

GLI INVISIBILI IN AGRICOLTURA

Marco Nuti

INDICE

Cap.1 - La società dei microbi

Cap.2 - Dal proto-linguaggio ai comportamenti collettivi

Cap.3 - Gli invisibili e l'agricoltura sostenibile

Cap.4 - Salute del suolo, delle piante, degli animali e degli umani

Cap.5 - La carta dei diritti dei microbi

"Sappiamo di più sul movimento dei corpi celesti che non sul mondo che ci sta sotto i piedi"

Leonardo da Vinci

Questo testo, scritto nella primavera della pandemia CoVid-19, rappresenta le istanze dell'affascinante mondo dei microbi, esseri invisibili all'occhio umano. Spesso considerati sordo-muti e privi delle caratteristiche degli esseri viventi, è invece a loro, esseri parlanti e udenti, che dobbiamo la continuazione della vita su questa Terra da quando sono comparsi come suoi primi abitanti oltre 4 miliardi di anni fa. L'Autore cerca di trarre dalla sua cinquantennale esperienza come microbiologo del suolo tutte le possibili implicazioni che la sua attività di ricerca e didattica, i suoi lunghi viaggi in ogni parte del mondo gli hanno insegnato.

L'Autore

L'Autore è professore Emerito dell'Università di Pisa ed attualmente Affiliato alla Scuola Superiore Sant'Anna di Pisa, Istituto di Scienze della Vita. Ha studiato in Francia, Inghilterra, Olanda e Massachussets (USA). Dal 1968 svolge attività di ricerca nel settore della Microbiologia Agraria pubblicando oltre 400 lavori scientifici. Ha svolto numerosi incarichi presso le Agenzie internazionali ONU, UNDP, FAO, EFSA, ECHA e con la Commissione Europea. Ha insegnato in Università del Cile, Ecuador, Irlanda, Lituania, Mozambico e Somalia. Ha svolto un'intensa attività di diffusione della cultura nel settore delle biotecnologie microbiche in Italia e all'estero. E' Accademico dei Georgofili ed ha fatto parte del Coro dell'Università di Pisa fino al 2019.

Ad Afgoye (*) faceva caldo come al solito. La stagione secca di Jiilaal era appena terminata e bisognava sbrigarsi a seminare per trarre il beneficio delle piogge stagionali di Gu. Questo avrebbe consentito a Faduma di terminare gli esperimenti della sua tesi di laurea e di prepararla per discuterla entro l'anno. Si trattava di valutare se era

possibile far crescere, in quella savana, qualche pianta ricca di proteine da far mangiare al bestiame. Erano arrivati i semi di leguminose da foraggio dall'Australia insieme ai batteri simbiotici specifici; c'erano anche i semi di una leguminosa locale, ma senza i simbiotici. Il terreno era pronto nell'azienda di Folco, dove ci rifornivamo di verdura e frutta ogni settimana; l'Uebi Scebeli, il fiume più lungo della Somalia, poteva all'occorrenza fornire un po' d'irrigazione. I batteri per la concia del seme erano stati propagati in laboratorio come colture liquide in mezzi sterili. Il coperchio dell'autoclave, necessaria per la sterilizzazione, recuperata nella sede dell'United Nations Development Program alla periferia della città, era stato ritrovato in un magazzino a trenta chilometri da Afgoye, in mezzo alla boscaglia. Finalmente si potevano sterilizzare i mezzi di coltura. Lo schema sperimentale della tesi era semplice: i semi di *Stylosanthes guianensis* e *Psophocarpus tetragonolobus* come foraggiere di nuova introduzione sarebbero stati conciatati per metà con i batteri simbiotici e seminati in parcelloni randomizzati. Tanto lo spazio era l'unica cosa che non mancava. I semi della varietà locale di dolico (*Lablab purpureus*) sarebbero stati seminati così com'erano, senza concia. A Faduma fu spiegato un'ultima volta che la concia era necessaria solo per le specie di nuova introduzione e non per il dolico locale, per quest'ultimo si presumeva che i batteri simbiotici fossero presenti in quel terreno. Gli esperimenti andarono tutti a buon fine e fu possibile raccogliere anche i semi, tranne che per due dei cinque parcelloni di dolico, quelli più vicini al fiume, a causa degli ippopotami che si erano mangiati tutte le file delle piantine. Le piantine di *Stylosanthes* e *Psophocarpus* erano cresciute bene soltanto in presenza dei batteri simbiotici. I noduli presenti su tutto il sistema radicale, erano di color rosso vermiglio all'interno, segno della presenza di leg-emoglobina e di un'attività di fissazione dell'azoto atmosferico. Il dolico invece era cresciuto stentatamente e aveva parecchi noduli sparsi sulle radici secondarie. Il contenuto interno dei noduli era bianco, senza leg-emoglobina, segno certo di mancanza di azotofissazione. Faduma si era entusiasmata nell'eseguire, con una lama di coltello

(*) Siamo in Somalia nel 1975, a 13 km a nord di Mogadiscio, nel campus della Facoltà di Agraria dell'Università Nazionale Somala dove i docenti, provenienti da vari Atenei italiani, svolgevano i loro compiti di docenza e ricerca nell'ambito dell'accordo di cooperazione bilaterale.

flambata, questa semplice verifica in laboratorio, esclamando "i microbi sono invisibili, ma molto utili". Aveva ottenuto l'evidenza sperimentale che i batteri simbiotici, che formano noduli radicali azotofissatori, erano indispensabili per far attecchire e crescere la leguminosa ospite, senza dover ricorrere a concimazioni azotate. La tesi fu discussa con successo e Faduma Husein diventò la seconda laureata in Scienze agrarie della Somalia. Purtroppo non poté proseguire la sua borsa di studio perché poco tempo dopo il laboratorio di microbiologia fu distrutto centrato in pieno da un obice di mortaio.

Nel Paese era divampata una guerra tribale fratricida tra il clan di Ali Mahdi e quello di Siad Barre. Ma lo stesso impianto sperimentale usato da Faduma fu poi utilizzato, anni più tardi, nell'azienda La Perla a sud di Maracaibo, in Venezuela, per il miglioramento della produzione foraggera necessaria ai diecimila capi di bestiame che lì erano allevati al pascolo. Furono ottenuti gli stessi risultati di Afgoye; anzi ci fu un miglioramento in quanto il dolico che fu seminato con semi non conciatì crebbe benissimo fornendo un ottimo foraggio. D'altra parte le piante leguminose, grazie all'attività azofissatrice site nei noduli radicali, sono potute sopravvivere milioni di anni anche nei terreni poveri di azoto, stringendo uno strettissimo rapporto di collaborazione con esseri viventi non visibili ad occhio nudo. Il rapporto definito mutualistico tra la pianta che riceve i composti azotati dei quali ha bisogno per crescere ed i batteri simbiotici presenti nella rizosfera permette di ricavare una nicchia ecologica nella quale poter proliferare e ricevere tutti i nutrienti di cui ambedue necessitano. In questa maniera sfuggono ai fenomeni di competizione trofica, sempre possibili in ambienti rizosferici popolati da moltissimi altri microorganismi; sfuggono anche alla pressione di fattori ambientali a volte durissimi. Appena terminata la stagione di Gu cosiddetta delle grandi piogge perché portava i 100-150 millimetri d'acqua in tutto l'anno, furono effettuate due spedizioni a nord di Galcayo sul confine tra Somalia ed Etiopia per rilevare la situazione di una rara pianta leguminosa chiamata localmente "yicib" o "yihib", la *Cordeauxia edulis* ¹. Questo legume arbustivo è considerato in via di estinzione dalla FAO ed è nota fin dai tempi dell'impero romano per le sue caratteristiche: capace di sopravvivere nella savana-deserto dove la piovosità media è sotto i 100 mm annui (la prima spedizione avvenne dopo tre anni che in quella zona non pioveva) e l'alcalinità estrema del terreno, forma baccelli contenenti un solo seme. Talvolta lo "yicib" costituisce l'unica risorsa vegetale edule sia per i nomadi, che arrostitiscono i baccelli sotto la cenere nei piccoli fornelli di sepiolite, che per i loro scarni dromedari e ancor più scarne capre che ne brucano ghiottamente le foglie carnose. Dalle radici si estraeva, già ai tempi della regina di Saba, un tipico pigmento rosso intenso, il cordeauxio-chinone, che veniva utilizzato nell'industria tintoria per colorare i mantelli. Gli Arabi, abituali consumatori di carne di cammello e di capretto dell'Ogaden, per riconoscerne l'origine spezzano un osso dell'animale in vendita e se questo è di color rosso lo comprano ad un buon prezzo. Il sistema radicale della leguminosa può raggiungere i 14 metri di profondità e soltanto dopo la stagione di Gu si formano pochi noduli azotofissatori sulla radice principale, che consentono alla pianta di sopravvivere nel deserto-savana del Corno d'Africa, dove solo leoni affamati, orgogliosi boscagliosi cacciatori o impauriti pastori osano avventurarsi.

Bibliografia

¹ Lepidi A.A., Capretti P., Nuti M.P. (1979) Poorly known nitrogen-fixing symbioses. I. - *Cordeauxia edulis* in the Horn of Africa. L'Agricoltura Italiana 108, 341-348.

