

Alle radici della simbiosi pianta-funghi micorrizici arbuscolari: non solo uno scambio di nutrienti

INTRODUZIONE

Un numero sempre crescente di evidenze sperimentali dimostra come lo stato di salute di un organismo sia animale sia vegetale dipenda dalle comunità microbiche associate. Oggi sappiamo che un corpo umano contiene dieci volte più cellule batteriche che umane e le centinaia di specie diverse di batteri che tappezzano la nostra pelle e le nostre cavità non sono viaggiatori clandestini, ma regolano molte delle nostre funzioni (Gill et al., 2006). Essi costituiscono il microbioma umano, una straordinaria sorgente di diversità individuale che controlla funzioni vitali come l'immunità, l'obesità o l'invecchiamento. Allo stesso modo, le piante interagiscono con migliaia di microorganismi che vivono nella rizosfera o sulle foglie. I numeri del microbioma vegetale sono assai elevati: si sono evidenziati fino a 10^{11} cellule microbiche per grammo di radice. Lo sviluppo delle nuove tecnologie basate su piattaforme che permettono un rapido ed esteso sequenziamento (le cosiddette Next Generation Sequencing) ha permesso di dare un nome a molti di questi microorganismi. La rivista «Nature» nel numero di agosto 2012 ha dedicato la copertina ai microbi che colonizzano la rizosfera portando all'identificazione e alla caratterizzazione del microbioma di *Arabidopsis thaliana*, la pianta modello in biologia vegetale. Tuttavia, lo studio del plant microbiome porta a semplificare la complessità del microbioma come costituito essenzialmente da organismi procarioti. Al contrario, i funghi sono componenti essenziali e tra quelli benefici un ruolo ben noto è attribuito ai funghi che agiscono nel biocontrollo dei patogeni (Lorito et al., 2010) e ai saprotrofi che favoriscono il riciclo di

* Dipartimento di Scienze della vita e Biologia dei Sistemi, Università degli Studi di Torino

nutrienti (Orgiazzi et al., 2012): tuttavia, i primi attori sono sicuramente i funghi micorrizici.

I FUNGHI MICORRIZICI E LA LORO COORTE DI FUNGHI

E BATTERI ASSOCIATI SONO IMPORTANTI COMPONENTI DEL *PLANT MICROBIOME*

Con il nome di funghi micorrizici si identifica un gruppo assai eterogeneo di miceti che appartengono a diversi taxa fungini e che stabiliscono delle associazioni definite come micorrize con le radici di quasi tutte le piante che si trovano sulla terra. Non è banale tuttavia ricordare che questi funghi si associano anche a piante che negli alberi filogenetici occupano posizioni basali: ad esempio i talli di numerose Bryophyta sono colonizzati da basidiomiceti, ascomiceti o glomeromiceti (Read et al., 2000; Bonfante e Genre, 2008).

La funzione ormai riconosciuta per le simbiosi micorrizica è che la pianta migliora la sua nutrizione minerale, registrando un effetto positivo sulla sua crescita, e cedendo in cambio zuccheri al fungo. Grazie alla simbiosi micorrizica, la pianta diventa più resistente a stress biotici o abiotici, aumenta la tolleranza alla mancanza di acqua o alla presenza di inquinanti, e porta a una riduzione della sua suscettibilità ai più comuni agenti patogeni (Smith e Read, 2008). Lo scambio equilibrato tra i due partners è ora descritto come un mercato biologico, dove ognuno dei due partner ottiene la giusta ricompensa (Kiers et al., 2011).

Le modalità con cui le piante si associano ai funghi simbiotici sono svariate e danno origine a una lunga lista di categorie riconoscibili in base alla morfologia, al funzionamento, alla posizione tassonomica dei partner e alle caratteristiche dell'interfaccia simbiotica che si crea tra pianta e fungo (Smith e Read, 2008). Tuttavia, uno dei contributi più interessanti emersi dall'applicazione delle tecniche di biologia molecolare alle micorrize raccolte in campo è che l'associazione tra taxon fungino e tipologia micorrizica è molto lassa: lo stesso fungo può associarsi a piante diverse e stabilire interazioni morfologicamente diverse. Uno degli esempi più convincenti è dato da funghi ectomicorrizici (come le russule, o i tartufi) che colonizzano radici di orchidee, dimostrando una grande plasticità adattativa (Girlanda et al., 2005).

Questa review si focalizza su un unico tipo di simbiosi micorrizica, quella arbuscolare, che è la più antica (strutture simili alle micorrize arbuscolari sono documentate da fossili che risalgono al Devoniano) e coinvolge la maggior parte delle piante erbacee appartenenti a specie coltivate, per esempio, riso, mais e pomodoro (Bonfante e Genre, 2008). Particolare attenzione viene

data a risultati che si basano su approcci di genomica e genomica funzionale (i cosiddetti approcci omics) e che hanno permesso di evidenziare le peculiarità dei funghi AM e delle interazioni con le piante ospiti. Inoltre, dati di ecogenomica hanno evidenziato come i funghi AM non solo siano molto diffusi nel suolo (Lumini et al., 2011) sotto forma di reti di micelio che interconnettono piante diverse, ma anche si associano a gruppi di batteri con cui agiscono in sinergia (Dames e Rinsdale, 2012), oltre che presentare al loro interno popolazioni batteriche (Bonfante e Anca, 2009). L'identificazione di proteobatteri filogeneticamente vicini a *Bourkolderia*, ma funzionalmente correlati con gli endobatteri simbiotici degli insetti (Ghignone et al., 2012) ha permesso di aprire una finestra sul significato funzionale di tali interazioni. Dall'altra parte, la scoperta di altri endobatteri, identificati come vicini ai Mollicuti sulla base del 16S ribosomale (Nauman et al., 2010; Desirò et al., 2012) suggerisce che i funghi AM ospitano un bacterial microbiome ancora inesplorato.

Sulla base delle sequenze del gene ribosomale 18S, i funghi AM sono stati inseriti nel phylum dei Glomeromycota, che è un gruppo separato rispetto agli Asco- e Basidiomiceti (Schubler et al., 2001). Nonostante che nuove informazioni filogenetiche siano state ottenute attraverso analisi di diversi geni e la creazione di data base (Opik et al., 2010), ulteriori dati sono sicuramente necessari per definire meglio questo phylum, e le sue relazioni con gli altri taxa fungini. A partire dal 2009 la filogenesi dei funghi AM è stata affrontata anche utilizzando geni mitocondriali: il sequenziamento del genoma mitocondriale di *Glomus intraradices* (Lee e Young, 2009), di *Gigaspora rosea* e *Gi. margarita* (Nadimi et al., 2012; Pelin et al., 2012) ha inequivocabilmente suggerito una stretta relazione con gli Zigomiceti, come *Mortierella*. Questi dati ricordano le ipotesi di Beniamino Peyronel che descrisse gli attuali funghi AM come Ficomicetoidi, vicini alle Mortierelle (Peyronel, 1923).

