

PAOLO NANNIPIERI*

I colloqui molecolari tra radici e tra radici e microrganismi: lo stato delle conoscenze attuali e le future ricerche

Prima di affrontare l'argomento del mio contributo, l'ultimo dell'incontro che si è tenuto in questa prestigiosa sede, è importante dire che il sottoscritto e la Prof.ssa L. Giovannetti hanno proposto di organizzare questa iniziativa sui messaggi molecolari dato il notevole sviluppo della tematica negli ultimi anni e la sua importanza scientifica e applicativa. Chiarire i colloqui molecolari tra radici e tra radici e microrganismi che vivono nel suolo non è solo importante per comprendere in modo migliore l'ecologia vegetale, l'ecologia microbica e il sistema suolo-pianta, ma anche perché si possono avere utili indicazioni per mettere a punto interventi pratici per migliorare la produzione agraria e forestale e contribuire alla protezione dell'ambiente. È necessario dire che gli "speakers" che mi hanno preceduto sono ricercatori conosciuti a livello internazionale per il contributo importante delle loro ricerche come testimoniato da pubblicazioni e rassegne su libri e riviste internazionali.

Nella prima parte della mia presentazione discuterò la complessità di eventi biochimici della pianta coinvolta nelle simbiosi con gli azoto fissatori, per controbilanciare almeno in parte le relazioni che mi hanno preceduto e che hanno discusso gli aspetti microbici. Inoltre è importante sottolineare che a livello didattico e di ricerca si presta e si è prestato in genere un'attenzione maggiore agli eventi microbici che a quelli vegetali.

Infine voglio sottolineare che la mia attenzione sulla problematica dei colloqui molecolari tra radici e tra radici e microrganismi si è sviluppata negli ultimi anni dopo aver curato in qualità di editore insieme a Roberto Pinton e Zeno Varanini, della Università di Udine, il primo libro (*The rhizosphere*).

* Dipartimento della Scienza del Suolo e Nutrizione della Pianta, Facoltà di Agraria, Università degli Studi di Firenze

Biochemistry and organic substances at the soil-plant interface, Marcel Dekker, New York, 2001) che ha discusso la complessità biochimica e la varietà di composti organici, presenti sul rizopiano e nel suolo rizosferico. Con nostra sorpresa la casa editrice ci chiese, circa un anno fa, di preparare la seconda edizione, motivando tale invito con il buon successo del libro. Successivamente leggendo i capitoli della nuova edizione, e in modo particolare quello di Perry et al. (2007), un gruppo di ricercatori che operano in diversi centri di ricerca di Fort Collins in Colorado, USA, mi sono accorto che in un breve intervallo di tempo c'era stato un notevole sviluppo di conoscenze sui messaggi molecolari nel suolo rizosferico.

Quando una leguminosa viene infettata dallo specifico rizobio si ha la repressione del sistema di difesa della pianta a causa di lipopolisaccaridi (LPS) secreti dal rizobio. Inoltre si verifica una serie di eventi, discussi nella rassegna di Werner (2007), tra i quali si ha un influsso di Ca^{2+} che agisce da messaggero secondario dentro le cellule vegetali. Viene attivata una calmodulina nucleare, che a sua volta attiva due geni responsabili della sintesi di proteine GRAS, dal nome del ricercatore che per primo le ha identificate. Le proteine GRAS sono tipiche dei vegetali ma non degli organismi animali o procarioti (Bolle, 2004). Nella *Arabidopsis* ne sono state identificate 33. Queste proteine sono composte da 400-700 aminoacidi con la parte della molecola C terminale che è la più conservata come struttura, mentre la parte N terminale è quella variabile. Queste proteine oltre a giocare un ruolo nello sviluppo dei noduli, sono importanti in altri processi vegetali quali lo sviluppo radicale, lo sviluppo del meristema apicale, e lo sviluppo della meiosi (Bolle, 2004).