Capitolo 1

La società dei microbi

Per ben tre secoli dopo la descrizione, fatta con il suo elementare microscopio, dei morfo-tipi dei batteri da parte del mercante di stoffe e giudice popolare Antonie van Leeuwenhoek nel 1673, i microrganismi oltre che invisibili ad occhio nudo sono stati ritenuti membri di un mondo di sordomuti, esseri pericolosi e solitari. E' solo a partire

dagli anni '70 del secolo scorso che è apparso molto chiaro che si tratta dell'esatto contrario. Infatti durante il corso dell'evoluzione, da quando i procarioti sono apparsi come i primi abitatori viventi della Terra (i primi resti fossili datano 3.7-4.2 miliardi di anni fa per i filamenti nei sedimenti delle correnti idrotermali nel Quebec ¹), ben prima di piante ed animali, i microbi hanno maturato mezzi di comunicazione sofisticati. Questi diversi tipi di comunicazione sono basati innanzitutto su "parole" chimiche. Il sistema di *quorum-sensing* e *anti-quorum-sensing* dei batteri, i fattori Myc nella simbiosi pressoché universale tra radici delle piante e funghi micorrizici, i fattori Nod della simbiosi tra leguminose e Rizobi del terreno sono solo i casi più noti. Questi sistemi permettono a batteri e microfunghi di parlare tra di loro, di parlare con le piante e di parlare con gli animali. Perché si parla di "parole" nella comunicazione utilizzata dai microbi fino a formare un vero e proprio "vocabolario" pronto all'uso? Perché probabilmente queste parole sono i segnali biochimici meno dispendiosi dal punto di vista energetico e forse i più antichi. Infatti alcune parole sono addirittura normali prodotti metabolici, volatili o meno, dei microorganismi. Uno dei fattori Nod dei rizobi è addirittura uno dei mattoni che costituiscono la parete cellulare del batterio, l'acetil-glucosammina. La sequenza dei segnali, tutti sotto rigoroso controllo genetico in entrambi i simbionti, che intercorrono tra batterio e pianta leguminosa è la storia affascinante, vista in chiave antropomorfica, di una richiesta di amicizia, poi di un corteggiamento seguito da un fidanzamento e finalmente da un stabile rapporto di convivenza ². Ma per arrivare a quest'ultimo il rizobio viene all'inizio allontanato, come se fosse un batterio qualsiasi, tramite l'emissione dalla radice di flavonoidi inibitori di crescita microbica. Ma l'astuto rizobio utilizza a proprio vantaggio questa parola per attivare i propri geni *nod* ed inviare subito un'altra parola alla pianta per indurre crescita abnorme dei peli radicali, modificando anche la propria parete cellulare. La pianta resiste ma si addolcisce e dice al batterio "beh, vediamo se sei davvero l'amico che dici di essere". Il batterio risponde inviando segnali per la divisione delle cellule del cortex, s'insinua nel pelo radicale e viaggia verso la base del pelo seguendo docile il nucleo di questo. Qui la pianta gli permette di ramificare il filo d'infezione tra cellula e cellula, avendo ancora qualche residuo dubbio: sarà quel gran vantaggio mettersi insieme a questo tipo? il batterio risponde "guarda come mi trasformo per te.." e, riversandosi dentro le cellule contornato da una specie di sacca, diventa un batteroide. La pianta ormai vinta da tanta amorosa costanza, fabbrica la metà di una molecola (la globina) lasciando al rizobio il compito di fabbricare l'altra metà (il gruppo -eme). Il risultato è la comparsa nella membrana peri-batteroide della leg-emoglobina, pigmento rosso di neo-sintesi unico nel mondo vegetale, che consente il trasporto dell'ossigeno in quantità sufficiente per mantenere attivo il metabolismo del batterio ma in concentrazione non troppo elevata perché distruggerebbe il complesso enzimatico batterico nitrogenasi che con le sue due subunità lega l'azoto e lo riduce a ioni ammonio, con una spesa

energetica notevole. Ma tutto ciò avviene a temperatura ambiente e pressione atmosferica. Non certo come quegli esseri umani che spendono 16-17 tonnellate di petrolio equivalenti per ogni tonnellata di azoto ridotto ad ammoniaca. Il processo industriale dell'azoto-fissazione è infatti costosissimo perché funziona ad alte temperature, elevate pressioni e soprattutto solo se c'è un flusso di idrogeno per ridurre l'azoto dell'aria. Ormai conviventi in modo stabile, pianta e batterio cooperano a pieno ritmo: il rizobio si sbarazza dell'ammoniaca potenzialmente tossica dentro il nodulo azotofissatore, la pianta è ben lieta di mettere in funzione tutti gli enzimi che servono per convogliare quell'azoto fissato sulla sintesi degli aminoacidi. L'agricoltore non spende un soldo per questo processo naturale e sostenibile. Processo che diventa non più sostenibile se poi l'agricoltore vuol far produrre a tutti i costi 5-6 tonnellate di semi alla soia perché allora deve somministrare azoto di sintesi chimica, di solito nitrato, che viene assimilato dalla pianta per il 40-50% al meglio. Il resto viene denitrificato da quegli stessi rizobi che invece dovrebbero fissare l'azoto e non liberarlo in atmosfera insieme ad altri ossidi volatili. Chiedo scusa al lettore per questa storia della simbiosi tra Rizobi e piante leguminose un po' romanzata ma che ha permesso alla stragrande maggioranza delle leguminose di sopravvivere fino ad oggi e che permette al genere umano di gustare i legumi nella propria dieta, e agli animali di alimentarsi di un cibo fortemente proteico sotto tutti i climi e le stagioni.

I microbi si servono di anche di altri sistemi di comunicazione e cioè di suoni, di colori, di vibrazioni per modulare i comportamenti sia dei singoli sia di quelli collettivi. La produzione di bio-luminescenze batteriche in verde, blu, rosso, rosa, arancione sono noti da tempo. Basti pensare alla simbiosi dei batteri luminescenti *Photobacterium* e *Vibrio* con calamari, meduse, pesci lanterna, vongole, anguille, rane pescatrici o a quella di *Photobacterium* con insetti terricoli e nematodi. E' recente acquisizione che nei calamari l'emissione della bio-luminescenza da parte di *Vibrio* modula l'espressione genica multipla nell'ospite³, lasciando intravedere che la conversazione tra batteri e animali è ancor più intima e complessa. Anche la produzione di polisaccaridi nella formazione di biofilms microbici sulle superfici e la produzione di peptidi da parte di alcuni *Streptomyces* tra gli Attinobatteri sono il risultato di conversazioni biochimiche; nel secondo caso i peptidi vengono accumulati durante la formazione del micelio aereo facilitando il rilascio di pseudo-ife emergenti dal micelio immerso nel substrato. E la capacità di alcuni batteri di percepire la presenza di altri organismi include l'abilità di "sentire" ed individuare le cellule target nell'ospite animale, come nel caso di *Enterococcus faecalis*. Tra i comportamenti collettivi più evoluti ci sono quelli della simbiosi intestinale tra batteri e termiti. Andando in giro per le savane australiane ed africane, è facile imbattersi in grandi pinnacoli di forma tronco-conica, vere e proprie case abitate ciascuna da decine di migliaia di una o di un'altra tra le 2.400 specie di

termiti tropicali, organizzate in società con compiti ben differenziati e specifici. Le termiti, come noi umani, non possono digerire le ligno-cellulose, compito che invece viene egregiamente svolto dagli attinobatteri (*Streptomyces*, *Micromonospora*, *Nocardia* ed altri) che abitano simbioticamente nella cavità gastro-intestinale di questi insetti isoteri⁴. Soffermiamoci un momento su questo punto. Alcuni ceppi o specie di attinobatteri sono in grado di rompere i legami tra nuclei aromatici e catene lineari caratteristici della struttura tridimensionale delle lignine, altri sanno togliere gli "ornamenti" degli anelli benzenici come gruppi metilici e metossilici, rendendo così possibile ad altri ceppi e specie di attivare i gruppi aromatici attraverso l'introduzione prima di uno poi di un secondo gruppo ossidrilico. La struttura tridimensionale delle lignine, dopo l'apertura dell'anello benzenico, collassa e i composti lineari o linearizzati entrano nel normale metabolismo microbico. Questo stupendo esempio di integrazione funzionale permette la produzione di energia e di "mattoni" per costruire la casa comune, di cibo per le termiti e per la regina, o le regine, del termitaio, per mantenere in salute tutti quanti vista la capacità degli attinobatteri di sintetizzare antibiotici attivi contro potenziali agenti infettivi. Ma c'è di più: sopra la base all'interno del termitaio si trova il "*fungus comb*" dove i funghi *Termitomyces*, in cooperazione funzionale con gli Attinobatteri, proliferano con la loro rete ifale fino a trovare, alla superficie del termitaio, le condizioni adatte per produrre il corpo fruttifero o sporocarpo. Delle ife e dei primordi dello sporocarpo le termiti-nutrici nutrono la regina che giace sulla piattaforma basale. Il corpo fruttifero del fungo è graditissimo e ghiotto cibo per i locali, soprattutto se mangiato insieme alle regine cucinate allo spiedo come degli hot-dogs. Si è dovuto intervenire con robuste campagne d'informazione per evitare la distruzione dei termitai in Africa centro-orientale (morta la regina, muore tutto il termitaio), così essenziali per mantenere attivo il ciclo del Carbonio in natura in quei climi. Un'altra simbiosi, diffusissima in natura, è quella tra funghi e radici delle piante, vecchio di 400 milioni di anni. Si stima che oltre l'80% delle piante terrestri stabilisca un rapporto mutualistico con i funghi micorrizici, pur con differenze morfologiche tra gruppi di piante e gruppi di funghi: ecto- ed endo-, ectoendo-micorrize, arbutoidi, monotropoidi; alle endo-micorrize appartengono le arbuscolari, le orchidiodi e le ericoidi. Quelle di maggior interesse in agricoltura sono le arbuscolari, diffuse nelle zone tropicali (fino alle isole Galapagos, dove le arbustive *Ricinus communis* e *Psidium guajava* sono micorriza-dipendenti⁵) ai pascoli e colture dei climi mediterranei (tipico il caso dell'olivo⁶). I funghi formano arbuscoli dentro le radici mentre il micelio extra-radical si estende fuori delle radici. Le strutture di neogenesi, cioè gli arbuscoli, assimilano nutrienti dalla pianta e favoriscono a lor volta l'assimilazione di acqua, fosforo, azoto, ferro e zinco da parte della pianta, conferendole anche resilienza agli stress. Un recente studio all'Università di Copenhagen⁷ postula addirittura che fino al 40% delle piante, fin qui ritenute totalmente autosufficienti per il carbonio attraverso

la fotosintesi, potrebbero essere invece debitrici di parte del carbonio ai funghi simbiotici. Il fungo inoltre, attraverso questa rete ifale extra-radicale, permette alle radici di una pianta di scambiare nutrienti con le radici di altre piante. Prima che si stabilisca la simbiosi, tra fungo e pianta c'è un intensissimo scambio di parole fatte di strigolattoni difensivi da parte del vegetale, di fattori Myc come offerta di collaborazione da parte del fungo, di molte proteine enzimatiche che portano alla formazione degli ifopodi, strutture di adesione alla radice, dell'apparato di pre-penetrazione ed infine all'ingresso del fungo nelle cellule della radice e formazione dell'arbuscolo, la tipica espressione dell'avvenuta simbiosi. Per avere un'idea delle dimensioni, se in un solo grammo di suolo l'estensione delle ife fungine può raggiungere facilmente i trenta metri, il micelio extra-radicale dei funghi micorrizici rappresenta una frazione rilevante delle tre tonnellate medie della biomassa microbica per ettaro, considerato qui per 25 cm di profondità dello strato arabile. In natura esistono altre decine di successioni, cicli di vita integrati, simbiosi e commensalismi che vengono considerati virtuosi e pertanto rappresentano una preziosa fonte di conoscenze, oggi più che mai quando si parla di agricoltura sostenibile. E' vero peraltro che non mancano altri comportamenti assai meno edificanti, che rendono Abele e Caino oppure Romolo e Remo solo dei tristi epigoni dei microrganismi. Ad esempio ci sono alcuni membri di una popolazione geneticamente omogenea che possono uccidere altri membri della stessa popolazione, come nel caso del cannibalismo in *Bacillus subtilis* e dell'allolisi in *Streptococcus pneumoniae*. Ma l'attitudine alla cooperazione nei cicli biogeochimici in natura è sicuramente un comportamento microbico prevalente ed è su questo spirito cooperativo che ci soffermeremo in questo libro. Inoltre, i microbi posseggono altre due caratteristiche peculiari: non sono mai soli e conducono un'intensa vita di relazione