IL CONTRIBUTO DELLE NUOVE TECNOLOGIE CELLULARI E MOLECOLARI ALLA BIOLOGIA DEI FUNGHI ARBUSCOLARI MICORRIZICI

A partire dagli anni '90, periodo in cui fu lanciato il progetto Human Genome Project (HGP), abbiamo imparato come sequenziare un genoma voglia dire determinare l'ordine delle quattro basi azotate che compongono lo scheletro del DNA permettendo la lettura di tutta la molecola, e dando le basi meccanicistiche per capire il make up genetico di una specie. Da quei lavori pionieristici sono emerse enormi quantità di dati generati dal sequenziamen-

to di microorganismi, funghi e piante oltre che animali (vedere ad esempio <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/browse/>). La classica tecnologia di sequenziamento Sanger è stata superata negli ultimi anni da metodiche genericamente definite Next Generation Sequencing che permettono letture multiple e parallele di migliaia di singoli frammenti di DNA di lunghezza media compresa tra le 400 e 500 paia di basi. Questo significa che si possono produrre tantissimi dati che provengono dalla lettura di milioni di basi in relativamente poco tempo. Le informazioni vanno però poi assemblate usando un genoma di riferimento. È questa la fase più lunga e complessa dei lavori che usano le piattaforme NGS.

I funghi AM non sono sfuggiti a questa logica. Il sequenziamento di *Glomus intraradices* strain DAOM 197198 è partito nel 2004 basandosi su una strategia Sanger (<http://www.jgi.doe.gov/sequencing/DOEmicrobes2004.html>), ma a causa dello stato biotrofico del fungo, il progetto ha incontrato inattese difficoltà che hanno reso il suo completamento non immediatamente raggiungibile (Martin et al., 2008). Solo adesso grazie alle NGS il genoma è stato assemblato, e osservazioni non ancor pubblicate (Francis Martin, *Glomus* Genome Consortium, GGC, in preparazione) mostrano un genoma di circa 150 Mb (10 volte di più del previsto!) con circa 30.000 geni codificanti. In attesa che il genoma di *G. intraradices* sia del tutto annotato, il crescente numero di sequenze EST ottenute all'interno del consorzio GGC, database INRA *Glomus*: <http://mycor.nancy.inra.fr/genomeResources.php>) ha fornito importanti informazioni sulla biologia di questi funghi (Tisserant et al., 2012). I dati assemblati da 25.906 trascritti danno una buona visione del trascrittoma del fungo fotografato in diverse condizioni del suo ciclo vitale: spore germinate, micelio trattato con strigolattoni (cfr. paragrafo “Le molecole segnale che sono alla base dell'interazione”), micelio simbiotico. Tra i dati più significativi ci sono quelli che mostrano come *G. intraradices* abbia trascritti che codificano per il processo meiotico. Questo risultato è molto interessante in quanto geni coinvolti nella meiosi sono stati identificati e caratterizzati anche da altri gruppi (Halary et al., 2011), suggerendo che la mancata dimostrazione di una riproduzione sessuata non sia dovuta a mancanza dei geni necessari e dei loro trascritti. Vale inoltre la pena osservare che la strategia “riproduzione asessuata” comunque non ha impedito il successo sia nel tempo sia nello spazio dei funghi AM. Questo sembra un paradosso, perché uno dei dogmi della biologia è che la variabilità genetica legata agli eventi di ricombinazione sia la chiave per il successo evolutivo degli organismi viventi.

Altre caratteristiche emerse dall'analisi del trascrittoma riguardano le sequenze che codificano per small secreted proteins che – insieme con la man-

canza di geni che codificano per la degradazione della parete cellulare dell'ospite – sono condivise con funghi ectomicorrizi finora sequenziati (Bonfante e Genre 2010 per ulteriori referenze, Lanfranco e Young, 2012). Sembra pertanto che i funghi simbionti siano accomunati da alcune caratteristiche dei loro genomi, nonostante le forti lontananze filogenetiche.

LE PIANTE MODELLO PER LA SIMBIOSI AM: NON SOLO LEGUMINOSE PER STUDIARE I PATHWAY DI SEGNALAZIONE

Se la biologia dei funghi AM ha sofferto (e soffre tuttora) per le forti limitazioni sperimentali causate da organismi biotrofi obbligati, le piante ospiti sono molto meglio conosciute. Con l'eccezione di *Arabidopsis thaliana*, pianta non ospite per i funghi AM, molte delle piante il cui genoma è stato sequenziato (riso, medicago, pomodoro, vite, melo) sono eccellenti ospiti per i Glomeromycota. Per questi motivi, le risposte della pianta alla colonizzazione del fungo AM rappresentano un capitolo ricco di informazioni che si basano sulla genetica, sull'uso dei mutanti, su tecniche cellulari e molecolari. Una descrizione dettagliata di come i funghi AM colonizzano le radici delle loro piante ospiti esula dagli scopi di questo capitolo. La figura 1 riassume le tappe essenziali: nella rizosfera (la zona di suolo che circonda le radici), le spore dei funghi AM germinano e formano un'ifa di germinazione, con cui arrivano a contattare l'apparato radicale. Studi recenti hanno dimostrato la presenza di segnali molecolari rilasciati dal fungo che sono percepiti dalla pianta prima ancora che avvenga il contatto fisico con il fungo (Bonfante e Requena, 2011). A questo punto la pianta emette dei segnali di riconoscimento, gli strigolattoni, molecole in grado di provocare l'allungamento e la ramificazione del micelio in direzione dell'ospite. Dopo il riconoscimento dell'ospite, dall'ifa fungina si originano gli ifopodi, ovvero strutture infettive allargate e multinucleate che aderiscono alla superficie della radice e consentono la penetrazione del fungo. Nella seconda fase, gli ifopodi formano ife di penetrazione che crescono intercellularmente dentro la radice e intracellularmente fino agli strati corticali, dando vita agli arbuscoli, le strutture responsabili degli scambi nutritizi. Gli arbuscoli sono costituiti da un tronco principale da cui si dipartono numerosi rami laterali; essi non vengono mai a diretto contatto con il citoplasma della cellula ospite, ma sono separati da questo dalla membrana della cellula ospite. Il fungo resta pertanto "confinato" in uno spazio apoplastico rispetto alla cellula colonizzata (Bonfante, 2001). Nelle simbiosi AM questo compartimento è chiamato compartimento d'interfaccia

ed è costituito dalla membrana plasmatica dell'ospite che si invagina intorno alle ife intracellulari (membrana periarbuscolare), da uno spazio in cui viene deposto del materiale in comune alla parete cellulare vegetale, dalla parete cellulare e dalla membrana plasmatica fungina (Balestrini e Bonfante, 2005). Gli arbuscoli invecchiano e collassano dopo pochi giorni. Per rimpiazzare quelli senescenti, se ne formano continuamente di nuovi, per cui in una stessa radice micorrizzata è possibile trovare arbuscoli a tutti gli stadi di sviluppo.

Un approccio, inoltre, che è stato portatore di grandi scoperte è il confronto tra la simbiosi micorrizica e la simbiosi azoto fissatrice che nelle radici delle leguminose porta allo sviluppo dei noduli (Parniske, 2008). Per questi motivi, le leguminose come *Medicago truncatula*, *Lotus japonicus*, *Pisum sativum* e i loro mutanti sono tra le piante più studiate rispetto alle interazioni con i funghi AM.

