

Molecole intelligenti per uno sviluppo sostenibile in agricoltura

“Nutrire il pianeta” e “sviluppo sostenibile” sono i concetti chiave della ricerca in campo agronomico. Secondo l’ultimo Rapporto dell’ONU Lo Stato dell’insicurezza alimentare nel mondo (SOFI 2014) pubblicato nel Settembre 2014, si assiste ad una notevole riduzione del numero di persone che soffrono la fame a livello globale, con un conseguente aumento dei livelli di consumo di cibo. La combinazione di questo fattore con l’incremento demografico sta progressivamente innalzando la domanda globale di alimenti. L’agricoltura e la produzione alimentare nel prossimo futuro continueranno pertanto ad essere centrali nelle economie di tutti i paesi che si affacciano sul Mediterraneo e non solo. Uso efficiente delle risorse, tecnologie avanzate e nuovi modelli di produzione saranno necessari per la realizzazione di uno sviluppo sostenibile del sistema agroalimentare, fondamentale sia per la tutela dell’ambiente sia per la realizzazione di opportunità di crescita sociale. La “**rivoluzione verde**” si è sviluppata tra gli anni ‘50 e ‘70 del secolo scorso e ha comportato per quell’epoca una forte innovazione nelle tecniche agricole. Attraverso l’impiego di varietà vegetali selezionate e geneticamente migliorate, di fertilizzanti, di fitofarmaci, di acqua e altri investimenti di capitale in forma di mezzi tecnici, è stato possibile realizzare un incremento significativo delle produzioni agricole. Nel tempo sono chiaramente emersi gli aspetti negativi di tale approccio che deve quindi essere ripensato in un’ottica di sostenibilità ambientale. Va inoltre considerato che le risorse di fosfati sono limitate e per quanto riguarda i fertilizzanti azotati questi sono in larga parte ottenuti da combustibili fossili, anche questa fonte destinata ad esaurirsi. Ma quale la possibile alternativa?

Expo 2015 ha rafforzato l’interesse generale su queste tematiche, secondo un percorso di avvicinamento culturale ai temi fondamentali associati a questo evento.

Per rispondere all’esigenza crescente di cibo in termini quantitativi e qualitativi, esigenza che nei paesi in via di sviluppo assume i contorni di una vera e propria emergenza, una risorsa in crescita è rappresentata dai cosiddetti PGRs (Plant Growth Regulators, o fattori di crescita delle piante).

Il nuovo paradigma che si sta facendo strada nel campo della ricerca in campo agronomico, consiste nella possibilità di utilizzare dei PGRs “bio-inspired” che controllano la crescita e la resa delle piante sia in termini quantitativi sia in termini qualitativi migliorando in alcuni casi la qualità post produttiva delle piante stesse. In questo senso la natura, nella sua incredibile ricchezza e raffinatezza di composti naturali caratterizzati da funzioni altamente specifiche, ci offre una inesauribile fonte di ispirazione per progettare nuovi PGRs “intelligenti” il cui confine è rappresentato solo dalle nostre limitate capacità a mimare la perfezione naturale.

Tra i PGRs che si stanno affacciando sulla scena e che stimolano un crescente interesse in ricercatori che operano in tutto il mondo, gli **Strigolattoni** (SL) costituiscono una classe di molecole sorprendentemente versatili e ad alto potenziale di sviluppo applicativo.

Al momento l’Europa ha un ruolo egemone nel campo delle ricerca sugli SL, ed in particolare alcuni gruppi di ricerca dell’Ateneo di Torino hanno creato un team interdisciplinare ad elevata competenza scientifica. La storia degli SL nasce a Torino con Paola Bonfante, biologa vegetale esperta in simbiosi arbuscolari-micorriziche, che ha suggerito una collaborazione scientifica mirata

a produrre SL ed analoghi strutturali a Cristina Prandi, docente del Dipartimento di Chimica. Successivamente il team si è completato grazie al contributo di Andrea Schubert e Francesca Cardinale del DISAFA (Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari).

Attualmente Cristina Prandi coordina un progetto europeo COST (COoperation in Science and Technology, www.stream.unito.it) dedicata agli SL che vede il contributo di 25 paesi europei e 7 extra europei. Nel 2013 è stato costituito lo spin-off accademico StrigoLab (www.strigolab.eu) che si occupa di produrre e commercializzare derivati sintetici di SL, e di sviluppare estratti naturali arricchiti in SL da usarsi come bio-stimolanti. Emma Artuso e Ivan Visentin sono i due giovani ricercatori, rispettivamente Chimico e Biotecnologo, impegnati a sviluppare le potenzialità commerciali della start-up.