Il risultato finale della sequenza di eventi che si verificano nella cellula vegetale è la formazione di una struttura complessa nelle quali i simbiosomi funzionano in perfetta sinergia con gli altri organelli cellulari. Ad esempio, nella cellula *Glicine max* 10.000 simbiosomi sono attivi per circa 2 settimane e la loro attività è coordinata con quella degli organelli cellulari della cellula vegetale (Werner, 2007).

Tuttavia i colloqui molecolari non interessano solamente i microrganismi benefici che effettuano simbiosi, come gli azoto fissatori, ma anche batteri che hanno effetti positivi sulla fisiologia vegetale attraverso diversi meccanismi (emissione di fitormoni, azione di controllo verso germi patogeni per la pianta, ecc.); questi batteri vengono indicati con il nome inglese di «plant growth promoting rhizobacteria» (Perry et al., 2007). Colloqui molecolari possono anche interessare microrganismi patogeni per la pianta. Infine i colloqui molecolari possono aversi tra radici della stessa specie o tra radici di specie diverse e talvolta possono interessare anche altri organismi. Tra le comunicazioni

radicali di tipo positivo vi sono quelle che diminuiscono l'appetibilità delle foglie agli erbivori (Perry et al., 2007). Le fitossine secrete da alcune specie vegetali inibiscono la germinazione e la crescita di altre piante ma anche l'appetibilità delle foglie agli erbivori (Perry et al., 2007). Gli afidi che utilizzano come nutriente gli zuccheri del floema di *Hordeum vulgare L.*, non attaccano le foglie di questa pianta quando sono trattate con la carbolina, una fitotossina presente negli essudati radicali di *E. repens* (Glinwood et al., 2003). Si è accertato che la fitossina da sola non agisce in modo negativo sugli afidi ma la sua azione si manifesta quando interagisce con *Hordeum vulgare L.* La presenza di erbivori su una pianta induce la secrezione nella stessa a livello radicale di particolari composti o l'emissione di composti volatili e tali sostanze comunicano ad altre piante la presenza di erbivori (Bruin e Sabellis, 2001). Nel caso di *Vicia faba L.*, quando le foglie sono attaccate dall'afide (*Acyrtosiphon pisum*) esse rilasciano delle sostanze volatili che attirano un parassitoide dell'afide, *Aphidius ervi* (Du et al., 1998).

Considerando la competizione per le risorse presenti nel terreno, è ragionevole ipotizzare che le radici di una pianta non devono esplorare il terreno già esplorato da altre radici della stessa pianta. Infatti i messaggi molecolari nella rizosfera possono guidare la "navigazione" delle radici, permettendo alla pianta di localizzare radici di piante diverse e anche radici di piante della stessa specie (Perry et al., 2007).

Tra le interazioni di tipo negativo vi sono quelle dovute a fitotossine con effetti interspecifici (allamoni) o intraspecifici (Perry et al., 2007). Occorre precisare che l'autotossicità si verifica nel caso di specie vegetali coltivate nello stesso appezzamento di terreno anno dopo anno; così le piantine di *Aparagus officinalis*, il comune asparagio secernono delle sostanze che inibiscono la germinazione dei semi della stessa pianta (Young, 1984); l'autoinibizione ha invece un effetto positivo per la dinamica della popolazione in oggetto e si basa sulla secrezione di composti allelopatici (Perry et al., 2007). Per quanto riguarda gli effetti tra specie diverse, si conoscono diverse sostanze che agiscono a diversi livelli dello sviluppo della pianta, inibendo la germinazione, la crescita radicale, la crescita del germoglio, ecc. Queste sostanze si distinguono oltre che per i loro effetti, anche per la loro struttura chimica e il modo in cui sono prodotte; infatti possono essere rilasciate come essudati radicali, come sostanze dilavate da tessuti vegetali vivi o morti in decomposizione, come composti volatili, ecc. (Perry et al., 2007).