A partire dal gruppo di Martin Parniske (2004), molti ricercatori hanno identificato geni che nelle leguminose svolgono ruoli simili e hanno sequenze altamente conservate. Questi geni prendono il nome di SYM genes, in quanto mediano la risposta della pianta non solo ai fattori fungini, influenzando l'instaurarsi della simbiosi e i primi stadi di colonizzazione della radice, ma anche a molecole batteriche, controllando l'instaurarsi dei noduli radicali. Lo studio dei geni del common SYM pathway è in continua evoluzione, come ben riassumono Singh e Parniske (2012) in una loro recente review. Per alcuni geni il ruolo simile nelle due simbiosi è ben definito: ad esempio il gene SYMRK, che codifica per una chinasi che partecipa al meccanismo di trasduzione dei segnali simbiotici. La via comune di segnalazione include anche una chinasi recettoriale, DMI2, che si localizza sulla membrana plasmatica, e si ritiene responsabile dell'attivazione di una cascata di segnali attraverso eventi di fosforilazione; un canale cationico, DMI1, localizzato sulla membrana nucleare; e una chinasi calcio-dipendente posizionata all'interno del nucleo, DMI3 (Singh e Parniske, 2012). La via di segnalazione SYM porta all'espressione dei geni necessari allo sviluppo della simbiosi. Uno degli eventi cruciali che ha luogo durante questa sequenza è lo scatenarsi di oscillazioni della concentrazione di ioni calcio dentro e intorno al nucleo della cellula epidermica. Si ritiene che tali segnali vengano decodificati dalla chinasi calcio-dipendente, localizzata nel nucleoplasma, DMI3.

Al contrario, non è chiaro se i recettori che lavorano a monte e percepiscono il segnale batterico, il Nod factor, siano gli stessi che percepiscono i fattori fungini (Myc factor/s). Alcuni studi suggeriscono che i geni NFR1 e NFP siano richiesti per la nodulazione, ma non per la simbiosi AM (Ben Amour et al., 2003; Chaboud et al., 2011), mentre altri report sembrano suggerire che molecole segnale simili (Nod e Myc factor, vedi paragrafo successivo) si leghino agli stessi recettori nelle due simbiosi (Maillet et al., 2011; Op Camp et al., 2011).

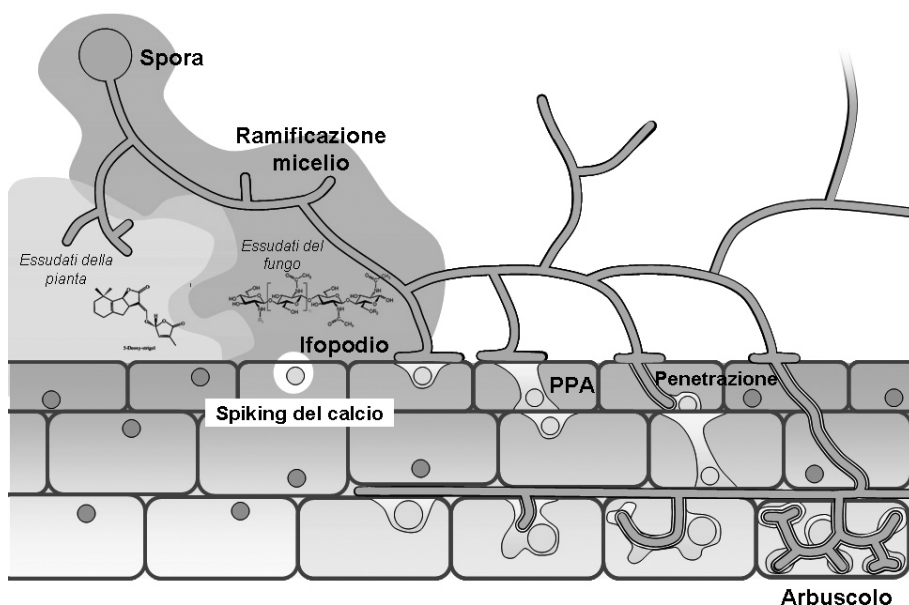


Fig. 1 Schema che illustra il processo di colonizzazione di una radice da parte di un fungo AM. La spora germina producendo un breve tubetto di germinazione. Nel momento in cui il fungo percepisce le molecole segnale rilasciate dalla pianta (viene mostrata la molecola di uno strigolattone), esso va incontro a un intenso processo di ramificazione, aumentando la probabilità di contatto con il suo ospite. Nello stesso tempo, il fungo rilascia molecole bioattive (viene riportata la molecola di un lipochitooligosaccaride), che sono percepite dalla radice, dove scatenano oscillazioni di calcio attraverso l'attivazione di un processo di segnalazione, definito common SYM pathway. La trasduzione del segnale porta all'attivazione di numerosi processi. Il contatto tra pianta e fungo si concretizza nella formazione di un ifopodio che stimola la formazione di un aggregato citoplasmatico chiamato apparato di prepenetrazione (PPA). Durante il suo sviluppo intracellulare il fungo segue tendenzialmente la strada segnata dal PPA come se fosse un binario. Una volta raggiunte le cellule corticali, il fungo si ramifica dando origine al tipico arbuscolo che occupa la gran parte del volume cellulare. Modificato da Bonfante e Genre 2010

Tuttavia, il fatto che i geni della via di segnalazione siano conservati anche nelle piante non leguminose (ad esempio in riso) dimostra chiaramente che il processo di trasduzione del segnale che passa attraverso i geni SYM è molto antico e conservato, e precede sicuramente la separazione tra dico- e monocotiledoni.

LE MOLECOLE SEGNALE CHE SONO ALLA BASE DELL'INTERAZIONE

La successione di eventi che interessa i due partner simbiotici durante lo sviluppo della simbiosi AM si può dividere in tre momenti principali: una prima

tappa in cui i due organismi, che non hanno ancora stabilito un contatto diretto, si scambiano dei messaggi chimici in un vero e proprio dialogo molecolare; una seconda tappa in cui avviene il contatto, con formazione dell'ifopodio e dell'apparato di prepenetrazione, e infine l'evento di colonizzazione vera e propria, con la formazione degli arbuscoli intraradicali e l'acquisizione della piena funzionalità della simbiosi (fig. 1).