⁸. Non sono mai soli nel senso che vivono in piccole o grandi comunità con una suddivisione dei compiti proporzionale alle loro capacità metaboliche. Basti pensare alle successioni di intere popolazioni microbiche in rizosfera, sito decisamente affollato da migliaia di specie diverse; quando le prime popolazioni esauriscono l'ossigeno disponibile, entrano in uno stato di quiescenza (cellule vitali ma che non si moltiplicano) cedendo il passo a quelle micro-aerofile che hanno bisogno di concentrazioni via via minori di ossigeno fino ad andare esse stesse in quiescenza ed essere sostituite da quelle anossigeniche che non potrebbero crescere in presenza di ossigeno atmosferico. Ed è da notare che non si tratta di popolazioni tassonomicamente omogenee, anzi, sono composte da generi e specie diverse anche filogeneticamente lontane. Tutte e tre le popolazioni, utilizzando accettori terminali degli elettroni diversi, dall'ossigeno per formare acqua al nitrato per produrre forme di azoto volatile incluso l'azoto gassoso, traggono l'energia di cui abbisognano dagli essudati della radice e dai nutrienti che trovano nel terreno. Contemporaneamente, da questo turn-over microbico la pianta può assimilare gli elementi di cui ha bisogno e continuare a cedere carbonio, ormai in forma organicata,

attraverso gli essudati e gli esfoliati radicali. Ci sono poi dei microbi più intraprendenti che, convertendo le parole chimiche della pianta che vorrebbe tenerli lontano in quanto potenzialmente pericolosi e forse troppo entranti in parole di amicizia e di offerta di collaborazione, riescono ad intavolare una conversazione con la pianta che consente loro di entrare nella radice fino al cortex ed ai vasi xilematici, diventando endofiti. Nel terreno lontano dalle radici dei vegetali, i microbi vivono riuniti in microcolonie all'interno dei microaggregati, anche quelli occlusi, cioè le particelle con dimensioni tra 50 e 250 micrometri, a formare quello che si chiama il microbioma del terreno. Secondo l'accezione di Schläeppli e Bulgarelli ⁹ per "microbiota" intendiamo il numero totale dei microorganismi (batteri, archea, lieviti, funghi, virus) in un determinato ambiente; il termine si riferisce alla tassonomia ed abbondanza dei membri della comunità. Per "microbioma" invece intendiamo il numero totale dei genomi di un microbiota. Il termine è utilizzato per descrivere l'entità dei caratteri microbici, cioè le funzioni che sono codificate in un microbiota. Quest'ultimo concorre insieme agli altri componenti del biota (micro- e meso-fauna) a mantenere vivo, sano ed attivo il suolo stesso sia esso forestato, incolto od agricolo in tutti i climi e tutte le latitudini. Il microbiota del terreno è dotato di un'incredibile biodiversità sia tassonomica che funzionale, essendo le due cose in relazione diretta tra di loro. Nel senso che a seconda delle condizioni pedo-climatiche o agli interventi di natura antropogenica le funzioni di un gruppo possono essere mutate da un altro pur se tassonomicamente diverso, come se si fosse formata una società di mutuo soccorso. In questo senso maggiore è la biodiversità microbica e maggiore sono la funzionalità di quel suolo e la sua resilienza agli stress.

I tratti caratteriali nella società dei microbi hanno un'enorme ricaduta non soltanto nel terreno che sia esso coltivato o meno, ma anche per tutti i processi di biotrasformazione e nella catena alimentare animale ed umana: basti pensare alla produzione dei foraggi insilati, dei lattici fermentati (in un granulo di kephyr opera un consorzio microbico costituito da più di una decina di ceppi batterici e lieviti, perfettamente integrati dal punto di vista funzionale), alle tradizionali bevande fermentate vino e birra, ai formaggi, al pane e al riso fermentato. Ma pensiamo anche alla produzione di biogas, al compostaggio e tutti quei processi nei quali i consorzi microbici sono il volano della trasformazione. I microbi non si limitano ad essere agenti di trasformazione di materie prime, agendo sotto forma di consorzi multi-specie o multi-ceppo, ma hanno un impatto determinante sullo stato di salute del suolo, delle piante, degli animali e dell'uomo. Questo impatto è dovuto sia alla loro densità, cioè come numero di cellule per unità di peso o di volume, sia alla loro biodiversità. Ora, se nell'intestino umano ci sono 10^{13} cellule microbiche per millilitro di fluido gastrico, nella rizosfera delle piante ce ne sono 10^9 - 10^{10} per grammo di terreno rizosferico. I due habitat rappresentano le densità cellulari massime dei microrganismi nella biosfera, e

ce ne sarà pure una ragione. Per rendersene conto basti pensare alle alterazioni del microbioma intestinale (disbiosi) che possono essere causate da stress o malsana nutrizione. Le disbiosi sono state dimostrate in collegamento causale con una serie di gravi patologie¹⁰ quali diabete di tipo 2, depressione, ansietà, alterazioni del sistema cognitivo, obesità, alcuni tipi di cancro, alterazioni del colesterolo, disfunzioni del sistema immunitario. Questi stati patologici possono verificarsi nelle varie età dello sviluppo, dall'infanzia all'adolescenza all'età adulta e nell'invecchiamento con conseguenze assai gravi; negli adolescenti ad esempio vi è una correlazione precisa¹¹ tra disbiosi intestinali e lo stato di salute mentale (controllo degli impulsi, stati d' ansia, compulsività, abuso di sostanze, disordini intestinali, schizofrenia, depressione, deficit attenzionali). Domandiamoci ora cosa possiamo fare quando il microbiota intestinale umano entra in uno stato di disbiosi. Quando esso è alterato possiamo ad esempio ingerire probiotici, quali *Lactobacillus rhamnosus* o *Bifidobacteria longum*, oppure prebiotici, quali i gluco-oligosaccaridi o i frutto-oligosaccaridi, e ci curiamo per ristabilire l'equilibrio del microbioma, ottenendo così una riduzione di ansietà o depressione, funzioni cognitive migliorate, risposta ridotta allo stress. La cura è diversa a seconda delle fasce di età: per infanzia, adolescenza, età adulta, età avanzata esistono ceppi e specie diverse di microorganismi. Pur complessa ma non molto diversa nei principi di base è la situazione per le piante. Esse possono entrare in disbiosi per alterato stato nutrizionale, per l'intervento di microbi fitopatogeni, per le condizioni pedo-climatiche e ambientali, per interventi di origine antropogenica *in primis* la gestione agronomica. E allora il motore della loro nutrizione e resilienza, il microbioma rizosferico e quello degli endofiti, cioè dei microbi che stanno all'interno delle varie parti della pianta, vanno in tilt. Il profilo del microbioma cambia, i membri della società non riescono più a parlarsi né tra loro né con le piante come avevano fatto fino alla comparsa delle cause dello stress. Bisogna ristabilire l'equilibrio dinamico dei sistemi rizosferici rimuovendo con cura le cause dello stress, assicurando alle piante una nutrizione adeguata, un terreno con adeguata presenza di sostanza organica, la rimozione degli inquinanti, mitigando fin dove possibile gli effetti degli eventi di origine non antropogenica.

E' chiaro, già da queste prime evidenze, che dobbiamo continuare ad esplorare l'ignoto per avere maggior conoscenza della società dei microbi i quali, con i loro meccanismi di cooperazione e i loro rapporti interattivi così diffusi nella biosfera, utilizzano un immenso vocabolario a noi ancora largamente ignoto per comunicare tra di loro, per comunicare con i vegetali e con gli animali. In fondo, la società dei microbi è venuta ben prima della nostra su questa terra e noi siamo gli allievi.

Bibliografia

- ¹ Dodd, M. et al. (2017). Evidence for early life in Earth's oldest hydrothermal vent precipitates. *Nature* 543, 60-64 <https://doi.org/10.1038/nature21377>
- ² Nuti M.P., Squartini A. (1987) Linguaggio molecolare fra batteri e piante. *Biotec* 2 (n.3), 30-37.
- ³ Moriano-Gutierrez S. et al. (2019) Critical symbiont signals drive both local and systemic changes in diet and developmental host gene expression. *PNAS* <https://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1819897116>
- ⁴ Pasti, M.B., Pometto 3rd A.L., Nuti M.P., Crawford D.L. (1990) Lignin-solubilizing ability of actinomycetes isolated from termite (*Termitidae*) gut. *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 2213-2218.
- ⁵ Schmidt, S., Scow, K. (1986). Mycorrhizal Fungi on the Galapagos Islands. *Biotropica*, 18(3), 236-240. doi:10.2307/2388491
- ⁶ Briccoli Bati C. et al. (2016) Le micorrize. In "Manuale per la produzione, gestione e difesa dell'olivo in vivaio" a cura di T.Caruso et al., ISBN 978-88-88793-93-1
- ⁷ Gieseemann P. et al. (2020) Discreet heterotrophs: green plants that receive fungal carbon through Paris-type arbuscular mycorrhiza. *New Phytologist* 226, 960-966.
- ⁸ Selosse M.A. (2017) Jamais seuls - Ces microbes qui construisent les plantes, les animaux et les civilisations. Ed. Actes Sud, Le Méjan, Arles, pp.352.
- ⁹ Schlaeppi C., Bulgarelli D. (2015) The Plant Microbiome at Work. *Mol. Plant-Microbe Interactions* 28, 212-217.
- ¹⁰ Dinan T.G., Cryan J.F. (2017) Gut instincts: microbiota as a key regulator of brain development, ageing and neurodegeneration. *J. Physiol.* 595, 489-503.
- ¹¹ McVey Neufeld K., et al. (2015) What's bugging your teen ? - The microbiota and adolescent mental health. *Neuroscience and Biobehavioral Rev.* 70, 300-312.