Che cosa sono gli Strigolattoni

Gli Strigolattoni (SL) sono molecole segnale prodotte dalle radici della maggior parte delle piante superiori.

Hanno un doppio ruolo, endogeno ed esogeno. A livello **endogeno**, come vedremo meglio oltre, costituiscono una nuova classe di ormoni vegetali intervenendo nella regolazione dello sviluppo dell'apparato radicale e della chioma ed in generale della pianta in relazione alle condizioni nutrizionali (deficienza di nutrienti in particolare fosfati). In caso di stress osmotici e carenza idrica il loro ruolo è cruciale per la sopravvivenza, e sembra essere molto sfaccettato a seconda dell'organo.

A livello **esogeno** rappresentano dei segnali chimici che vengono rilasciati nella rizosfera (la zona di terreno immediatamente circostante la radice e da questa influenzata) e vengono percepiti da microorganismi che vivono associati alla pianta, quali i funghi simbionti micorrizici arbuscolari e batteri azotofissatori con effetti benefici sull'instaurarsi della simbiosi, come vedremo oltre.

Nel corso dell'evoluzione tuttavia le piante parassite hanno imparato a riconoscere e a sfruttare questi segnali come indicatori della presenza della specie ospite. In presenza di SL il seme della pianta parassita germina ed immediatamente attacca la radice della pianta ospite iniziando il processo di colonizzazione che porta alla morte della pianta stessa. Il nome **Strigolattone** deriva da Striga, un genere di pianta infestante tristemente nota per le devastazioni di cereali in tutta l'Africa Nord Sahariana. Alcune specie del genere Striga sono ampiamente diffuse anche in Europa centrale.



Figura 1. Piantagioni di grano devastate da Striga hermonthica in Sudan

La seconda parte del nome, **Lattone**, deriva dalla struttura chimica ed in particolare corrisponde alla presenza di un estere ciclico (anello C). Gli SL naturali condividono la stessa struttura generale e sono formati da un sistema di 3 anelli fusi (ABC) collegati ad un quarto anello (D). L'anello C è un lattone, mentre l'anello D viene definito più propriamente butenolide (lattone a,b-insaturo). Vengono attualmente riconosciute due famiglie di SL naturali che differiscono per l'orientamento della giunzione tra gli anelli B e C. L'anello D è invece legato al cuore ABC mantenendo sempre la stessa orientazione, in tutti gli SL sinora identificati. In generale i membri della famiglia differiscono per alcune variazioni strutturali sullo scheletro base della molecola e per alcuni aspetti stereochimici (tridimensionali).

