

8 Novembre 2006

Simbiosi e Associazioni Simbiotiche: due Esempi

Dr. Marinella Rodolfi

**Dipartimento di Ecologia del Territorio e degli Ambienti Terrestri
Sezione di Micologia
Università degli Studi di Pavia**

La simbiosi, ovvero la condizione nella quale organismi di specie diversa vivono in un'associazione di coesistenza strettamente integrata e persistente è probabilmente all'origine dell'evoluzione. Già verso la fine del XIX secolo la Scuola russa aveva gettato le basi della "teoria simbiotica seriale", secondo la quale mitocondri e cloroplasti avrebbero avuto origine dalla simbiosi di parassiti procariotici con cellule primordiali, divenute per evoluzione le attuali cellule eucariotiche. Quello della simbiosi o, come dice il termine, del "vivere insieme", è in effetti un fenomeno molto diffuso nella biosfera. In condizioni ambientali naturali, le associazioni simbiotiche tra microrganismi (licheni, ad esempio) e quelle tra microrganismi e piante (micorrize e noduli radicali batterici, ad esempio) sono molto frequenti; volendo aggiungere alle mutualistiche le associazioni antagonistiche e le cosiddette neutrali, sono certamente prevalenti.

Se, come si ritiene, la vita sul nostro pianeta è iniziata in ambiente acquatico, gli organismi si sono gradualmente adattati all'ambiente terrestre, evolvendo prevalentemente in condizioni di associazione e di vita comune con altri organismi. I problemi posti da tale convivenza e dalla competizione tra organismi diversi hanno rappresentato un motivo ricorrente attraverso i millenni; ma, allo stesso tempo, sono stati, e ancora sono, all'origine della reciproca coevoluzione. Sono stati configurati tipi diversi di associazioni tra microrganismi e piante, che variano dalle simbiosi armoniche come quelle mutualistiche, obbligate o facoltative, quali le già citate micorrize e i noduli radicali, che comportano vantaggio reciproco ai bionti, a quelle neutre, quali il commensalismo o utilizzazione delle risorse nutritive con vantaggio per il microrganismo ma senza danno per la pianta, e l'inquinamento, fino alle diverse forme di simbiosi disarmoniche (antagonistiche e patosistiche), nelle quali il vantaggio dell' associazione è a favore di uno dei simbionti, a spese dell' altro.

Dal punto di vista ecologico, per molti microrganismi eterotrofi le piante rappresentano un habitat preferenziale, diversificato nello spazio e nel tempo, potenzialmente disponibile e alternativo all'utilizzazione di residui vegetali o di altri substrati organici del terreno, ove la competizione è massima. L'associazione con le piante rappresenta in effetti, per il microrganismo, un adattamento che risponde ad esigenze trofiche ed ecologiche primarie: una fonte adeguata di nutrimento e d'acqua, una protezione efficace da fattori avversi dell'ambiente e uno scudo contro le azioni di più agguerriti microrganismi competitori (Graniti, 2002).

Sono di seguito riportati due fra i più affascinanti esempi di "vivere insieme".

1. Il Consorzio Microbiologico della Rizosfera e le Micorrize

Come noto, le piante assorbono dal terreno le sostanze nutritive loro necessarie attraverso un apparato radicale. Tuttavia, le radici delle piante, per funzionare, hanno anche bisogno dei microrganismi della rizosfera. La radice delle piante diviene quindi un sistema complesso di cooperazione tra organismi di differenti *phyla*, alcuni dei quali in grado di costituire associazioni di simbiosi micorrizica. Questa è un fenomeno di cooperazione tra organismi con genomi differenti (vegetali terrestri e funghi) caratterizzato da un livello d'integrazione particolarmente profondo: i due partners elaborano una nuova struttura perfettamente individualizzabile, manifestando importanti cambiamenti nella loro fisiologia. Le simbiosi micorriziche hanno ritmato l'evoluzione della biosfera e della vita e hanno reso possibile il passaggio delle piante dalla fase acquatica a quella terrestre. Sono oggi presenti in tutti gli ecosistemi terrestri e dominano gli ecosistemi delle foreste tropicali.

Le piante normalmente utilizzate in agricoltura dovrebbero essere naturalmente simbiotici con funghi VAM (endomicorrizici vescicolo arbuscolari) e con batteri e attinomiceti della rizosfera, cioè microrganismi aventi come nicchia ecologica la superficie della radice. Le piante e i microrganismi definiscono così una "simbiosi a più partners" che si è evoluta nel corso di milioni di anni al fine di ottimizzare le capacità assimilative dei vegetali. Tuttavia, come descritto nella trattazione dell'agrosistema, la sempre più elevata industrializzazione del lavoro agricolo tendono a portare, anno dopo anno, ad un inevitabile impoverimento del suolo e, in particolare, del suo consorzio microbiologico. Per questo motivo, e anche in un'ottica di protezione dell'ambiente, sono auspicabili interventi di ricostituzione della popolazione microbiologica della rizosfera e favorevoli la costituzione di associazioni micorriziche.