Capitolo 2

Dal proto-linguaggio ai comportamenti collettivi

In ogni società che si rispetti la base del convivere è costituita dall'uso di un linguaggio fra gli esseri della stessa specie. Poiché la società dei microbi è formata da moltissime specie (in un grammo di terra possono convivere fino a 4.000 specie diverse), ci

possiamo aspettare che vi siano molte lingue oppure molti dialetti di una stessa lingua. Questo dilemma non ha ancora una soluzione certa, pur se alcuni tratti comuni di un linguaggio possono essere individuati, con sfumature dialettali diverse: tra i batteri il quorum sensing (N-acil-omoserina-delta-lattone, N-aril-omoserina-delta-lattone, alfa-pirone, dialchil-resorcinoli tra batteri gram-negativi, sistema quorum-sensing opina-dipendente) emissione di composti volatili (nei microfunghi attivano l'espressione dei geni di difesa e l'accumulo di fitoalessine, nei rizobatteri inibiscono la crescita miceliare di *Sclerotinia sclerotiorum*), emissione di vibrazioni (suoni), emissione di colori, emissione di sostanze chimiche (antibiotici, acido cianidrico, siderofori, citochinine, kinetine, acido indolacetico, sostanze di biocontrollo dei fitopatogeni, biocidi).

Appare chiaro che i linguaggi usati dai microbi, cioè sia l'emissione che la percezione di segnali anche a distanza, sono sotto stretto controllo genetico. Per alcuni batteri è stato possibile dimostrare che la produzione, il rilascio e la percezione delle molecole-segno (definite come elementi di un "vocabolario" chimico) vengono utilizzati per misurare la densità della popolazione che cresce e per controllare il suo comportamento in risposta alle variazioni del numero degli individui e alle variazioni degli stimoli ambientali. E sono diversi i casi dimostrati nei quali il linguaggio è utilizzato per determinare il comportamento degli individui all'interno e all'esterno di una popolazione. Lo scambio di informazioni tra cellule e cellule non si limita a favorire, ad esempio, la formazione di spore (*B. subtilis*) o a tenere a debita distanza di sicurezza le cellule viciniori potenzialmente inibitorie della crescita (*E.coli*), ma si spinge fino a determinare i comportamenti collettivi di una comunità: la produzione di polisaccaridi nella formazione di un biofilm, la produzione di peptidi in popolazioni di attinobatteri (*Streptomyces caelicolor* e *S. tendae*), che si accumulano extracellularmente durante la formazione del micelio aereo servendo così da surfattanti per facilitare il rilascio di ife aeree nascenti dal micelio da substrato. Altro che società di sordomuti! Al contrario: una congerie di molecole-segno di piccole e grandi dimensioni, d'induttori e repressori di attività biochimiche, di attivatori e repressori dell'espressione genica nei propri simili e attraverso la cosiddetta barriera tra i procarioti ed eucarioti, popola il denso mondo dei microbi sulla Terra, dei quali la quasi totalità è utile o indispensabile per la continuazione della vita su questo pianeta, per la produzione di derrate alimentari e per la salute dell'ambiente, senza peraltro dimenticare che una minoranza del microbiota è o può diventare, nella sua smania di sopravvivere e proliferare appena se ne presenti l'occasione buona e ci siano le condizioni adatte, dannosa per la salute del genere umano, degli animali e delle piante.

Tutto quanto abbiamo detto finora per la società dei microbi avviene nell'intervallo delle condizioni climatiche caratteristiche dei climi temperati e tropicali fino a quelli artici.

Ma la memoria dei microbi è assai più antica delle attuali condizioni di vita per così dire rilassate e permissive. Essa infatti si spinge indietro nel tempo, quando le condizioni climatiche sulla terra erano estreme, i vulcani nelle profondità marine erano in continua attività e le rocce eruttate non erano pronte alla transizione per diventare suolo. Quelle condizioni vedevano i gas vulcanici dominare senza ossigeno ma ricchi in idrogeno, metano e monossido di carbonio, mentre le acque nelle quali s'infiltravano erano più ricche di ossigeno. Probabilmente l'interfaccia di fasi acquose e gassose, le elevate temperature e acidità o alcalinità estreme, hanno favorito la comparsa dei microbi più antichi, gli Archea, che utilizzano le diverse reazioni chimiche invece della luce come sorgente di energia¹. E' una vera fortuna che queste condizioni siano ancora presenti nella enorme caldera del parco di Yellowstone, permettendo così di isolare e coltivare questi microbi, veri "fossili" viventi, di studiarne le attività e caratteristiche nel loro proprio ambiente, di svelarne la presenza se non coltivabili. Ricordiamoci che il *Thermus aquaticus* isolato dal bacino del geyser Norris nella caldera di Yellowstone cresce a 80°C ed è stato utilizzato per estrarre la Taq polimerasi, l'enzima termo-resistente usato nella PCR (*polimerase chain reaction*) per l'amplificazione del DNA, reazione chiave della biologia molecolare. E insieme al *Thermus* provengono da Yellowstone moltissimi di quei microbi che crescono ad alte temperature, fino a 80-90°C, e caratteristiche uniche: i batteri cellulosolitici *Caldicellulosiruptor obsidiansis* utilizzati nella biodegradazione termofila della cellulosa per la produzione di etanolo, i coloratissimi cianobatteri fotosintetici che tre miliardi di anni fa aiutarono a produrre l'ossigeno che caratterizza l'atmosfera attuale, i batteri termo-estremofili *Sulfolobus acidocaldarius* che cresce a spese dell'idrogeno solforato emesso dai vulcani, convertendolo in acido solforico che a sua volta degrada la roccia vulcanica iniziando il processo di pedogenesi. Finora si tratta di procarioti, microrganismi con organizzazione metabolica, fisiologica, genetica condensata in un'unica cellula. Per quanto riguarda gli eucarioti, si ritiene che il primo organismo ancestrale sia vissuto durante l'era Mesoproterozoica, cioè 1-1.6 miliardi di anni fa². Nelle rocce sedimentarie dell'India centrale sono stati rinvenuti strati di cianobatteri fotosintetici insieme ad organismi filamentosi e lobati con le caratteristiche delle moderne eucariotiche alghe rosse, mentre recentemente è stato descritto³ un reperto di una rete miceliare di microfunghi in rocce dolomitiche risalenti a 715-810 milioni di anni fa a Mbuji-Mayi nella Repubblica Democratica del Congo. Ma torniamo ai giorni nostri.

Quando Sergej Nikolaevič Vinogradskij nel 1919 ricevette da Emilio Roux, successore di Luigi Pasteur alla direzione dell'istituto omonimo a Parigi, una lettera d'invito in cui gli chiedeva se fosse possibile trasferirsi da S. Pietroburgo a Parigi, aveva già scoperto e descritto i batteri chemio-litotrofi della nitrificazione, cioè quelli che utilizzano l'anidride carbonica come fonte di carbonio e le reazioni di ossido-riduzione come fonte

di energia. Vinogradskij fu ben lieto di fuggire, insieme alla figlia Elena, dalla rivoluzione bolscevica in atto, che gli impediva di proseguire nei suoi studi. Nel 1921 divenne capo di un reparto per lo studio della microbiologia del terreno, presso l'Institut Pasteur di Brie-Comte-Robert a Seine sur Marne. Altre scoperte seguirono: i solfobatteri, i ferrobatteri, alcuni batteri fissatori d'azoto. Era l'inizio della microbiologia del suolo che ha visto in Francia anche altri epigoni: negli anni '50 Jules Pochon⁴ e negli anni '70 Yvon Dommergues⁵, che ne hanno definito le metodologie, i contenuti scientifici e le applicazioni in agronomia. Il maggior merito della Scuola francese è quello di aver fatto tesoro delle scoperte del "periodo d'oro" dei pionieri della microbiologia che avevano isolato in coltura pura e descritto microbi nuovi, legando queste conoscenze alle funzioni ecologiche dei vari microrganismi considerati non tanto individualmente ma come membri di gruppi denominati "fisiologici" cioè gruppi di generi e specie tassonomicamente diverse di microbi accomunati per la loro funzione ecologica prevalente. Ecco che i comportamenti dei microrganismi, potendo essere considerati collettivi, consentono di definirne sia il ruolo nei cicli biogeochimici in natura sia la gestione in agricoltura e nelle foreste. Quest'ultima può così diventare "ecologica". Le tecniche di valutazione dei gruppi fisiologici presenti nel terreno, sviluppate negli anni '60, pur restando valide per le popolazioni coltivabili, devono essere integrate con gli approcci meta-genomici più moderni per arrivare, risultato ancora non completamente raggiunto, alla individuazione delle funzioni delle popolazioni non coltivabili. In questo modo sarà più agevole indirizzare la gestione agronomica verso obiettivi di maggiore sostenibilità. In effetti lo studio del microbioma del suolo ha fatto decisivi passi in avanti indicando gli effetti delle pratiche colturali sull'insieme delle popolazioni microbiche coltivabili o meno⁶, sulla localizzazione di batteri e microfunghi negli aggregati⁷ e più in generale delle dinamiche del biota terricolo⁸. E veniamo ad alcuni aspetti dei cicli biogeochimici in agricoltura che riguardano gli elementi biogenici carbonio, azoto, solfo, fosforo senza dimenticare che altri elementi come ferro e manganese vanno incontro a reazioni di solubilizzazione-insolubilizzazione, ossido-riduzione ad opera dei gruppi fisiologici dei ferrobatteri e dei manganobatteri. Per il carbonio, la posizione del microbiota terricolo per i millenni successivi alla sedentarizzazione dei cacciatori-raccoglitori, cioè l'inizio delle attività agricole si è confrontata praticamente con la capacità fotosintetica delle piante coltivate e la degradazione dei residui colturali di queste ultime, insieme alla degradazione dei residui carboniosi dell'allevamento animale. Quindi il lavoro coordinato dei microbi ligninolitici, cellulosolitici, emicellulosolitici, pectinolitici, cheratinolitici è continuato, perturbato solo da eventi climatici o comunque naturali come gli incendi, le eruzioni vulcaniche, glaciazioni e per niente o molto poco per cause antropogeniche. E' dall'inizio della utilizzazione su scala industriale delle fonti non rinnovabili e della immissione di composti del carbonio non degradabili che lo scenario è cambiato e che il lavoro dei