Lo scambio di segnali chimici tra piante e funghi micorrizici è uno dei settori più affascinanti della biologia delle interazioni. Si sa che nella rizosfera, ancora prima che i due partner arrivino a un contatto diretto, si svolge uno scambio di molecole segnale capaci di informare l'uno della presenza dell'altro. Tra le molecole segnale rilasciate dalla pianta e percepite dai funghi AM sono recentemente stati individuati gli strigolattoni (Akiyama et al., 2005), induttori della ramificazione e della crescita delle ife fungine e dell'aumento dell'attività metabolica (Besserer et al., 2006). Si tratta di molecole note da più di 50 anni (fig. 1), già caratterizzate come fattori che inducono la germinazione dei semi di *Striga*, una pianta parassita. A queste molecole oggi si attribuisce anche una funzione ormonale, in quanto sono in grado di regolare lo sviluppo sia della radice sia del fusto, rappresentando quindi uno degli hot topics nella biologia vegetale (Xie et al., 2010). Contemporaneamente il fungo rilascia a sua volta dei segnali chimici diffusibili, chiamati Myc Factors, che inducono la pianta ad accogliere il fungo. La loro esistenza fu suggerita da un esperimento in cui il contatto diretto tra fungo e pianta era impedito dalla presenza di una membrana impenetrabile dal fungo (Kosuta et al., 2003): la regolazione di geni specifici per la simbiosi ha dimostrato che la pianta ospite percepisce un segnale diffusibile in grado di attraversare la membrana. Tali fattori diffusibili (Myc factors) attivano specifiche vie di trasduzione del segnale, modificando, oltre all'espressione genica (Kuhn et al., 2010; Ortu et al., 2012) lo sviluppo radicale (Mukherjee e Ané, 2011) e il metabolismo degli zuccheri (Gutjahr et al., 2009). La natura chimica di alcune molecole presenti negli essudati dei funghi AM è stata caratterizzata di recente. Già da tempo era stato ipotizzato che tali sostanze avessero una struttura di base chitinoso; oggi, grazie al lavoro di Maillet et al. (2011), si conosce la struttura di uno di questi fattori: si tratta di lipooligosaccaridi (Myc LCOs), molto simili ai fattori Nod, ma con struttura più semplice (fig. 1). È stato ipotizzato che queste piccole differenze possano rappresentare la chiave che consente alle leguminose di discriminare i due tipi di segnali.

Se da un lato questi parallelismi sembrano confermare l'ipotesi di un'origine evolutiva della nodulazione a partire dalla simbiosi AM, resta da chiarire attraverso quale meccanismo i batteri simbiotici azoto fissatori abbiano acquisito la capacità di produrre e rilasciare molecole segnale omologhe a quelle

di origine fungina. Si può ipotizzare che questa capacità sia stata ereditata tramite trasferimento genico orizzontale; alternativamente altre molecole di origine fungina possono avere un ruolo altrettanto importante (Bonfante e Requena, 2011). Tale ipotesi è stata recentemente confermata con l'identificazione di chitooligosaccaridi (Genre et al., 2013).

In seguito al reciproco scambio di segnali, segue una fase di avvicinamento che culmina con la formazione dell'ifopodio (Parniske, 2008). A questo punto la crescita fungina si arresta per un periodo che va dalle 4 alle 6-12 ore durante il quale sono stati osservati diversi processi che portano all'espressione di geni coinvolti nell'accoglienza del fungo, ad esempio il gene *ENOD11* (Chabaud et al., 2002). Tale gene sembra avere un ruolo nel modificare la plasticità della parete nelle cellule radicali e quindi consentire la penetrazione del fungo. Contemporaneamente, nel citoplasma della cellula con cui il fungo ha stabilito un contatto, si assiste all'organizzazione di uno specifico apparato, denominato apparato di prepenetrazione (PPA). Esso consiste in una sorta di colonna citoplasmatica, ricca di elementi del citoscheletro, reticolo endoplasmatico e componenti della via di secrezione. La formazione del PPA sembra essere guidata dal nucleo che, precedentemente, si posiziona nella zona di contatto dell'ifopodio e da lì si sposta, guidando verso lo strato corticale l'apparato in formazione. Solo al termine di questi eventi l'ifa fungina può dare inizio alla penetrazione vera e propria della cellula. I segnali che inducono la formazione del PPA restano sconosciuti, anche se è stata dimostrata la sua dipendenza dall'attivazione della common SYM pathway (Genre et al., 2005).

DALLE RADICI AI FRUTTI: COME CAMBIA IL PROFILO TRASCRIZIONALE

Gli approcci di trascrittomica compiuti su piante modello hanno convincentemente dimostrato che la pianta ospite reagisce ai segnali fungini, al contatto, alla colonizzazione e poi alla formazione degli arbuscoli con straordinari cambiamenti sia nella organizzazione cellulare (fig. 2) sia nell'espressione genica. Tali studi hanno dimostrato infatti come *Medicago* e *Lotus* ben rispondano alle molecole segnale lipochitooligosaccaridiche (Czaja et al., 2012), al contatto del fungo (Ortu et al., 2012), alle prime fasi di colonizzazione (Siciliano et al., 2009), e infine alla fase di colonizzazione arbuscolare (tra gli altri, Liu et al., 2003; Honj et al., 2005; Guether et al., 2009; Hogenkamp et al., 2011).

A conferma dei dati morfologici che evidenziano un forte meccanismo di ri-programmazione cellulare (Bonfante e Genre, 2010, fig. 2), i lavori di trascrittomica funzionale hanno dimostrato come l'arbuscolo sia davvero il cuore

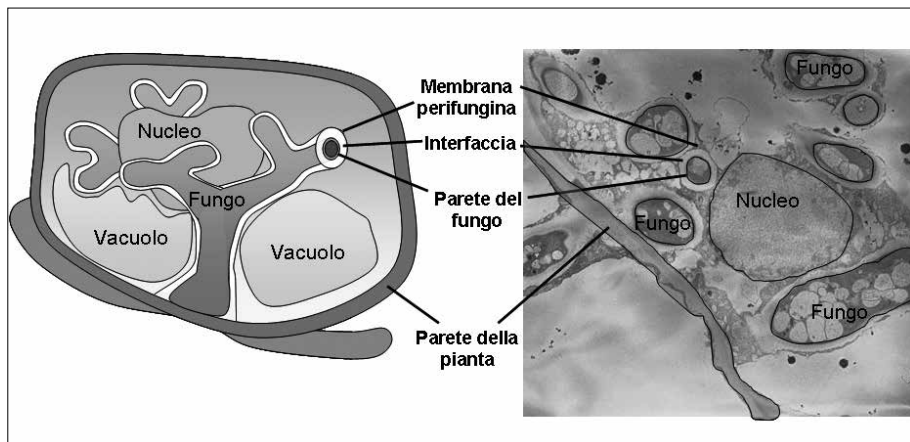


Fig. 2 La figura mostra l'organizzazione di una cellula arbuscolata. Nello schema si evidenzia come l'ifa fungina intracellulare sia avvolta da una membrana che è continua con la membrana periferica, pur essendo molecularmente differente. Si identifica in questo modo una zona detta di interfaccia che è uno spazio apoplastico che circonda e isola il fungo, ma nello stesso tempo media gli scambi nutrizionali tra pianta e fungo. Il vacuolo si sviluppa occupando lo spazio lasciato dal fungo, mentre il nucleo aumenta il suo volume e occupa una posizione centrale tra i rami fungini. L'immagine di microscopia elettronica mostra alcun dettagli come si possono osservare in una cellula di *Lotus japonicus*. Il compartimento di interfaccia è chiaramente visibile attorno al fungo mentre gli organelli della cellula vegetale si affollano attorno alla membrana perifungina. Modificato da Bonfante e Genre 2010