Un caratteristico colloquio molecolare si svolge tra la pianta parassita *Striga* e alcune piante ospiti. La *Striga* è un parassita obbligatorio e non è capace di sopravvivere per un periodo maggiore di 5 giorni senza attaccarsi alla pian-

ta ospite (Palmer et al., 2004; Perry et al., 2007). I semi infatti sono piccoli, hanno una limitata riserva di zuccheri, e germinano solo se sono in presenza di segnali dalla pianta ospite, in genere essudati radicali che variano a seconda della specie vegetale. Nel caso del sorgo, una delle specie di interesse agrario attaccate da questa parassita vegetale, il segnale molecolare è costituito dalla xenognosina mentre la xenognosina e un'altra sostanza che stimola la germinazione della *Striga*, ambedue rilasciate da *Zea mays* L, sono instabili (Fate e Lynn, 1996; Palmer et al., 2004). Questo è un vantaggio perché le sostanze stimolatrici non possono accumularsi e quindi dare dei messaggi falsi di presenza della pianta ospite. Il resorcinolo rilasciato da *Zea mays* L rende stabili gli stimolatori della germinazione così da prolungarne la loro attività e renderli efficaci. Una volta che i semi sono germinati le piantine devono produrre velocemente delle strutture radicali specializzate (*Haustorial formation*) per attaccarsi alla pianta ospite, penetrare nell'epidermide e poi connettersi ai vasi della stessa. Anche qui sono in gioco una serie di messaggi molecolari che preparano da una parte la pianta ospite e dall'altra favoriscono lo sviluppo di queste nuove strutture nella pianta parassita. Sia la pianta ospite che quella parassita producono, ad esempio, acqua ossigenata che è necessaria per l'attività della perossidasi che porta alla formazione di benzochinoni, necessari per lo sviluppo delle strutture radicali della pianta parassita.

Si è scoperto di recente che le piante possono interferire nel “quorum sensing” dei germi patogeni. Come è stato discusso dalla Prof L. Giovanetti le cellule microbiche comunicano tra di loro mediante sostanze, in genere derivati della omoserina lattone (Pinton et al., 2001). I patogeni prima dell'attacco alla pianta devono raggiungere un certo numero di cellule, e questo viene comunicato mediante “quorum sensing”. Alcune piante come il fagiolo, la soia e il pomodoro possono interferire con il “quorum sensing” di patogeni. Ad esempio, gli essudati radicali del fagiolo inibiscono la sintesi della proteasi e di un antibiotico nel patogeno *Chormobacterium violaceum* (Perry et al., 2007).

È importante sottolineare che non è sufficiente il rilascio dello specifico composto da parte delle radici perché il colloquio molecolare abbia successo. Infatti il sito di secrezione deve essere appropriato, il composto non deve essere degradato da microrganismi opportunisti, o trasformato abioticamente o assorbito dai colloidi del suolo e inoltre il composto deve raggiungere il microrganismo o la radice bersaglio. È probabile che *in situ* si abbia l'azione combinata di più essudati radicali che agiscono in sinergia con il composto coinvolto nel colloquio molecolare, come abbiamo visto per il resorcinolo secreto dal mais che stabilizza le sostanze stimolatrici della germinazione dei

semi della pianta parassita *Striga*. Ad esempio, un'azione sinergica potrebbe essere quella di inibire i microrganismi opportunisti o competitori, attrarre i microrganismi bersaglio, stabilizzare il composto in oggetto se instabile o proteggerlo dall'azione degradatrice di enzimi extracellulari.