microbi si è fatto improbo, cioè da poco più di un secolo. Da un lato l'aumento della produttività delle piante coltivate (intensivizzazione, uso di forti inputs energetici) e dei loro residui colturali ha aumentato a dismisura le attività respiratorio-degradative microbiche da un lato, con il conseguente consumo delle riserve energetiche del terreno cioè della sostanza organica che oggi continua a diminuire dappertutto nei terreni coltivati, dall'altro lato ha reso impossibile il lavoro di disinquinamento microbico perché gli enzimi del microbiota non riconoscono le strutture di sintesi chimica disegnate apposta per non essere degradate. Ecco che con grande e crescente insistenza si parla dei "carbon stocks" nel terreno, cioè di quei serbatoi di carbonio dei quali il genere umano mai si era dovuto occupare semplicemente perché il ciclo del carbonio in natura e in agricoltura era in equilibrio, pur dinamico, tra le perdite (emissioni di anidride carbonica) e guadagni (fotosintesi vegetale e microbica e successiva incorporazione del carbonio nelle frazioni a lenta degradazione della sostanza organica). Allo stesso modo ora si parla molto anche di "bioremediation" per tentare di arginare il crescente stato di inquinamento dei terreni, utilizzando piante e microrganismi. Ma non sarebbe più semplice, oltre che logico, evitare di immettere nell'ambiente e in agricoltura le sostanze che non possono essere degradate né dai bioti e microbioti dei corpi idrici, né da quelli terricoli né dalle piante? Non sarà forse la prevenzione la miglior cura?

Nel ciclo dell'azoto, i comportamenti collettivi dei microbi sono anch'essi integrati in un *continuum* come per il ciclo del carbonio. Considerando che il *reservoir* maggiore di azoto è l'atmosfera che ne contiene quasi l'80%, vi è una fase in più, operata esclusivamente da batteri: l'azoto atmosferico viene fissato da batteri aerobi e anaerobi (*Azotobacter*, *Clostridium*), cianobatteri, batteri simbiotici delle radici di leguminose (*Rizobi*) o delle non-leguminose (attinobatteri *Frankia*) a formare vari tipi d'azoto organico che si accumula nei microbi, nei vegetali, negli animali e che poi confluisce nei residui, nelle deiezioni e nei cadaveri. Queste forme di azoto vengono ammonificate da batteri e funghi, l'azoto ammoniacale solo in parte è assimilabile dalle piante e viene quindi nitrificato prima in azoto nitroso da batteri chemio-litotrofi (*Nitrosomonas*, *Nitrospira*) e poi ulteriormente ossidato da batteri (*Nitrobacter*) in azoto nitrico, forma facilmente assimilabile dalle piante. Là dove ricorrono le condizioni, ad esempio l'assenza di ossigeno, l'azoto nitrico può essere ridotto, cioè denitrificato in forme volatili fino ad azoto gassoso dai batteri denitrificanti. E ci sono batteri che possono fissare l'azoto atmosferico o denitrificare a seconda delle condizioni ambientali, come fanno gli stessi *Rizobi* in rizosfera quando scarseggia o viene a mancare l'ossigeno. L'estrema flessibilità metabolica collettiva, la capacità di adattamento dei vari gruppi fisiologici alle mutevoli condizioni pedo-climatiche fanno sì che a distanza di pochi millimetri l'enorme potenziale microbico si possa sempre esprimere.

A volte le piante vanno incontro a delle vere e proprie disavventure senza l'aiuto dei microbi. E' il caso della coltivazione del tartufo. Nel 1990, dopo molte esitazioni, ma rincuorato da un paio di visite ad impianti tartufigeni del Piemonte e delle Marche, ebbi l'idea di impiantare una tartufaia. Fu scelto un anfiteatro naturale in mezzo alle colline di Vinci, un'area di un paio di ettari non lontana dalle zone vocate per il *Tuber magnatum* e il *T. melanosporum* di S. Miniato. La presenza di un bel laghetto, poi colonizzato da alcuni aironi cinerini, ai piedi dell'anfiteatro faceva ben sperare per le irrigazioni di soccorso in caso di siccità. Preparato il terreno, disegnate le linee a semicerchio per l'installazione delle piantine di rovere, roverella, farnia e cisto sulla parte alta e di salice e pioppo nero verso il laghetto, si attese la primavera per il trapianto dal vivaio. Le novecento piantine erano state tutte micorrizzate con i funghi simbiotici. Poste a dimora, fu necessario circondare ogni plantula con delle reti metalliche per evitare che lepri ed altri animali facessero lauti pasti con le foglioline appena nate. La primavera successiva fu chiaro che vi erano delle fallanze e che alcune plantule, nelle quali le micorrize non avevano attecchito, non erano cresciute. Bisognava tener presente che quel terreno era ricco di calcare attivo, con conseguente probabile insolubilizzazione del fosforo. Si volle fare un'ulteriore prova e una ventina di plantule fu trattata tutto intorno al piede con carbonato di calcio per insolubilizzare completamente il fosforo del terreno sotto forma di fosfato tricalcico. Già dopo poche settimane le plantule trattate davano chiari segni di ritardata crescita. Ma dopo qualche tempo le micorrize ebbero la meglio e le piante tornarono a crescere rigogliose. Per evitare di perdere il primo gruppo senza micorrize, alle quali in pratica era impedita la nutrizione fosfatica, procedemmo ad una seconda micorrizzazione, utilizzando sospensioni di spore per l'inoculo vicino alle radici. La primavera successiva tornarono a vegetare molto bene, segno evidente che la micorrizzazione riesce a superare il problema dell'assimilazione del fosforo insolubile. Al terzo anno dall'impianto iniziò la produzione del tartufo bianco, l'anno successivo di quello nero. La piena cooperazione tra piante e funghi aveva avuto la meglio.

Lo zolfo nel suolo è in forma sia organica che inorganica, ma la deficienza di questo elemento sta diventando un problema, grave in alcune aree come nel cerrado brasiliano, a causa delle pratiche agronomiche (incremento dei prodotti fertilizzanti con alte concentrazioni di azoto e fosforo, ma senza zolfo) le elevate esportazioni di biomasse vegetali conseguenti all'incremento delle rese per ettaro, le ridotte emissioni di zolfo in atmosfera sotto forma di anidride solforosa. Generalmente il 95% dello zolfo nel terreno è presente in forma organica negli orizzonti superficiali. Questa forma però non è prontamente assimilabile dalle piante, che invece assimilano prontamente la forma inorganica, il solfato. Quindi lo zolfo organico è una fonte potenziale importante di questo elemento ma necessita di essere mineralizzato. Si conoscono varie forme a diverso stato di ossidazione, legate alla sostanza organica più o meno umificata. Le

forme più ridotte comprendono mono-, di- e poli-solfuri, tioli e tiofeni, quelle ad uno stato medio di ossidazione comprendono sulfossidi e sulfonati, quella altamente ossidata rappresentata da esteri solfati. Questa varietà di forme di zolfo nel terreno richiedono un'elevata biodiversità del microbiota, che in effetti è in grado di immobilizzare, mineralizzare, ossidare e ridurre lo zolfo con un notevole spirito di collaborazione di attività enzimatiche. D'altra parte, era stato Vinogradsky stesso nel 1887 a scoprire che *Beggiatoa* è in grado di utilizzare l'idrogeno solforato come fonte di energia e l'anidride carbonica come fonte di carbonio e Beijerinck pochi anni dopo isolava due batteri, *Thiobacillus denitrificans* e *Thiobacillus thioparus* che sono dei potenti zolfo-ossidanti. Quando la sostanza organica ha un rapporto carbonio/zolfo maggiore di 400 prevale l'immobilizzazione, seppur temporanea, del solfato prontamente assimilabile dalle piante. Quando invece i residui organici (animali e vegetali, la biomassa microbica e i suoi metaboliti, le sostanze umificate) hanno un rapporto carbonio/zolfo inferiore a 200, prevalgono i microbi che mineralizzano. Quando il rapporto è fra 200 e 400, non si hanno cambiamenti sostanziali del solfato minerale nella soluzione circolante e le attività microbiche organocanti, nel suolo, e mineralizzanti, prevalenti in rizosfera, sono in equilibrio. E ci sono anche i solfobatteri con attività multiple, sullo zolfo e sul ferro, *Acidithiobacillus ferrooxidans* e *Acidithiobacillus thiooxidans*, capaci di ossidare il ferro e il tiosolfato. Dalla rizosfera di piante leguminose sono stati isolate varie specie di *Paracoccus* in grado di ossidare tiosolfati, tetrati, tiocianati, solfuri e zolfo elementare. Quest'ultimo può essere ossidato anche da alcune specie rizosferiche di leguminose e cisticole di *Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Azospirillum* e *Pseudoxanthomonas*. Ancora una volta la biodiversità funzionale, cioè l'interazione dei comportamenti collettivi dei microbi, soccorre la nutrizione delle piante.

Bibliografia

¹ Colman D.R., Lindsay M.R., Boyd E.B. (2019) Mixing of meteoric and geothermal fluids supports hyperdiverse chemosynthetic hydrothermal communities. *Nature Communications* 10 (1) DOI: 10.1038/s41467-019-08499-1.