della simbiosi e come svariate nuove funzioni emergano proprio dall'intima interazione tra le fini ramificazioni arbuscolari e la cellula corticale. Sono soprattutto geni che codificano per i trasportatori di nutrienti che vengono attivati: in primis il trasportatore di fosfato che è considerato il marker funzionale della simbiosi e la cui espressione controlla strettamente la morfologia dell'arbuscolo e i processi che portano alla biogenesi della membrana periarbuscolare (Javot et al., 2007; Pumplin et al., 2012). Inoltre, negli ultimi anni sono stati caratterizzati numerosi altri trasportatori: quello dell'ammonio (Guether et al., 2009), di aminoacidi (Gueter et al., 2011), e di molecole di acqua tramite aquaporine (Giovannetti et al., 2012). Nella fabbrica di intensa attività cellulare che è la cellula arbuscolata anche tutta una serie di geni legati alla costruzione della membrana periarbuscolare vengono attivati: sono geni che codificano ad esempio per la Vapyrin (Pumplin et al., 2010), una proteina che regola la funzionalità della cellula arbuscolata. La presenza del fungo attiva inoltre numerosi potenziali fattori trascrizionali. Ben 24 sono stati segnalati da Guether et al. (2009), alcuni dei quali confermati recentemente da Hoge Kamp et al. (2012). Tuttavia a differenza di quanto avviene per la simbiosi azotata (Libault et al., 2009), il

significato funzionale e la validazione di questi potenziali TF non è ancora stato chiarito. Insieme con l'attivazione di microRNA che sono stati segnalati recentemente come regolatori delle reti di interazione (Branscheid et al., 2010), essi possono essere coinvolti nel processo di regolazione a breve e a lunga distanza dei segnali simbiotici. Numerosi altri lavori hanno infatti segnalato come l'effetto della simbiosi micorrizica si eserciti a lunga distanza: non solo sul fusto dando maggiore resistenza a batteri patogeni (Liu et al., 2007), e cambiando il suo profilo trascrittomico (Fiorilli et al., 2009), ma anche sui frutti (Salvioli et al., 2012). Nel caso del pomodoro i dati trascrittomici sono validati da dati metabolici che mostrano come in pomodori derivati da piante micorrizzate ci sia un significativo aumento di composti antiossidanti (Giovannetti et al., 2012).

Nuove ricerche sembrano ora indicare ulteriori direzioni: un potenziale fattore di trascrizione che già era emerso da un'analisi trascrittomica (Guether et al., 2009) come differenzialmente espresso nelle radici micorrizzate, è risultato appartenere a una antica famiglia di geni coinvolti nella Pi starvation (Volpe et al., 2012). Questo gene da noi chiamato LjMAMI (per Meristem and Arbuscular Mycorrhizal Induced) è risultato essere non solo espresso nelle cellule arbuscolate ma anche nei meristemi radicali. Grazie allo sviluppo di linee silenziata abbiamo dimostrato che il gene blocca la ramificazione delle radici, e che il processo è riattivato dalla presenza del fungo (Volpe et al., 2012). Questi dati dimostrano in modo convincente che l'effetto dei funghi simbiotici sulla radice passa attraverso l'attivazione di geni che sono coinvolti in processi ancora più generali di quelli tradizionalmente ipotizzati: sembrano infatti controllare processi morfogenetici cruciali, come lo sviluppo della radice.

CONCLUSIONI E PROSPETTIVE

Da questa ovviamente non comprensiva revisione di alcuni aspetti recenti riguardanti la biologia delle simbiosi AM, si possono trarre alcune conclusioni: i funghi AM sono sicuramente importanti componenti del plant microbiome e come tali rappresentano delle componenti benefiche che devono essere utilizzati al meglio nell'ambito di strategie agronomiche più rispettose della natura.

L'impatto dei funghi simbiotici sulla fisiologia della radice e della pianta nel suo complesso è straordinario: vengono attivate molte funzioni che non sono solo strettamente legate all'assunzione e al trasferimento di nutrienti dal suolo alla pianta –tramite il fungo che agisce come un ponte bioattivo. Tra quelle emerse recentemente si devono ricordare i processi di difesa basati sull'attivazione di eventi

di priming (Pozo e Azcón-Aguilar, 2007), processi morfogenetici come quelli legati allo sviluppo dell'apparato radicale (Volpe et al., 2012) e sorprendentemente eventi che controllano la fertilità (Tansengko et al., 2003, 2004).

Tutti questi caratteri alcuni dei quali inaspettati, suggeriscono nuove linee di sviluppo per l'utilizzazione della simbiosi micorrizica nell'ambito della sostenibilità: da una parte l'uso di inoculi micorrizici già sul mercato da anni (Gianinazzi et al., 2010) potrà essere incrementato grazie a inoculi più efficienti e sicuri, dall'altra parte grazie alle nuove tecniche di breeding, si può auspicare la selezione di varietà di piante di interesse agronomico che rispondano al meglio agli effetti positivi dei funghi AM.

RINGRAZIAMENTI

Paola Bonfante ringrazia le dottoresse Mara Novero e Maria Teresa Della Belfa per l'aiuto nella preparazione delle figure e nella compilazione della bibliografia. I fondi per la ricerca illustrata in questa nota derivano dal progetto BIOBIT-CIPE <http://www.biobits.di.unipmn.it>, dal Progetto ARaS (Parchi Biotecnologici) e dal Progetto Prin 2010.

RIASSUNTO

Un corpo umano contiene dieci volte più cellule batteriche che umane e le centinaia di specie batteriche che vivono con noi costituiscono il microbioma umano, una straordinaria sorgente di diversità genetica e funzionale. Lo scopo della nota è di fare il punto sul meno conosciuto microbioma vegetale, focalizzando l'attenzione sui funghi micorrizici arbuscolari (AM) che determinano la simbiosi AM. Grazie ai progetti di sequenziamento, alle nuove tecnologie di genomica funzionale e allo sviluppo di piattaforme che permettono un confronto tra geni espressi in diverse piante ospiti, si delinea un quadro di grande complessità: piante e funghi scambiano segnali già nella rizosfera e iniziano un processo di interazione che porta a cospicui cambiamenti della fisiologia della pianta ospite. Gli effetti a livello sistemico osservati in piante coltivate (dalle radici, al fusto, ai frutti) suggeriscono prospettive che sembrano particolarmente favorevoli nel contesto di un'agricoltura che voglia rispettare l'ambiente in modo sostenibile.

ABSTRACT

An increasing body of evidence illustrates how the health of multicellular organisms such as animals and plants relies on their tight association with complex and diverse microbial communities (microbiomes). The total number of microbial cells found in

the human gut microbiome may exceed the number of cells making up the human body itself by a factor of ten-to-one, while the number of genes associated with the human microbiome could exceed the total number of human genes by a factor of hundred-to-one. Similarly, plants rely on the still largely unknown plant giving special attention to arbuscular mycorrhizal (AM) fungi, the microbes which establish the AM symbiosis with the roots of most of land plants. Thanks to the sequencing projects, the Next Generations Sequencing approaches and the platforms which allow comparisons among huge sets of data, a highly complex scenario is now emerging. Plants and fungi exchange signals in the rhizosphere and start an interaction process leading to important changes in plant metabolism. AM fungi cause deep systemic effects which may have relevant consequences on the physiology of crop plants. The new knowledge opens perspectives which can be discussed in the context of a more sustainable agriculture.