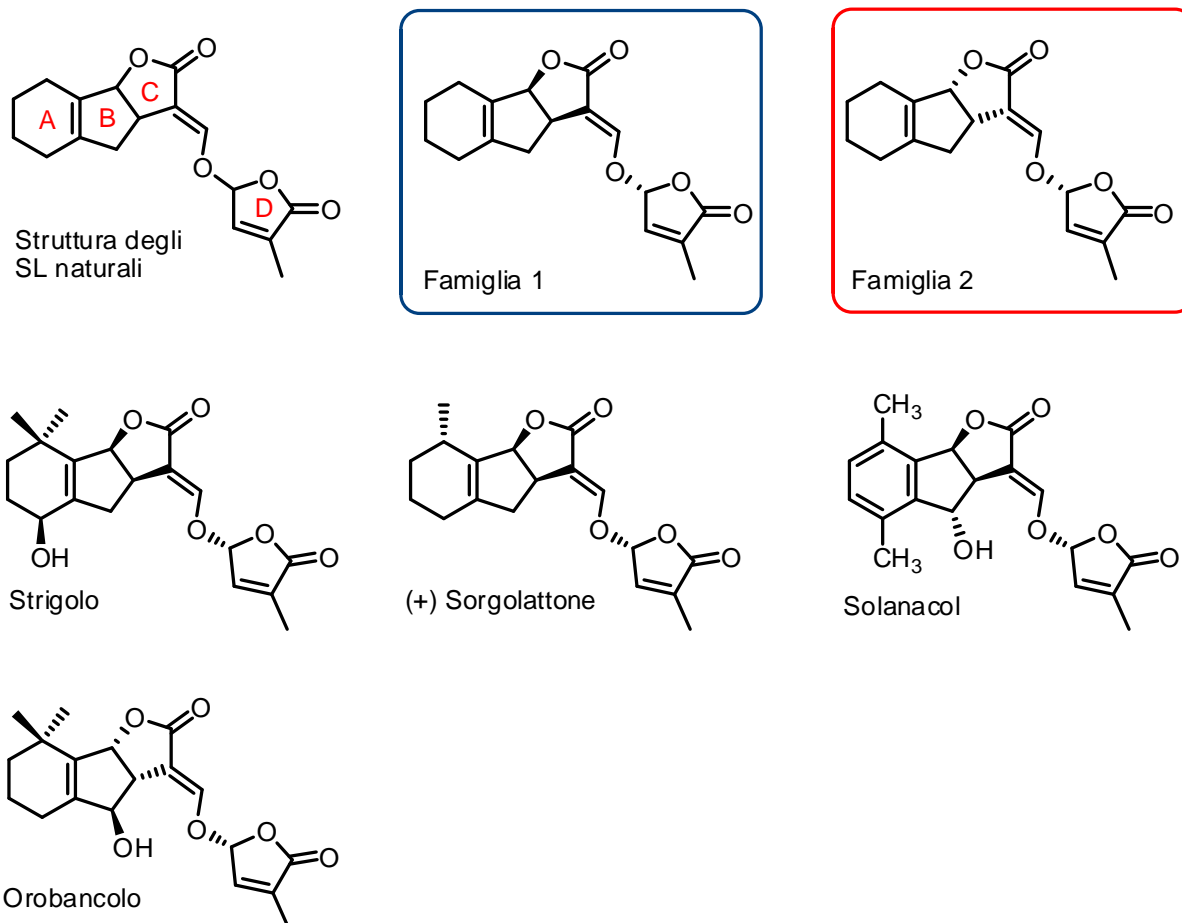


FIGURA 2. Schema generale della struttura di SL. Le due famiglie di SL naturali che differiscono per l'orientamento della giunzione tra gli anelli B e C. Alcuni SL naturali.

Gli SL naturali sono attivi a concentrazioni nanomolari, quindi bassissime il che comporta che la fonte naturale sia insufficiente ai fini di una reale possibilità di estrazione e purificazione per applicazione in campo. È necessario quindi ricorrere alla sintesi chimica in modo da riprodurre le stesse molecole naturali o ancora meglio individuare i cosiddetti “analoghi strutturali”, ovvero strutture semplificate più facili da sintetizzare in laboratorio ma che mantengono la stessa attività. Nel corso degli ultimi anni il gruppo di ricerca al Dipartimento di Chimica ha acquisito una notevole esperienza in questo settore; alcune delle molecole prodotte vengono attualmente commercializzate ed utilizzate per esperimenti su ulivi volti a plasmare la morfologia della pianta eliminando costose pratiche vivaistiche di potatura (collaborazione Agricultural Research Organization Volcani Center, Israele).

Quali effetti hanno gli SL a livello endogeno sulla pianta che li produce?

Gli SL influenzano molti aspetti nello sviluppo della pianta. La prima indicazione risale al 2008 quando venne riportato che gli SL inibivano la formazione di germogli laterali. La prova sperimentale deriva dall'osservazione che piante mutate che non sono in grado di produrre SL presentano un aspetto cespuglioso. (Figura 3). Il fenotipo originario può essere ripristinato

farmacologicamente applicando uno SL naturale o sintetico. In queste loro funzioni gli SL si inseriscono in una rete di rapporti e funzioni ormonali: la crescita dei germogli laterali viene inibita sia dall'auxina, un altro ormone vegetale trasportato verso il basso a partire dall'apice vegetativo, sia dagli SL trasportati in senso opposto dalla radice all' apice. Per contro le citochinine, trasportate in direzione acropeta, promuovono lo sviluppo dei germogli laterali. Questi diversi segnali vengono modulati in risposta a vari fattori ambientali, come la luce ed i nutrienti e sono integrati attraverso una rete di comunicazioni incrociate di vie biosintetiche e di segnalazione.



Figura 3. Pianta di pisello selvatico (a sinistra) confrontata con una pianta in cui la produzione di SL naturali è ridotta (a destra).

Successivamente venne riportato che gli SL inducono un ispessimento del fusto e promuovono la formazione di radici laterali e peli radicali. Complessivamente, possiamo riassumere affermando che gli SL promuovono la crescita dell'apparato radicale rispetto alla chioma. Ma perché? Se consideriamo che la produzione endogena di SL aumenta come risposta a condizioni di stress nutrizionale, diventa chiara la funzione degli SL in un quadro di riallocazione delle risorse. Quando i nutrienti sono scarsi la pianta investe risorse nel cercare di trovarne altri (e quindi sviluppa l'apparato radicale che è il primo strumento per acquisire nutrienti dal suolo) invece che utilizzare le poche risorse disponibili per sviluppare la chioma. Gli SL inoltre favoriscono l'accomodamento nei tessuti radicali di batteri fissatori di azoto atmosferico, nelle piante che possono instaurare questo tipo di simbiosi, favorendo ancora una volta l'autonomia nutrizionale della pianta. Coerentemente con la riallocazione delle risorse a livello endogeno, bisogna aggiungere che gli SL prodotti dalle radici e rilasciati nella rizosfera favoriscono anche l'instaurarsi di associazioni simbiotiche con degli organismi amici, i funghi arbuscolari-micorrizici prima menzionati, in un vantaggioso *do ut des* in cui il fungo aiuta la pianta ad acquisire minerali e la pianta trasferisce al fungo i prodotti della fotosintesi.