- ² Bengtson S., Sallstedt T., Belivanova V., Whitehouse M. (2017) Three-dimensional preservation of cellular and subcellular structures suggests 1.6 billion-year-old crown-group red algae. PLoS Biol 15(3): e2000735. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2000735>
- ³ Bonneville S. et al. (2020) Molecular identification of fungi microfossils in a Neoproterozoic shale rock. Sci. Adv. 6 : eaax7599.
- ⁴ Pochon J. (1954) Manuel technique d'analyse microbiologique du sol. Masson Ed., Paris, pp.123.
- ⁵ Dommergues Y., Mangenot F. (1970) Écologie microbienne du sol. Masson Ed. Paris.
- ⁶ Piazza G., Ercoli L., Nuti M., Pellegrino E. (2019) Interaction between conservation tillage and nitrogen fertilization shapes prokaryotic and fungal diversity at different soil depths: evidence from a 23-year field experiment in the mediterranean area. Frontiers of Microbiology 10, Article 2047 | doi: 10.3389/fmicb.2019.02047
- ⁷ Piazza, G., Pellegrino, E., Moscatelli, M. C., and Ercoli, E. (2020) Long-term conservation tillage and nitrogen fertilization effects on soil aggregate distribution, nutrient stocks and enzymatic activities in bulk soil and occluded microaggregates. Soil and Tillage Research 196, 104482.
- ⁸ Piazza, G., Ercoli, L., Helgason T., Pellegrino, E. (2020) Soil biota metabarcoding reveals how communities are structured in occluded microaggregates under long-term conservation and conventional agriculture (in the press).

Capitolo 3

Gli invisibili e l'agricoltura sostenibile

La società dei microbi in agricoltura è una società molto ben organizzata. Quando si distribuisce un ammendante o un fertilizzante nel terreno per migliorare la nutrizione delle piante, si mette inavvertitamente in moto una serie di reazioni biochimiche, operate da microrganismi sia procarioti che eucarioti, fortemente integrate tra loro in modo tale che le piante dispongono degli elementi minerali in forma assimilabile. Anche l'uso diretto di microbi in agricoltura è possibile sia per favorire, o consentire in alcuni casi, la nutrizione delle piante coltivate, per difenderle dai fitopatogeni e aiutarle a superare gli stress ambientali. In effetti, nell'ottica di un'agricoltura produttiva e sostenibile, i microrganismi benefici sono stati utilizzati: fin dal 1896 (i primi inoculanti a base di *Rizobi* sul mercato), dal 1937 alcuni batteri per la difesa delle piante (*Bacillus thuringiensis*) e durante la seconda metà del secolo scorso i funghi AMF (funghi micorrizici arbuscolari) per incrementare le rese produttive. In uno studio di meta-analisi¹ sono stati presi in esame gli effetti della micorrizzazione del grano dal 1975 al 2013. L'incremento, basato su 333 osservazioni, varia fino a 20% per la granella, contenuto e concentrazione di fosforo della parte soprasuolo, contenuto di azoto della parte soprasuolo, di oltre il 20% per il contenuto in azoto della granella e l'indice di raccolta, di oltre il 50% per il contenuto di fosforo nella paglia. In un altro studio² sugli effetti della concia del riso con *Rizobi* considerati per il loro potenziale di promotori della crescita della pianta, l'inoculo ha fatto aumentare significativamente, nel Delta del Nilo, le rese del grano tra 9.2 e 22.5 % rispetto alle medie produttive degli agricoltori della stessa area, usando le stesse varietà nei campi adiacenti, cioè con un aumento di 4.8 - 7.1 tonnellate per ettaro in cinque diverse annate (2003 - 2008). Oggi, nel faticoso cammino verso la l'agricoltura *smart*, abbiamo a disposizione altre categorie di prodotti: gli ammendanti compostati prodotti con consorzi microbici (bio-fertilizzanti) e i biostimolanti costituiti da singole specie o consorzi microbici. In Brasile sono utilizzati biofertilizzanti contenenti fosfati minerali, zolfo elementare e *Acidithiobacillus thiooxidans* per la concimazione fosfatica di canna da zucchero, vite, melone e *Vigna unguiculata* (il comune "cow-pea"). Ripetute sperimentazioni di campo hanno dimostrato che l'uso di consorzi microbici contenenti batteri rizosferici, saprofiti, endofiti e funghi micorrizici fanno aumentare la crescita della pianta, la fruttificazione, l'efficienza dell'uso dei nutrienti, le rese per ettaro, la tolleranza ad un ampio spettro di stress abiotici³.

Possiamo utilizzare anche virus, batteri, attinobatteri e microfunghi come agenti di controllo biologico delle fitopatie. Esistono 91 ceppi di microrganismi registrati in Unione Europea per la protezione delle piante, e almeno tre volte tanti i prodotti formulati, registrati nei vari Paesi dell'Unione. Tutti i prodotti a base di microrganismi per la protezione delle piante, collettivamente chiamati "microbials", sono a più basso impatto ambientale rispetto ai convenzionali fitofarmaci di sintesi. Questa lenta

progressione dell'agricoltura da tradizionale a convenzionale a *smart* (passando dalle varie sue forme di agricoltura biologica, biodinamica, simbiotica) si basa da un lato sulla constatazione che i mezzi di produzione convenzionali non sono più sufficienti a garantire la eco-compatibilità della gestione agronomica e dall'altro che l'innovazione tecnologica permette sempre più di conciliare gli obiettivi del mantenimento delle rese produttive con un minor impatto sulla salute umana, animale e dell'ambiente. L'evoluzione del modo di fare agricoltura ha attraversato più recentemente tappe intermedie importanti. L'agricoltura conservativa degli anni '90 si poneva come obiettivo il mantenimento della biodiversità e della sostanza organica nel terreno attraverso la diversificazione colturale, la riduzione delle lavorazioni o addirittura l'adozione delle non-lavorazioni come nel caso di pascoli e di allevamenti animali estensivi. L'agricoltura rigenerativa dell'ultimo decennio ha come obiettivo non più il mantenimento bensì l'aumento della sostanza organica e del microbiota nel terreno tenendo conto delle caratteristiche nutraceutiche degli alimenti prodotti. Vengono così recepite le crescenti evidenze scientifiche della generalizzata diminuzione della sostanza organica nei terreni più volte segnalate dalle Agenzie Internazionali, la FAO e l'Environmental European Agency, che parlano ormai chiaramente di un contenuto inferiore al 2%. Sappiamo il mantenimento della biodiversità funzionale nel terreno si può conseguire quando il contenuto in carbonio organico è superiore all'1.75% ⁴ cioè quando la sostanza organica è superiore al 3.5 %. Al di sotto di questa soglia, i gruppi fisiologici che sorreggono i cicli biogeochimici non funzionano più con il sistema del "mutuo soccorso" e per conseguenza si devono aumentare gli input energetici, *in primis* l'apporto dei fertilizzanti. Purtroppo quest'ultimo contrasta con la sostenibilità del sistema produttivo, che si appoggia proprio sulla biodiversità funzionale del terreno. Da qui il concetto che non si deve solo mantenere ma aumentare il contenuto di sostanza organica insieme alla biodiversità del biota terricolo. Nell'ultimo decennio la messa a punto di più potenti mezzi d'indagine, soprattutto molecolari, ha permesso di fare maggior chiarezza sulla consistenza e sul ruolo del microbiota terricolo. Attualmente sappiamo che la gestione agronomica influenza il profilo numerico e funzionale del microbiota del suolo: le comunità batteriche sono influenzate strutturalmente dalle lavorazioni del suolo (tillage), quelle fungine principalmente dalla gestione agronomica e meno dalle lavorazioni. Invece la rizosfera è influenzata dalla gestione e meno dalle lavorazioni. Sappiamo altresì che, analogamente ad un microbioma "core" rizosferico, esiste un microbioma "core" dei vari terreni, cioè una frazione della biomassa microbica più conservata ed una invece variabile al variare delle condizioni pedoclimatiche e gestionali. I terreni forestati hanno dinamiche ovviamente diverse da quelli coltivati, nel senso che quando la sostanza organica s'accumula in superficie, i microfunghi tendono a dominare e in genere ad acidificare grazie alla produzione di acido citrico, che porta il ferro in

profondità e di acido ossalico che salifica il calcio. Le reti miceliari prevalgono, le sostanze umiche restano negli strati superficiali e la biodiversità si riduce per il microbioma procariotico a favore del bioma eucariotico: Oligocheti, Isopodi, Collemboli, Nematodi, seguiti dai Protozoi, Rotiferi, Nematodi, dai micofagi, ficofagi, fitofagi ed infine dai predatori. La deforestazione provoca dei guasti ecologici immediati con la stimolazione dei batteri denitrificanti e la conseguente perdita dell'azoto sotto forma di composti volatili. Si depauperano i depositi di carbonio e la ricostituzione di sostanza organica sufficiente a mantenere la biodiversità funzionale può richiedere parecchi decenni.

Il conseguimento della sostenibilità in agricoltura passa necessariamente attraverso la ricerca e l'innovazione e probabilmente richiederà ancora del tempo prima di essere realizzata compiutamente, superando nuove difficoltà e vecchi errori. Fortunatamente possiamo ancora confrontare la moderna agricoltura con la vita dei popoli prima dell'inizio dell'agricoltura. Sostenibile è certo la vita dei boscimani tra l'antica capitale Tsumeb e il delta dell'Okavango in Namibia, dei boscagliosi cacciatori-pastori dell'Ogaden nel Corno d'Africa, degli aborigeni del Kakadu nel nord-est dell'Australia, degli Huaorani della regione Yasuni nella foresta amazzonica ecuatoriana attraversata dal Rio Napo. Tutti questi popoli hanno in comune un'incredibile, vastissima conoscenza delle risorse naturali, in particolare delle erbe medicinali e del loro territorio. Non avendo frigoriferi non possono conservare il cibo e cacciano o raccolgono ciò che consumano. Questi popoli sono purtroppo al limite dell'estinzione, rari e confinati in habitat per noi assai ostili. Ma non mancano esempi eclatanti anche di tradizioni culturali di gestione sostenibile dell'agricoltura in aree ritenute a torto arretate. Presso i clan del popolo Wachagga, tra il Kenya e la Tanzania sulle pendici del Kilimanjaro, l'agricoltura sostenibile è praticata da sempre tanto da meritare oggi menzioni ufficiali della FAO e di altre Agenzie internazionali. Durante una missione, ebbi la fortuna d'imbattermi in una coltivazione di banane nella quale la concimazione veniva fatta con i residui colturali compostati. Normalmente in Africa centrale e orientale, ai margini dei bananeti si vedono foglie e fusti abbandonati che vanno incontro ad eremacausi, letteralmente incineriti dal sole. Invece, negli orti Kihamba dei Wachagga, tutta questa sostanza organica, prodotta senza pesticidi ma utilizzando al meglio la biodiversità delle coltivazioni, viene raccolta, spezzettata e posta in cumuli, regolarmente girati per la maturazione di un compost che poi è riutilizzato come ammendante verde. Senza conoscere i microorganismi ligno-cellulosolitici, il sapere di quei clan permette di praticare un'agricoltura perfettamente sostenibile.