BIBLIOGRAFIA

- AKIYAMA K., MATSUZAKI K., HAYASHI H. (2005): *Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi*, «Nature», 435, pp. 824-827.
- BALESTRINI R., BONFANTE P. (2005): *The interface compartment in arbuscular mycorrhizae: A special type of plant cell wall?*, «Plant Biosystems», 139, pp. 8-15.
- BEN AMOR B., SHAW S.L., OLDROYD G.E.D., MAILLET F., PENMETSA R.V., COOK D., LONG S.R., DENARIE J., GOUGH C. (2003): *The NFP locus of Medicago truncatula controls an early step of Nod factor signal transduction upstream of a rapid calcium flux and root hair deformation*, «Plant Journal», 34, pp. 495-506.
- BESSERER A., PUECH-PAGES V., KIEFER P., GOMEZ-ROLDAN V., JAUNEAU A., ROY S., PORTAIS J. C., ROUX C., BECARD G., SEJALON-DELMAS N. (2006): *Strigolactones stimulate arbuscular mycorrhizal fungi by activating mitochondria*, «PLoS Biol.», 4, e226.
- BONFANTE P. (2001): *At the interface between mycorrhizal fungi and plants: the structural organization of cell wall, plasma membrane and cytoskeleton*. In: Hock, B. (ed.), *The Mycota, IX: Fungal Associations*, Springer, Berlin, pp. 45-61.
- BONFANTE P., ANCA I.A. (2009): *Plants, mycorrhizal fungi, and bacteria: a network of interactions*, «Annual Review of Microbiology», 63, pp. 363-383.
- BONFANTE P., GENRE A. (2008): *Plants and arbuscular mycorrhizal fungi: an evolutionary-developmental perspective*, «Trends in Plant Science», 13, pp. 492-498.
- BONFANTE P., GENRE A. (2010): *Mechanisms underlying beneficial plant-fungus interactions in mycorrhizal symbiosis*, «Nature Communications», 1, p. 48.
- BONFANTE P., REQUENA N. (2011): *Dating in the dark: how roots respond to fungal signals to establish arbuscular mycorrhizal symbiosis*, «Current Opinion in Plant Biology», 14, pp. 451-457.
- BRANSCHIED A., SIEH D., DATT P.B., MAY P., DEVERS E.A., ELKROG A., SCHAUER L., SCHEIBLE W.R., KRAJINSKI F. (2010): *Expression pattern suggests a role of MiR399 in the regulation of the cellular response to local Pi increase during arbuscular mycorrhizal symbiosis*, «Mol. Plant Microb. Interact.», 23, pp. 915-926.
- CHABAUD M., VENARD C., DEFAUX-PETRAS A., BECARD G., BARKER D.G. (2002): *Targeted inoculation of Medicago truncatula in vitro root cultures reveals MtENOD11 expression during early stages of infection by arbuscular mycorrhizal fungi*, «New Phytologist», 156, pp. 265-273.

- CHABAUD M., GENRE A., SIEBERER B.J., FACCIO A., FOURNIER J., NOVERO M., BARKER D.G., BONFANTE P. (2011): *Arbuscular mycorrhizal hyphopodia and germinated spore exudates trigger Ca²⁺ spiking in the legume and nonlegume root epidermis*, «New Phytologist», 189, pp. 347-355.
- CZAJA L.F., HOGEKAMP C., LAMM P., MAILLET F., MARTINEZ E.A., SAMAIN E., DÉNARIÉ J., KÜSTER H., HOHNJEC N. (2012): *Transcriptional responses toward diffusible signals from symbiotic microbes reveal MtNFP- and MtDMI3-dependent reprogramming of host gene expression by arbuscular mycorrhizal fungal lipochitooligosaccharides*, «Plant Physiology», 159, pp. 1671-1685.
- DAMES J.F., RIDSDALE C.J. (2012): *What we know about arbuscular mycorrhizal fungi and associated soil bacteria*, «African Journal of Biotechnology», 11, pp. 13753-13760.
- DESIRÒ A., NAUMANN M., EPIS S., NOVERO M., BANDI C., GENRE A., BONFANTE P. (2012): *Mollicutes-related endobacteria thrive inside liverwort-associated arbuscular mycorrhizal fungi*, «Environmental Microbiology» doi:10.1111/j.1462-2920.2012.02833.x
- FIORILLI V., CATONI M., MIOZZI L., NOVERO M., ACCOTTO G.P., LANFRANCO L. (2009): *Global and cell-type gene expression profiles in tomato plants colonized by an arbuscular mycorrhizal fungus*, «New Phytologist», 184, pp. 975-987.
- GENRE A., CHABAUD M., TIMMERS T., BONFANTE P., BARKER D.G. (2005): *Arbuscular mycorrhizal fungi elicit a novel intracellular apparatus in Medicago truncatula root epidermal cells before infection*, «Plant Cell», 17, pp. 3489-3499.
- GENRE A., CHABAUD M., BALZERGUE C., PUECH-PAGÈS V., NOVERO M., REY T., FOURNIER J., ROCHANGE S., BÉCARD G., BONFANTE P., and BARKER DG. (2013): *Short-chain chitin oligomers from arbuscular mycorrhizal fungi trigger nuclear Ca²⁺ spiking in Medicago truncatula roots and their production is enhanced by strigolactone*, «New Phytologist» in press
- GHIGNONE S., SALVIOLI A., ANCA I., LUMINI E., ORTU G., PETITI, L., CRUVEILLER S., BIANCIOTTO V., PIFFANELLI P., LANFRANCO L., BONFANTE P. (2012): *The genome of the obligate endobacterium of an AM fungus reveals an interphylum network of nutritional interactions*, «ISME Journal», 6, pp. 136-145.
- GIANINAZZI S., GOLLOTTE A., BINET M.N., van TUINEN D., REDECKER D., WIPF D. (2010): *Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services*, «Mycorrhiza», 20, pp. 519-530.
- GILL S.R., POP M., DEBOY R.T., ECKBURG P.B., TURNBAUGH P.J., SAMUEL B.S., GORDON J.I., RELMAN D.A., FRASER-LIGGETT C.M., NELSON K.E. (2006): *Metagenomic Analysis of the Human Distal Gut Microbiome*, «Science», 312, pp. 1355-1359.
- GIOVANNETTI M., AVIO L., BARALE R., CECCARELLI N., CRISTOFANI R., IEZZI A., MIGNOLLI F., PICCIARELLI P., PINTO B., REALI D., SBRANA C., SCARPATO R. (2012): *Nutraceutical value and safety of tomato fruits produced by mycorrhizal plants*, «British Journal of Nutrition», 107, pp. 242-251.
- GIOVANNETTI Ma., BALESTRINI R., VOLPE V., GUETHER M., STRAUB D., COSTA A., LUDWIG U., BONFANTE P. (2012): *Two putative-aquaporin genes are differentially expressed during arbuscular mycorrhizal 4 symbiosis in Lotus japonicus*, «BMC Plant Biology», 12, p. 186.
- GIRLANDA M., SELOSSE M.A., CAFASSO D., BRILLI F., DELFINE S., FABBIAN R., GHIGNONE S., PINELLI P., SEGRETO R., LORETO F., COZZOLINO S., PEROTTO S. (2005): *Inefficient photosynthesis in the Mediterranean orchid Limodorum abortivum is mirrored by specific association to ectomycorrhizal Russulaceae*, «Molecular Ecology», 15, pp. 491-504.

