebbero aiutare dal punto di vista economico i Paesi poveri.

7. Bibliografia

- [1] Aslam, M.M.; Rashid, M.A.R.; Siddiqui, M.A.; Khan, M.T.; Farhat, F.; Yasmeen, S.; Khan, I.A.; Raja, S.; Rasool, F.; Ali Sial, M.; et al. Recent Insights into Signaling Responses to Cope Drought Stress in Rice. *Rice Sci.* **2022**, *29*, 105–117.
- [2] Kim, Y.; Chung, Y.S.; Lee, E.; Tripathi, P.; Heo, S.; Kim, K.-H. Root response to drought stress in rice (*Oryza Sativa* L). *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 1513.
- [3] Dash, P.K.; Rai, R.; Rai, V.; Pasupalak, S. Drought Induced Signaling in Rice: Delineating Canonical and Non-canonical Pathways. *Front Chem.* **2018**, *6*, 264.
- [4] Svolacchia, N.; Salvi, E.; Sabatini, S. Arabidopsis primary root growth: let it grow, can't hold it back anymore! *Curr. Opin. Plant Biol.* **2020**, *57*, 141-133.
- [5] Coudert, Y.; Périn, C.; Courtois, B.; Khong, N.G.; Gantet, P. Genetic control of root development in rice, the model cereal. *Trends Plant Sci.* **2010**, *15*, 219-226.
- [6] Cederholm, H.M., Iyer-Pascuzzi, A.S., Benfey, P.N. Patterning the primary root in Arabidopsis. *Wiley Interdiscip. Rev. Dev. Biol.* **2012**, *5*, 91-675.
- [7] Gowda, V.R.P.; Henry, A.; Yamauchi, A.; Shashidhar, H.E.; Serraj, R. Root biology and genetic improvement for drought avoidance in rice. *Field Crop Res.*, **2011**, *122*, 1-13.
- [8] Hazman, M., Brown, K. M. Progressive drought alters architectural and anatomical traits of rice roots. *Rice* **2018**, *11*, 62.
- [9] Ogawa, D.; Abe, K.; Miyao, A.; Kojima, M.; Sakakibara, H.; Mizutani, M.; Morita, H.; Toda, Y.; Hobo, T.; Sato, Y.; Hattori, T.; Hirochika, H.; Takeda, S. RSS1 regulates the cell cycle and maintains meristematic activity under stress conditions in rice. *Nat. Commun.* **2011**, *2*, 278.
- [10] López-Ruiz, B.A.; Zluhan-Martínez, E.; Sánchez, M.D.; Álvarez-Buylla, E.R.; Garay-Arroyo, A. Interplay between Hormones and Several Abiotic Stress Conditions on Arabidopsis thaliana Primary Root Development. *Cells* **2020**, *9*, 2576.
- [11] Rascio N., Carfagna S., Esposito S., La Rocca N., Lo Gullo M.A., Trost P., Vona V. Elementi di fisiologia vegetale. II edizione, **2017**, Edises Università S.r.l., Napoli, 8, pp. 351-412.
- [12] Zhao, H.; Yin, C.C.; Ma, B.; Chen, S.Y.; Zhang, J.S. Ethylene signaling in rice and Arabidopsis: new regulators and mechanisms. *J. Integr. Plant Biol.*, **2021**, *63*, 102-125.

- [13] Yang, C.; Lu, X.; Ma, B.; Chen, S.Y.; Zhang, J.S. Ethylene Signaling in Rice and Arabidopsis: Conserved and Diverged Aspects. *Molecular Plant* **2015**, *8*, 495-505.
- [14] Lee, D.K.; Jung, H.; Jang, G.; et al. Overexpression of the OsERF71 Transcription Factor Alters Rice Root Structure and Drought Resistance. *Plant Physiol.* **2016**, *172*, 575-588.
- [15] Liang, S.; Xiong, W.; Yin, C.; Xie, X.; Jin, Y.J.; Zhang, S.; Yang, B.; Ye, G.; Chen, S.; Luan, W.J. Overexpression of *OsARD1* Improves Submergence, Drought, and Salt Tolerances of Seedling Through the Enhancement of Ethylene Synthesis in Rice. *Frontiers in plant science* **2019**, *10*, 1088.
- [16] Yu, Y.; Yang, D.; Zhou, S.; Gu, J.; Wang, F.; Dong, J.; Huang, R. The ethylene response factor OsERF109 negatively affects ethylene biosynthesis and drought tolerance in rice. *Protoplasma* **2017**, *254*, 401-408.