La moderna agricoltura nasce dal millenario esercizio di domesticazione delle piante, che ha comportato tra l'altro la dislocazione dai loro centri di origine biologica: vedasi il mais, la patata, il pomodoro, i legumi, i cereali, gli pseudo-cereali e molte altre colture.

In questo storico percorso abbiamo purtroppo perso per strada quello che le piante avevano sempre avuto, cioè il rapporto stretto con il loro microbioma simbiotico⁵. Così il miglioramento genetico vegetale, in particolare durante il secolo scorso, ha perso l'occasione di sottoporre a selezione non solo la parte soprasuolo ma anche, congiuntamente, quella rizosferica. Molte piante coltivate infatti interagiscono in maniera diversa, rispetto ai loro progenitori, con il loro benefico partner microbici. Lo stravolgimento dei tratti genetico-fisiologici che regolano le simbiosi può essere dovuto all'accumulo di mutazioni deleterie nella pianta, o favorito direttamente o indirettamente dalla selezione operata dall'uomo, od essere selettivamente neutro in condizioni di coltivazione. La riduzione dei tratti simbiotici avvenuta durante la domesticazione o dovuta ad una errata impostazione della selezione genetica comporta il mancato o scarso riconoscimento dei partners microbici da parte delle radici, quasi non siano più in grado di intavolare la conversazione che nei millenni ha portato alla simbiosi. Ed oggi dobbiamo correre ai ripari, cambiando i paradigmi della selezione genetica e tenendo conto dei tratti genetici favorevoli alla formazione delle simbiosi e al loro funzionamento. In attesa che queste nuove sementi o piante siano disponibili, possiamo cominciare dal selezionare gli abbinamenti naturali più efficaci tra genotipo di pianta coltivata e genotipo di microorganismi da utilizzare come inoculo in campo.

L'estrema flessibilità metabolica collettiva e la capacità di adattamento dei microbi può soccombere quando la gestione agronomica diventa aggressiva con forti inputs di fertilizzanti e pesticidi, lavorazioni profonde, intensivizzazione delle colture sia erbacee che arboree in presenza di ridotte quantità di sostanza organica a lenta degradazione. Il microbioma del terreno entra in stress e disbiosi e la biodiversità funzionale non...funziona più. Può succedere allora che si debba ricorrere alla concimazione azotata delle leguminose: un vero e proprio controsenso ecologico considerando che negli ultimi 12.000 anni questo non è mai stato necessario! Se consideriamo i cicli biogeochimici, il rapporto carbonio/azoto/zolfo nei suoli indisturbati risulta più elevato rispetto a quelli gestiti con agricoltura convenzionale e dopo ripetuti cicli di coltivazione lo zolfo diventa meno mineralizzabile. All'opposto, con una gestione agronomica conservativa, come minime o senza lavorazioni e con rotazioni colturali, si ha un aumento della sostanza organica, minor perdite di nutrienti e mineralizzazione dello zolfo per azione delle solfatasi degli onnipresenti eterotrofi *Pseudomonas* e dei mixotrofi *Paracoccus*

Bibliografia

- ¹ Pellegrino E. et al. (2015) Responses of wheat to arbuscular mycorrhizal fungi: a meta-analysis of field studies from 1975 to 2013. *Soil Biology and Biochemistry* 84, 210-217.
- ² Yanni Y.G. et al. (2016) Assessment of the natural endophytic association between *Rhizobium* and wheat and its ability to increase wheat production in the Nile delta. *Plant and Soil* 407, 367-383. doi:10.1007/s11104-016-2895-0
- ³ Rouphael Y., Colla G. (2020) Editorial: Biostimulants in Agriculture. *Front. Plant Sci.* 11:40. doi: 10.3389/fpls.2020.00040.
- ⁴ Lynch J.M. et al. (2004) Microbial diversity in soil: ecological theories, the contribution of molecular techniques and the impact of transgenic plants and transgenic microorganisms. *Biology and Fertility of Soils* 40, 363-385.
- ⁵ Porter S., Sachs J.L. (2020) Agriculture and the disruption of plant-microbial symbiosis. *Trends in Ecology and Evolution* 2648, 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2020.01.006>

Capitolo 4

Salute del suolo, delle piante, degli animali e degli umani

Se è intuitivo che un cibo sano fa bene alla nostra salute, forse un po' meno intuitivo è il concetto che solo un suolo sano può produrre un cibo sano. Un suolo stanco, malato, non resiliente, inquinato, difficilmente può far produrre alimenti sani, privi di inquinanti inorganici ed organici e ben dotati di principi nutraceutici. La salute del suolo, detta anche qualità del suolo, è stata definita nel 2019 dal National Resources Conservation Service del Dipartimento di Agricoltura statunitense come la "capacità continua del suolo a funzionare come un ecosistema vivente che sostiene piante, animali ed esseri umani" ¹ I parametri per descrivere lo stato di salute di un terreno agrario, sempre in relazione ad una zona pedo-climatica e ad una determinata gestione agronomica, sono caratteri fisico-chimici (pH, contenuto in carbonio, azoto, fosforo, zolfo, micro-elementi, sostanza organica), meccanici (tessitura e contenuto in sabbia, limo ed argilla, macro- e micro-aggregati), biochimici (attività enzimatiche), biologici (bioma e microbioma). La novità rispetto a precedenti definizioni è legata alla inclusione delle attività enzimatiche, alla individuazione dei macro-aggregati e micro-aggregati, anche quelli occlusi, che rappresentano la sede della "vita" di un terreno, ma soprattutto alla presenza di ecosistema vivente che sostiene piante ed animali, cioè un bioma e microbioma terricolo. Si riconosce cioè pari dignità agli esseri viventi del terreno rispetto a tutti gli altri parametri fisico-chimico-meccanici. Il bioma viene descritto in tutte le sue componenti: densità, composizione, struttura, (sub)popolazioni coltivabili sia come densità che biodiversità, meso-e macro-biota. Attraverso la misurazione della quantità di DNA estratto dal suolo si stima la biomassa microbica, con una reazione di amplificazione quantitativa del DNA ribosomiale si stima la densità dei batteri e dei funghi, ottenendo così i dati di abbondanza e densità del bioma. Attraverso la genotipizzazione si stima la struttura genetica, attraverso il sequenziamento massivo si descrive l'inventario tassonomico e l'indice di biodiversità, ottenendo così il dato complessivo della composizione e diversità del bioma. Si possono in questo modo costruire delle mappe della salute del suolo, integrando i dati sul microbiota, del meso- e macrobiota con i dati della composizione fisico-chimico-meccanica del suolo. In un futuro ormai non lontano queste cartografie potranno essere integrate a loro volta con i dati climatici e dei depositi di carbonio, con i dati sulle varie gestioni agronomiche, con i dati sullo stato di inquinamento.

Riguardo a quest'ultimo, è bene ricordare che non esiste composto naturale sulla Terra, dalla roccia ai depositi di zolfo, che non possa essere trasformato nel tempo dai microorganismi. Non avviene altrettanto per i composti di sintesi, magari prodotti proprio per essere persistenti nell'ambiente. In agricoltura, tranne la contaminazione

da derivati del petrolio, la fonte principale di rischio ambientale e per la salute umana è data dalla struttura chimica, applicazione e conservazione non corretta dei pesticidi chimici. Le classi principali di pesticidi organici comprendono gli organo-fosfati, gli organo-metallici, gli organo-cloruri, i piretroidi e i carbammati. I soli depositi di materiale obsoleto sparsi per il mondo sono stimati intorno al mezzo milione di tonnellate e le persone intossicate per l'uso di questi prodotti sono stimate dall'Organizzazione Mondiale della Sanità intorno ai tre milioni all'anno. Proprio per queste ragioni dal 2005 è in atto, sia in Unione Europea che in altri Paesi dell'area occidentale, una profonda revisione dei criteri di autorizzazione alla commercializzazione con limiti massimi di residui più stringenti, una valutazione severa degli effetti sugli organismi non-target e del destino ambientale; spesso si verifica una drastica limitazione del numero e tipologia dei prodotti in commercio. Come possono aiutare i microbi nella decontaminazione del terreno e delle falde acquifere? La biodegradazione microbica degli xenobiotici inclusi i pesticidi, viene detta anche "bioremediation" ed è un metodo ormai consolidato di rimozione degli inquinanti dall'ambiente². Sono stati usati alfa-, beta-, gamma-proteobatteri, attinobatteri e flavobatteri: tra i primi proteobatteri varie specie di *Sphingomonas*, tra i secondi varie specie di *Burkholderia* e *Neisseria*, tra i terzi varie specie di *Pseudomonas*, *Aerobacter*, *Acinetobacter* e *Moraxella*. La biodegradazione completa non può essere operata da un singolo microorganismo ma da consorzi microbici, come abbiamo visto per la degradazione delle lignine, e porta alla produzione di anidride carbonica e acqua, fornendo al contempo energia per i microbi degradatori. Però un processo di ossidazione incompleta spesso porta a composti meno tossici rispetto al pesticida di partenza. Questo è stato il caso dell'endosulfan che ad opera di ceppi di *Klebsiella*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium* e *Bacillus* viene biodegradato ad endosulfan-diolo, -lattone ed -etere. Per i terreni che non hanno o non hanno più biodiversità sufficiente del microbioma per operare le varie biodegradazioni si consiglia spesso di aggiungere starters di consorzi microbici, stante la complessità dei metaboliti intermedi e la recalcitranza della molecola iniziale. La rimozione per via biodegradativa dei pesticidi porta effetti benefici sullo stato di fertilità del terreno.