- GUETHER M., BALESTRINI R., HANNAH M., He J., UDVARDI M.K., BONFANTE P. (2009): *Genome-wide reprogramming of regulatory networks, transport, cell wall and membrane biogenesis during arbuscular mycorrhizal symbiosis in Lotus japonicus*, «New Phytologist», 182, pp. 200-212.
- GUETHER M., NEUHÄUSER B., BALESTRINI R., DYNOWSKI M., LUDEWIG U., BONFANTE P. (2009): *A mycorrhizal-specific ammonium transporter from Lotus japonicus acquires nitrogen released by arbuscular mycorrhizal fungi*, «Plant Physiology», 150, pp. 73-83.
- GUETHER M., VOLPE V., BALESTRINI R., REQUENA N., WIPF D., BONFANTE P. (2011): *LjLHT1.2 - a mycorrhiza-inducible plant amino acid transporter from Lotus japonicus*, «Biology and Fertility of Soils», 47, pp. 925-936.
- GUTJAHR C., NOVERO M., GUETHER M., MONTANARI O., UDVARDI M., BONFANTE P. (2009): *Presymbiotic factors released by the arbuscular mycorrhizal fungus Gigaspora margarita induce starch accumulation in Lotus japonicus roots*, «New Phytologist», 183, pp. 53-61.
- HALARY S., MALIK S.B., LILDHAR L., SLAMOVITS C.H., HIJRI M., CORRADI N. (2011): *Conserved meiotic machinery in Glomus spp., a putatively ancient asexual fungal lineage*, «Genome Biology and Evolution», 3, pp. 950-958.
- HOGKAMP C., ARNDT D., PEREIRA P.A., BECKER J.D., HOHNJEC N., KUSTER H. (2011): *Laser-microdissection unravels cell-type specific transcription in arbuscular mycorrhizal roots, including CAAT-box TF gene expression correlating with fungal contact and spread*, «Plant Physiology», 157, pp. 2023-2043.
- HOHNJEC N., VIEWEG M.E., PUHLER A., BECKER A., KUSTER H. (2005): *Overlaps in the transcriptional profiles of Medicago truncatula roots inoculated with two different Glomus fungi provide insights into the genetic program activated during arbuscular mycorrhiza*, «Plant Physiology», 137, pp. 1283-1301.
- JAVOT H., PENMETS R.V., TERZAGHI N., COOK D.R., HARRISON M.J. (2007): *A Medicago truncatula phosphate transporter indispensable for the arbuscular mycorrhizal symbiosis*, «Proceedings of the National Academy of Sciences USA», 104, pp. 1720-1725.
- KIERS E.T., DUHAMEL M., BEESETTY Y., MENSAH J.A., FRANKEN O., VERBRUGGEN E., FELLBAUM C.R., KOWALCHUK G.A., HART M.M., BAGO A., PALMER T.M., WEST S.A., VANDENKOORNHUYSE P., JANSZ J., BÜCKING H. (2011): *Reciprocal rewards stabilize co-operation in the mycorrhizal symbiosis*, «Science», 333, pp. 880-882.
- KOSUTA S., CHABAUD M., LOUGNON G., GOUGH C., DÉNARIÉ J., BARKER D.G., BECARD G. (2003): *A diffusible factor from arbuscular mycorrhizal fungi induces symbiosis-specific MtENOD11 expression in roots of Medicago truncatula*, «Plant Physiology», 131, pp. 952-962.
- KUHN H., KÜSTER H., REQUENA N. (2010): *Membrane Steroid Binding Protein 1 induced by a diffusible fungal signal is critical for mycorrhization in Medicago truncatula*, «New Phytologist», 185, pp. 593-595.
- LANFRANCO L., YOUNG J.P.W. (2012): *Genetic and genomic glimpses of the elusive arbuscular mycorrhizal fungi*, «Current Opinion in Plant Biology», 15, pp. 454-461.
- LEE J., YOUNG J.P. (2009): *The mitochondrial genome sequence of the arbuscular mycorrhizal fungus Glomus intraradices isolate 494 and implications for the phylogenetic placement of Glomus*, «New Phytologist», 183, pp. 200-211.
- LIBAULT M., JOSHI T., BENEDITO V.A., XU D., UDVARDI M.K., STACEY G. (2009): *Legume transcription factor genes: what makes legumes so special?*, «Plant Physiology», 151, pp. 991-1001.

- LIU J., BLAYLOCK L.A., ENDRE G., CHO J., TOWN C.D., VANDEN BOSCH K.A., HARRISON M.J. (2003): *Transcript profiling coupled with spatial expression analyses reveals genes involved in distinct developmental stages of an arbuscular mycorrhizal symbiosis*, «Plant Cell», 15, pp. 2106-2123.
- LIU J., MALDONADO-MENDOZA I., LOPEZ-MEYER M., CHEUNG F., TOWN C.D., HARRISON M.J. (2007): *Arbuscular mycorrhizal symbiosis is accompanied by local and systemic alterations in gene expression and an increase in disease resistance in the shoots*, «Plant Journal», 50, pp. 529-544.
- LORITO M., WOO S.L., HARMAN G.E., MONTE E. (2010): *Translation research on Trichoderma: from 'omics to the field*, «Annual Review of Phytopathology», 48, pp. 395-417.
- LUMINI E., BIANCIOTTO V., BONFANTE P. (2011): *La biodiversità fungina nel suolo: un approccio di metagenomica*, in *La biodiversità e il metagenoma del terreno agrario: La biodiversità nel terreno agrario* (Firenze, 19 novembre 2010); *Il metagenoma del suolo: problematiche di ricerca e prospettive applicative* (Firenze, 6 dicembre 2010), «I Georgofili. Quaderni», 2010-IX, pp. 35-48.
- MAILLET F., POINSOT V., ANDRÉ O., PUECH-PAGÈS V., HAOUY A., GUEUNIER M., CROMER L., GIRAUDET D., FORMEY D., NIEBEL A., MARTINEZ E.A., DRIGUEZ H., BECARD G., DÉNARIÉ J. (2011): *Fungal lipochitooligosaccharide symbiotic signals in arbuscular mycorrhiza*, «Nature» 469, pp. 58-63.
- MARTIN F., GIANINAZZI-PEARSON V., HIJRI M., LAMMERS P., REQUENA N., SANDERS I.R., SHACHAR-HILL Y., SHAPIRO H., TUSKAN G.A., YOUNG J.P.W. (2008): *The long hard road to a completed Glomus intraradices genome*, «New Phytologist», 180, pp. 747-750.
- MUKHERJEE A., ANÉ J. (2011): *Germinating spore exudates from arbuscular mycorrhizal fungi: molecular and developmental responses in plants and their regulation by ethylene*, «Mol Plant Microb Interact», 24, pp. 260-270.
- NADIMI M., BEAUDET D., FORGET L., HIJRI M., LANG B.F. (2012): *Group I Intron-Mediated Trans-splicing in Mitochondria of Gigaspora rosea and a Robust Phylogenetic Affiliation of Arbuscular Mycorrhizal Fungi with Mortierellales*, «Molecular Biology and Evolution», doi: 10.1093/molbev/mss088.
- NAUMANN M., SCHÜSSLER A., BONFANTE P. (2010): *The obligate endobacteria of arbuscular mycorrhizal fungi are ancient heritable components related to the Mollicutes*, «ISME Journal» 4, pp. 862-871.
- OP DEN CAMP R., STRENG A., DE MITA S., CAO Q., POLONE E., LIU W., AMMIRAJU J.S.S., KUDRNA D., WING R., UTERGASSER A et al. (2011): *LysM-type mycorrhizal receptor recruited for Rhizobium symbiosis in non legume Parasponia*. Science doi: 10.1126/science.1198181.
- ÖPIK M., VANATOA A., VANATOA E., MOORA M., DAVISON J., KALWIJ J.M., REIER Ü., ZOBEL M. (2010): *The online database MaarjAM reveals global and ecosystemic distribution patterns in arbuscular Mycorrhizal fungi (Glomeromycota)*, «New Phytologist», 188, pp. 223-241.
- ORGIAZZI A., LUMINI E., NILSSON R.H., GIRLANDA M., VIZZINI A., BONFANTE P., BIANCIOTTO V. (2012): *Unravelling soil fungal communities from different Mediterranean land-use backgrounds*, PLoS One 7(4) e34847.
- ORTU G., BALESTRINI R., PEREIRA P.A., BECKER J.D., KÜSTER H., BONFANTE P. (2012): *Plant genes related to gibberellin biosynthesis and signaling are differentially regulated during the early stages of AM fungal interactions*, «Molecular Plant», 5, pp. 951-954.
- PARNISKE M. (2004): *Molecular genetics of the arbuscular mycorrhizal symbiosis*, «Current Opinion in Plant Biology», 7, pp. 414-421.