La simbiosi micorrizica, infatti, cambia la struttura dell'apparato radicale delle piante ospiti: i funghi VAM e la radice formano una nuova struttura, la radice micorrizzata, nella quale il micelio fungino sostituisce interamente i peli radicali. Come conseguenza della diversa organizzazione della radice e per effetto delle ife miceliari, la simbiosi micorrizica comporta vantaggi significativi:

- Il complesso radice-fungo VAM consente un'amplificazione della superficie radicale di circa 600 volte superiore a quella della singola radice; di conseguenza, la superficie di scambio suolo-radice risulta enormemente aumentata (1000 m di micelio per ogni metro di radice) (Plassard *et al.*, 1997). Le micorrize offrono dunque un aumento della capacità di esplorazione del suolo circostante arrivando anche in zone altrimenti inaccessibili alle radici delle piante non micorrizzate (Gabaye *et al.*, 1997).
- Come diretta conseguenza dell'amplificazione della superficie radicale, le micorrize garantiscono un'elevata capacità di resistenza agli stress idrici. Le ife fungine permettono di mantenere il contatto suolo-radice anche in condizioni di estrema siccità (Reid, 1978) e, grazie alle micorrize, le piante possono estrarre acqua dal suolo anche in condizioni di basso gradiente, altrimenti proibitive per la singola radice (Brown, 1990). Coleman *et al.* (1990) e Guehl *et al.* (1992) hanno inoltre dimostrato che la conducibilità idrica del sistema suolo-pianta è migliore nelle piante micorrizzate.
- I funghi VAM agiscono da intermediari sulla nutrizione minerale delle piante, secernendo nel terreno protoni ed enzimi con proprietà destrutturate, ossi capaci di convertire gli elementi minerali dalla forma insolubile a quella solubile. Di conseguenza, le micorrize sono strutture privilegiate per l'assorbimento e l'accumulo del fosforo e permettono alla pianta di utilizzare l'ammonio e l'azoto organico, risorse altrimenti non utilizzabili dai vegetali superiori. Queste nuove possibilità di utilizzazione

degli elementi minerali garantiscono alle piante micorrizzate nuove capacità di adattamento alle situazioni ecologiche più varie.

- L'efficienza e la capacità fotosintetica sono l'elemento determinante la crescita vegetale e quindi, in ultima analisi, la produzione. A sua volta l'efficienza fotosintetica dipende da molti fattori tra i quali rilevanti sono la disponibilità di nutrienti nel suolo, oltre ovviamente alle condizioni climatiche e alla presenza di patogeni. Le micorrize di per sé non hanno un ruolo diretto sull'efficienza fotosintetica ma, essendo in grado di influenzare positivamente lo stato nutrizionale della pianta, sono in grado di agire sulla capacità fotosintetica. Studi recenti effettuati da Ramakrishnan *et al.* (1988) su colture di mais riportano un aumento di clorofilla -a e -b ed un incremento significativo del tasso fotosintetico (10,4%) in piante micorrizzate sottoposte a stress; riportano, inoltre, una maggiore attività in termini di fotorespirazione nelle piante non stressate.
- La letteratura scientifica afferma che i funghi VAM possono ridurre gli effetti e le malattie causati da patogeni fungini, alterando la fisiologia dell'ospite e rendendo le radici più resistenti ai patogeni stessi. Dehne (1982) stima, in generale, una diminuzione delle patologie fungine compresa tra il 55% ed il 70% di tutti i casi studiati fino al 1982; Zhao & Kuo (1988) dimostrano come i funghi VAM possano persino iperparassitare patogeni radicali quali *Rhizoctonia*. I funghi VAM, ad esempio, influenzano il processo di lignificazione delle cellule radicali del pomodoro e del cetriolo aumentando la loro resistenza a *Fusarium* spp. (Dehne & Schonbeck., 1979), irrobustiscono con deposizioni di callosio le pareti cellulari delle radici di cipolla ostacolando lo sviluppo intercellulare di *Pyrenochaeta terrestris*, agente del marciume rosa (Becker, 1976). Nonostante la comprensione delle interazioni esistenti tra i funghi VAM e i funghi fitopatogeni sia ancora incompleta (è ancora oggetto di discussione, infatti, come i VAM possano interagire con i funghi patogeni per riuscire a ridurre la malattia del vegetale), il risultato è comunque di notevole rilevanza: le piante micorrizzate paiono essere meno sensibili alle malattie fungine.