L'uso di microrganismi benefici e consorzi microbici come trattamento al suolo, ai semi o alla pianta porta ad un miglioramento della qualità delle derrate alimentari. Nel grano la biofertilizzazione migliora la sintesi delle due subunità proteiche più importanti nel glutine, cioè della glutenina, ad alto e a basso peso molecolare³. Nel grano e nell'orzo la micorrizzazione porta ad aumento dell'assimilazione di fattori nutrizionali ferro e zinco⁴. Il latte di animali allevati con mais trattato con consorzi microbici ha proprietà nutraceutiche migliorate⁵. Una volta verificata la interazione genotipo/genotipo tra il microorganismo, o il consorzio microbico, e la cultivar della pianta per conseguire

l'efficacia del trattamento e l'ottimizzazione dell'effetto, è stato accertato che l'uso di biofertilizzanti contenenti consorzi microbici fa aumentare la sintesi di anti-ossidanti⁶ in fragole, lenticchie e grano duro, mentre nel pomodoro fa diminuire il contenuto in nitrati. La biofertilizzazione a base di micorrize migliora le qualità nutraceutiche del pomodoro⁷. Ciò è dovuto al fatto che la micorrizazione determina nelle radici della pianta modificazioni metaboliche, aumento della tolleranza agli stress biotici ed abiotici, aumento della biomassa⁸. Le modificazioni della fisiologia della pianta ospite sono il risultato di cambiamenti trascrizionali⁹, e di una diversa regolazione dei geni del metabolismo primario e secondario. La maggior resilienza agli stress biotici della pianta micorrizzata è legata alla sintesi di specie chimiche reattive all'ossigeno e alla maggior produzione di sostanze antiossidanti, sostanze fenoliche e carotenoidi. La "Nazione delle Piante", egregiamente descritta da Stefano Mancuso¹⁰, trova così negli invisibili del terreno degli alleati indispensabili per una crescita sana e vigorosa e per la produzione di alimenti con maggior valore nutraceutico, sia nelle colture erbacee che arboree. Se la selezione del germoplasma vegetale sarà attuata, sperabilmente in un ormai prossimo futuro, tenendo conto della funzionalità della parte ipogea, ci sarà un minor bisogno per l'operatore di effettuare accertamenti preliminari di efficacia dei singoli biofertilizzanti o biostimolanti, come avviene oggi per il mais.

Il vasto mondo degli invisibili recepisce le azioni delle piante, degli animali, degli umani e si comporta di conseguenza. Siamo in grado noi di fare altrettanto con loro ?

Bibliografia

¹ <https://www.nrcs.usda.gov/wps/portal/nrcs/main/soils/health/>

² Abatenh E., Gizaw B., Tsegaye Z., Wassie M. (2017) The Role of Microorganisms in Bioremediation - A Review. Open J. Environ. Biol. 2(1): 38-46.

³ Dal Cortivo C, et al. (2020) Effects of Seed-Applied Biofertilizers on Rhizosphere Biodiversity and Growth of Common Wheat (*Triticum aestivum* L.) in the Field. Front. Plant Sci. 11:72. doi: 10.3389/fpls.2020.00072.

⁴ Coccina A. et al. (2019) The mycorrhizal pathway of zinc uptake contributes to zinc accumulation in barley and wheat grain. BMC Plant Biology 19, 133. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1741-y>

⁵ Tripaldi C. et al. (2020) Health, physico-chemical and technological characteristics of milk as affected by including mycorrhized maize grain in the diet of dairy cows. Journal of Food Safety and Food Quality

- ⁶ Raiola A. (2015) Improving of Nutraceutical Features of Many Important Mediterranean Vegetables by Inoculation with a New Commercial Product. *Current Pharmaceutical Biotechnology* 16 (8), 1-9.
- ⁷ Giovanetti, M. et al. 2012, Nutraceutical value and safety of tomato fruits produced by mycorrhizal plants. *Br. J. Nutr.*, 107, 242-251
- ⁸ Smith, S.E.; Read, D.J. 2008. *Mycorrhizal symbiosis*, 3rd edn., Academic Press, London.
- ⁹ Fiorilli, V. et al. 2009, *New Phytol.*, 184, 975-987.
- ¹⁰ Mancuso S. (2019) *La nazione delle piante*. Ed. Gius. Laterza & Figli, Bari-Roma, pp. 139.

Capitolo 5

La carta dei diritti dei microbi (*)

1. Il diritto ad esistere in quanto esseri viventi

I microbi sono esseri viventi al pari di tutti gli altri esseri viventi ed hanno pari diritti degli altri esseri viventi, il primo dei quali è quello di essere liberi di esistere

2. Il diritto alla salute dei comparti ambientali: suolo, acqua, aria

I microbi hanno il diritto, al pari di tutti gli altri esseri viventi, alla loro salute nell'ambiente nel quale vivono, nei suoi comparti ambientali e cioè suolo, acqua ed aria, senza essere minacciati dalla immissione di composti non degradabili o tossici.

3. Il diritto alla pacifica convivenza con i bioti vegetali

Per miliardi di anni i microbi hanno vissuto contribuendo all'evoluzione di forme di vita più complesse e alla salute di queste forme di vita. Pertanto i microbi hanno il diritto di poter convivere con le piante, con le quali hanno stabilito fin dalla comparsa di queste ultime sul nostro pianeta, rapporti di convivenza e di cooperazione, aiutandole a nutrirsi e crescere in salute.

4. Il diritto alla pacifica convivenza con i bioti animali

I microbi hanno il diritto di poter convivere con tutti gli animali, con i quali hanno stabilito fin dalla comparsa di questi ultimi sul nostro pianeta, rapporti di convivenza e di cooperazione, aiutandoli a nutrirsi (dalle termiti ai ruminanti agli esseri umani) e a crescere in salute

5. Il diritto alla pacifica convivenza con i bioti microbici

I microbi hanno il diritto di poter convivere con tutti gli altri microorganismi, con i quali hanno stabilito rapporti di convivenza e cooperazione nella dinamica dei cicli biogeochimici su questa Terra, nella trasformazione delle rocce in terreno, nell'agire da promotori di tutte le catene alimentari, nell'agire da promotori delle trasformazioni delle materie prime in alimenti.

(*) esseri viventi invisibili ad occhio nudo, con dimensioni inferiori al millimetro (nell'ordine dei micrometri), la cui osservazione richiede l'uso del microscopio. I microrganismi possono essere eucarioti (protozoi, funghi microscopici e la maggior parte delle alghe), procarioti (batteri e alghe blu-verdi o cianobatteri); convenzionalmente vengono compresi tra i microbi anche i virus sebbene questi non siano capaci di replicazione autonoma.

Ringraziamenti

L'autore esprime la sua gratitudine: alla moglie Stefania per la pazienza esercitata durante la stesura di questo lavoro; ai Colleghi Prof. Amedeo Alpi, Laura Ercoli, Elisa Pellegrino, Andrea Squartini per le critiche costruttive e gli incoraggiamenti.

Bibliografia consigliata per consultazione

- Andrews M and Andrews ME (2017) Specificity in Legume-Rhizobia Symbioses. *Int. J. Mol. Sci.* 18, 705
- Bailly A. and Weisskopf L (2012) The modulating effect of bacterial volatiles on plant growth. *Plant Signaling & Behavior* 7, 1.
- Bassler B.L. and Losick R. (2006) Bacterially Speaking. *Cell* 125, 237.
- Brameyer S. et al. (2015) Languages and dialects: bacterial communication beyond homoserine lactones. *Trends in Microbiology* 23, 521.
- Burokas A. et al. (2017) Targeting the Microbiota-Gut-Brain Axis: Prebiotics Have Anxiolytic and Antidepressant-like Effects and Reverse the Impact of Chronic Stress in Mice. *Biol Psychiatry* 82, 472-487.
- Faduma H., Nuti M.P., Kuneman K., Lepidi A.A (1978) Uso e selezione di rizobi per la batterizzazione di leguminose di nuova introduzione in Somalia. *Agricoltura Subtropica e Tropicale* 72, 291.
- FAO, Food and Agriculture Organization (2020) Global Forest Resources Assessment-Key findings. Rome. <https://doi.org/10.4060/ca8753en>
- Garbeva P. et al. (2015) Volatile-mediated interactions between phylogenetically different soil bacteria. *Frontiers in Microbiology* 5, 289.

- Hacquard S. et al. (2015) Microbiota and Host Nutrition across Plant and Animal Kingdoms. *Cell Host & Microbe* 17, 603.
- Hartman K. et al. (2018) Cropping practices manipulate abundance patterns of root and soil microbiome members paving the way to smart farming. *Microbiome* 6,14. DOI 10.1186/s40168-017-0389-9
- Lennon Á.M. et al. (2006) The Ability of Selected Oral Microorganisms to Emit Red Fluorescence. *Caries Res.* 40, 2.
- Matsushashi M. (1998) Production of sound waves by bacterial cells and the response of bacterial cells to sound. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 44, 49.
- Miller M.B., Bassler B.L. (2001) Quorum sensing in bacteria. *Ann. Rev. Microbiol.* 55, 165.
- Oldroyd G.E.D. (2013) Speak, friend, and enter: signalling systems that promote beneficial symbiotic associations in plants. *Nature Rev. Microbiol.* 11, 252.
- Reguera G. (2011) When microbial conversations get physical. *Trends in Microbiol.* 19, 105.
- Sablok G. et al (2017) Draft genome sequence of the nitrogen-fixing *Rhizobium sulae* type strain IS123T focusing on the key genes for symbiosis with its host *Hedysarum coronarium* L. *Frontiers in Microbiology* 8, article 1348.
- Schmidt R. et al. (2016) Microbial Small Talk: Volatiles in Fungal-Bacterial Interactions. *Frontiers in Microbiology* 6, 1495.
- Schmidt R. et al. (2017) Fungal volatile compounds induce production of the secondary metabolite Sodorifen in *Serratia plymuthica* PRI-2C. *Nature Scientific Reports* 7, 862.
- Sender R., Fuchs S., Milo R. (2016) Revised Estimates for the Number of Human and Bacterial Cells in the Body. *PLoS Biol.* 19;14(8):e1002533. doi:10.1371
- Toju H. et al. (2018) Core microbiome for sustainable agroecosystems. *Nature Plants* 4, 247.
- Trushin M.V. (2004) Light-mediated "conversation" among microorganisms. *Microbiol. Res.* 159, 1.
- Verona O. (1972) Opere di Luigi Pasteur. In *I Classici della Scienza*, UTET Torino, pp. 1-1023
- Weisskopf L. et al. (2016) Editorial: Smelly Fumes, Volatile Mediated Communication between Bacteria and Other Organisms. *Frontiers in Microbiology* 7, 2031.
- Werner S. et al. (2016) Belowground communication: impacts of volatile organic compounds (VOCs) from soil fungi on other soil-inhabiting organisms. *Appl Microbiol Biotechnol.* 100, 8651.
- www.isqaper-project.eu (2016-2020) Interactive Soil Quality Assessment for Agricultural Productivity and Environmental Reliance.