- PARNISKE M. (2008): *Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses*, «Nature Reviews Microbiology», 6, pp. 763-775.
- PELIN A., POMBERT J.F., SALVIOLI A., BONEN L., BONFANTE P., CORRADI N. (2012): *The mitochondrial genome of the arbuscular mycorrhizal fungus Gigaspora margarita reveals two unsuspected trans-splicing events of group I introns*, «New Phytologist», 194, pp. 836-845.
- PEYRONEL B. (1923): *Prime ricerche sulle micorrize endotrofiche e sulla micofiora radicolare normale delle fanerogame*, «Riv. di Biologia», 5, pp. 463-485.
- POZO, M.J., AZCÓN-AGUILAR C. (2007): *Unravelling mycorrhiza-induced resistance*, «Current Opinion in Plant Biology», 10, pp. 393-398.
- PUMPLIN N., ZHANG X., NOAR R.D., HARRISON M.J. (2012): *Polar localization of a symbiosis-specific phosphate transporter is mediated by a transient reorientation of secretion*, «Proceedings of the National Academy of Sciences», 109, pp. 665-672.
- PUMPLIN N., MONDO S.J., TOPP S., STARKER C.G., GANTT J.S., HARRISON, M.J. (2010): *Medicago truncatula Vapyrin is a novel protein required for arbuscular mycorrhizal symbiosis*, «Plant Journal», 61, pp. 482-494.
- READ D.J., DUCKETT J.G., FRANCIS R., LIGRONE R., RUSSELL A. (2000): *Symbiotic fungal associations in 'lower' land plants*, «Philosophical Transactions of the Royal Society of London series B-Biological Sciences», 355, pp. 815-830.
- SALVIOLI A., ZOUARI I., CHALOT M., BONFANTE P. (2012): *The arbuscular mycorrhizal status has an impact on the transcriptome profile and amino acid composition of tomato fruit*, «BMC Plant Biology», 12, p. 44.
- SCHUSSLER A., SCHWARZOTT D., WALKER C. (2001): *A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution*, «Mycol. Res.», 105, pp. 1413-1421.
- SICILIANO V., GENRE A., GENRE A., BALESTRINI R., CAPPELLAZZO G., deWIT P.J.G.M., BONFANTE P. (2007): *Transcriptome analysis of arbuscular mycorrhizal roots during development of the prepenetration apparatus*, «Plant Physiology», 144, pp. 1455-1466.
- SINGH S., PARNISKE M. (2012): *Activation of calcium- and calmodulin-dependent protein kinase (CCaMK), the central regulator of plant root endosymbiosis*, «Current Opinion in Plant Biology», 15, pp. 444-453.
- SMITH S.E., READ D.J. (2008): *Mycorrhizal symbiosis*, London, UK, Elsevier.
- TANSENGCO M.L., HAYASHI M., KAWAGUCHI M., IMAIZUMI-ANRAKU H., MUROOKA Y. (2003): *Crinkle, a novel symbiotic mutant that affects the infection thread growth and alters the root hair, trichome, and seed development in Lotus japonicus*, «Plant Physiology», 131, pp. 1054-1063.
- TANSENGCO M.L., IMAIZUMI-ANRAKU H., YOSHIKAWA M., TAKAGI S., KAWAGUCHI M., HAYASHI M., MUROOKA Y. (2004): *Pollen development and tube growth are affected in the symbiotic mutant of Lotus japonicus, crinkle*, «Plant Cell Physiology», 45, pp. 511-520.
- TISSERANT E., KOHLER A., DOZOLME-SEDDAS P., BALESTRINI R., BENABDELLAH K., COLLARD A., CROLL D., DA SILVA C., GOMEZ S.K., KOUL R., FERROL N., FIORILLI V., FORMEY D., FRANKEN P., HELBER N., HIJRI M., LANFRANCO L., LINDQUIST E., LIU, Y., MALBREIL M., MORIN E., POULAIN J., SHAPIRO H., TUINEN D. van, WASCHKE A., AZCÓN-AGUILAR C., BÉCARD G., BONFANTE P., HARRISON M.J., KÜSTER H., LAMMERS P., PASZKOWSKI U., REQUENA N., RENSING S.A., ROUX C., SANDERS I.R., SHACHAR-HILL Y., TUSKAN G., YOUNG J.P.W., GIANINAZZI-PEARSON V., MARTIN F. (2012): *The transcriptome of the arbuscular mycorrhizal fungus Glomus intraradices (DAOM 197198) reveals functional tradeoffs in an obligate symbiont*, «New Phytologist», 193, pp. 755-769.

VOLPE V., DELL'AGLIO E., GIOVANNETTI M., RUBERTI C., COSTA A., GENRE A., GUETHER M., BONFANTE P. (2012): *An AM induced-MYB-family gene of Lotus japonicus (LjMAMI) affects root growth in an AM-independent manner*, «The Plant Journal» (in press).

XIE X., YONEYAMA K., YONEYAMA K. (2010): *The strigolactone story*, «Annual Review of Phytopathology», 48, pp. 93-117.