In conclusione sono stati fatti dei notevoli progressi nella comprensione dei colloqui molecolari tra radici e tra radici e microrganismi del suolo. Tuttavia la maggior parte di queste conoscenze sono state ottenute in laboratorio in sistemi semplici nei quali si è cercato di isolare le diverse variabili, studiando solamente i due organismi coinvolti nel colloquio senza considerare che *in situ* la popolazione microbica è caratterizzata da un'ampia diversità (si parla in media di 6000 specie microbiche presenti in un grammo di suolo; Torsvik et al., 1996; Nannipieri et al., 2003), e quindi da una vasta gamma di funzioni metaboliche, e senza considerare la presenza della parte solida del suolo, in modo particolare le superfici adsorbenti dei colloidi del suolo. Ulteriori ricerche sono necessarie per caratterizzare meglio la complessità biochimica della pianta coinvolta in questi colloqui perché in genere si è prestato una maggiore attenzione agli eventi biochimici del partner microbico. Infine le ricerche sui colloqui molecolari non hanno una sola valenza scientifica ma possono avere notevoli implicazioni pratiche perché il miglioramento delle conoscenze può consentire di metter a punto delle pratiche agronomiche e forestali che consentano di favorire interazioni positive ed evitare le interazioni negative con conseguenze positive per la produttività agraria e forestale e la protezione dell'ambiente.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- BOLLE C. (2004): *The role of GRAS proteins in plant signal transduction and development*, «Planta», 218, pp. 683-692.
- BRUIN J., SABELIS M.W. (2001): *Meta-analysis of laboratory experiments on plant-plant information transfer*, «Biochemical Systematics and Ecology», 29, p. 1089.
- DU Y.J., POPPY G.M., POWELL W., RAO R., PENNACCHIO F. (2002): *Plant-to-plant communication mediating in-flight orientation of *Aphidius ervi**, «Journal Chemical Ecology», 24, p. 1355.
- FATE G.D., LYNN D.G. (1996): *Xenoglossina methylation is critical in defining the chemical potential gradient that regulates the spatial distribution in *Striga* pathogenesis*, «Journal Chemical Society», 118, p. 11369.
- GLINWOOD R., PETTERSSON J., AHMED E., NINKOVIC V., BIRKETT M., PICKETT J. (2003): *Change in acceptability of barley plants to aphids after exposure to allelochemicals from couch-grass (*Elytrigia repens*)*, «Journal Chemical Ecology», 29, p. 261.
- NANNIPIERI P., ASCHER J., CECCHERINI M.T., LANDI L., PIETRAMELLARA G., RENELLA G. (2003): *Microbial diversity and soil functions*, «European Journal Soil Science», 54, pp. 655-670.

- PALMER A.G., GAO R., MARESH J., ERBIL W.K., LYNN D.G. (2004): *Chemical biology of multihost/pathogen interactions: chemical perception and metabolic complementation*, «Annual Review of Phytopathology», 42, p. 439.
- PERRY L.G., ALFORD E.R., HORIUCHI J.-I., PASCHKE M.W., VIVANCO J.M. (2007): *Chemical Signals in the rhizosphere: root-root and root-microbes communication*, in Pinton R., Varanini Z., Nannipieri P. (eds), *The rhizosphere. Biochemistry and organic substances at the soil-plant interface*, Marcel Dekker, New York, in corso di pubblicazione.
- PINTON R., VARANINI Z., NANNIPIERI P. (2001): *The rhizosphere as a site of biochemical interactions among soil components, plants and microorganisms*, in Pinton R., Varanini Z., Nannipieri P. (eds), *The Rhizosphere. Biochemistry and organic substances at the soil-plant interface*, Marcel Dekker, New York, pp. 1-17.
- TORSVIK V.L., SØRHEIM R., GOKSOYR J. (1996): *Total bacterial diversity in soil and sediment communities-a review*, «Journal of Industrial Microbiology», 17, pp. 170-178.
- WERNER D. (2007): *Biochemistry and ecology of the Rhizobium-legume symbiosis*, in Pinton R., Varanini Z., Nannipieri P. (eds), *The rhizosphere. Biochemistry and organic substances at the soil-plant interface*, Marcel Dekker, New York, in corso di pubblicazione.
- YOUNG C.C. (1984): *Autointoxication in root exudates of Aspergillus officinalis L.*, «Plant and Soil», 82, p. 247.