2. I Funghi Endofiti

In generale, il parassitismo è ritenuto essere il punto di partenza del mutualismo (Thompson, 1982); la più accreditata e suggestiva ipotesi a riguardo è l'"Ipotesi del Miglioramento", secondo la quale gli effetti nocivi causati dal parassita sul suo ospite si attenuano nel tempo fino al momento in cui l'ospite trae beneficio dall'essere infettato (Boucher *et al.*, 1982). Tale processo coevolutivo si impone con successo solo quando entrambi i partners traggono vantaggio dall'associazione ed aumentano il proprio grado di benessere (fitness). In questa ottica, la coevoluzione è un processo reciproco e richiede un elevato, se non estremo, grado di specificità tra i partners interagenti.

L'ipotesi che il mutualismo origini dal parassitismo attraverso una serie di cambiamenti coevolutivi riguardanti soprattutto i sistemi riproduttivi dei due partners è avvalorata dall'esistenza della "perfetta" associazione endofitica.

I funghi endofiti, diversamente dagli epifiti, sono completamente contenuti nel tessuto vegetale dell'ospite. La loro biologia è differente da quella di qualsiasi altro gruppo fungino: essi possono infatti vivere come parassiti asintomatici e simbiotici mutualistici, sono in grado di instaurare complesse interazioni con il vegetale ospite e sono caratterizzati da una grande variabilità a livello di riproduzione e propagazione.

Taxa fungini appartenenti ad Ascomycotina, Basidiomycotina, Deuteromycotina e persino alcuni Oomycetes sono stati descritti quali endofiti; associazioni endofitiche sono state

individuate in vegetali di zone alpine, temperate e tropicali, sebbene l'attenzione sia rivolta soprattutto a Coniferae, Ericaceae e Gramineae.

Sono attualmente riconosciuti due gruppi di funghi endofiti: gli endofiti delle piante legnose e gli endofiti delle graminacee.

2.1 I Funghi Endofiti delle Graminacee

I funghi endofiti delle graminacee appartengono alla famiglia Clavicipitaceae, ordine Hypocreales, (Ascomycotina) e sono rappresentati dai generi *Atkinsonella*, *Balansia*, *Balansiopsis*, *Epichloë* e *Myriogenospora*; questi generi fungini, per la loro comune capacità di stabilire associazioni endofitiche, sono raggruppati nella tribù Balansiae. Il genere *Balansia* è il più ampio e comprende circa 20 specie; gli altri generi comprendono poche specie o sono monospecifici.

Alcune graminacee, inoltre, sono asintomaticamente infettate da funghi endofiti appartenenti al genere anamorfo *Acremonium*. Per queste specie di *Acremonium* in grado di stabilire associazioni endofitiche (sez. *Albo-lanosa*) non è stata osservata la loro forma sessuata, nonostante alcune di queste paiano essere relazionabili alle forme teleomorfe di *Epichloë* (Morgan-Jones & Gams, 1982). I funghi endofiti del genere *Acremonium* sez. *Albo-lanosa* sono stati recentemente riclassificati nel genere *Neotyphodium* Glenn, Bacon & Hanlin (GLENN *et alii*, 1996).

Lo studio di *Neotyphodium* è particolarmente complesso dal momento che, mentre alcune specie endofitiche sono state isolate e ben descritte, altre non hanno prodotto colonie sporulanti in coltura pura. *Neotyphodium*, come le Balansiae, cresce endofiticamente all'interno di foglie, guaine, ovari e semi.

E' interessante notare che, in un'ottica evolutiva, i generi della tribù Balansiae sono strettamente collegati al genere *Claviceps*, appartenente alla stessa famiglia Clavicipitaceae.

La sterilità dei loro ospiti vegetali e la produzione di una serie di alcaloidi, responsabili di gravi manifestazioni, suggeriscono infatti una possibile derivazione delle Balansiae da un progenitore ancestrale simile a *Claviceps*. Mentre nelle graminacee infettate da *Claviceps* gli alcaloidi sono concentrati negli sclerozi e quindi l'avvelenamento è causato dall'ingestione o dall'utilizzazione di grani infetti, nelle graminacee colonizzate da endofiti gli alcaloidi sono sistemici e, nonostante la loro concentrazione possa variare nelle diverse parti della pianta e durante la stagione vegetativa, tutta la pianta è sempre potenzialmente tossica.

Le Balansiae differiscono da *Claviceps* per il tipo di associazione esistente tra pianta e fungo (*Claviceps* è parassita dell'ovario delle graminacee, le Balansiae sono sistemiche nei loro ospiti) e per i loro corpi fruttiferi (*Claviceps* produce sclerozi costituiti esclusivamente da tessuto fungino, le Balansiae producono corpi fruttiferi, detti ipotalli o pseudosclerozi, costituiti sia da tessuto fungino che vegetale).

L'associazione tra graminacee e funghi endofiti è un esempio fra i più significativi di coevoluzione e di passaggio dalla condizione di parassitismo a quella di mutualismo.

In particolare, nell'associazione endofitica è evidente un forte adattamento della riproduzione sessuale dei due partners: il sistema riproduttivo del fungo varia al variare del sistema riproduttivo dell'ospite.

Le Balansiae producono sui loro ospiti corpi fruttiferi che rilasciano sia conidi che ascospore ma, nel loro ruolo di endofiti, causano la sterilità dei loro ospiti; al contrario, *Neotyphodium* non fruttifica sui suoi ospiti poiché si trasmette per crescita vegetativa delle ife all'interno di ovari e semi ma, nel suo ruolo di endofita, mantiene la perfetta fertilità nelle graminacee in cui vive. La correlazione inversa esistente tra la sessualità del fungo e

la sessualità dell'ospite fa sì che, quando l'ospite è reso sterile, il fungo produca sia conidi che ascospore, e che il fungo sia sterile quando l'ospite è fertile.

Le relazioni che si hanno tra fungo endofita ed ospite sterile (Balansiae – graminacee) devono essere considerate parassitiche poiché il vegetale risulta impossibilitato a dar vita ad una progenie sessuale; le relazioni che si hanno tra endofiti del tipo *Neotyphodium* e le graminacee devono essere considerate mutualistiche poiché il vegetale risulta vigoroso, resistente e particolarmente fertile.

Ciò avvalorava l'ipotesi che il fungo potrebbe essere selettivamente favorito dall'associazione endofitica al punto di eliminare la riproduzione sessuale del suo ospite: una progenie geneticamente uguale alla generazione parentale sarebbe ugualmente suscettibile allo stesso patogeno e non richiederebbe ulteriori adattamenti da parte del fungo. Da una tale coevoluzione l'endofita trae un notevole vantaggio ecologico, oltre che genetico, poiché l'ospite in cui esso ha distrutto gli organi riproduttivi ha più energia disponibile per l'accrescimento rispetto all'ospite non parassitato.

L'associazione endofitica è decisamente vincente: molte specie di graminacee infette, sterili ma vegetativamente vigorose, sono più competitive nei confronti di altre specie di graminacee fertili ma libere da endofiti, presenti all'interno di comunità spontanee o coltivate.

La relazione esistente tra funghi endofiti e graminacee è ancora poco conosciuta, soprattutto per quanto riguarda la possibilità di una loro utile applicazione.

Sono aspetti meritevoli di uno studio approfondito la resistenza nei confronti di altri funghi, insetti e nematodi conferita dal fungo all'ospite (secondo Clay, 1989, gli endofiti potrebbero avere un ruolo importante in quanto agenti di lotta biologica) e il ruolo degli endofiti nell'ambito del rapporto tra graminacee ed erbivori.

Sia le Balansiae che *Neotyphodium* producono infatti una serie di alcaloidi simili a quelli che danno la ben nota manifestazione dell'ergotismo. Durante i mesi estivi, le principali graminacee foraggiere possono produrre negli erbivori effetti tossici, perdita di peso, ridotta produzione di latte, aumento della temperatura corporea e comparsa di cancrene alle estremità degli arti. Greggi di pecore e di bovini, alimentati con *Lolium perenne* fresco o conservato, possono manifestare gravi spasmi muscolari e disordini neurologici. Tali manifestazioni sono sicuramente conseguenti all'utilizzo di erbe foraggiere in cui è presente un endofita; infatti, gli animali sofferenti tornano sani se nutriti dopo la comparsa dei primi sintomi con foraggi liberi da endofiti.

Anche gli insetti che si nutrono di graminacee sono disturbati dalla presenza dell'endofita. È stato osservato che alcuni insetti hanno la capacità di discriminare tra piante ospiti di endofiti e graminacee libere. Ad esempio, campi di festuca, se infettati da *Neotyphodium coenophialum*, sono particolarmente resistenti all'attacco di insetti.

I funghi endofiti attuano così una strategia difensiva che porta beneficio a loro stessi ma anche ai loro partners autotrofi: le piante ospiti sono "protette" dagli erbivori e gli endofiti controllano e conservano i tessuti viventi dei loro ospiti.