Possiamo definire gli SL come una sorta di SOS da parte della pianta quando si trova in condizioni di stress, un grido d'aiuto. Mentre le risorse vengono riallocate e concentrate nell'apparato radicale, le stesse molecole vengono inviate come messaggeri in cerca di aiuto nella rizosfera.

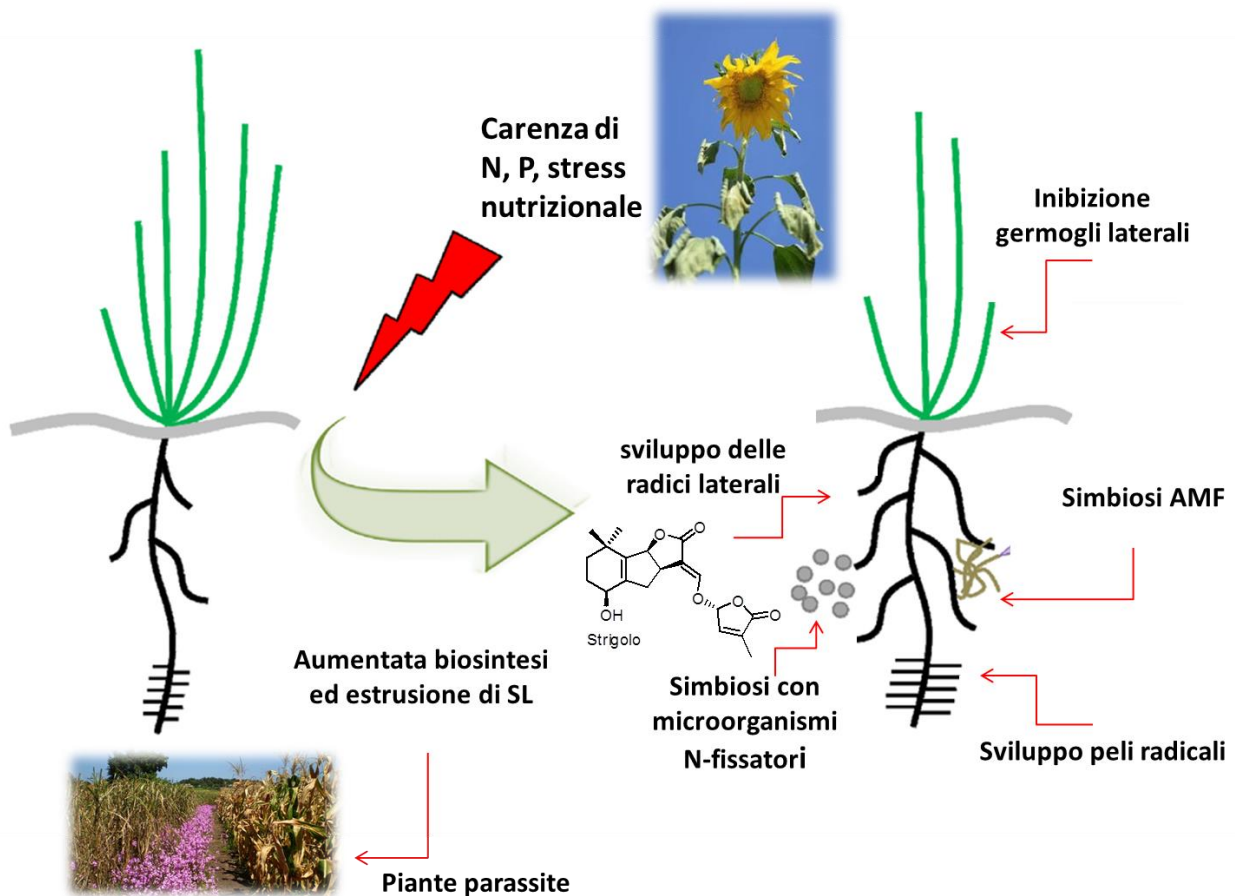


Figura 4. Quando la pianta si trova in condizioni di stress nutrizionale aumenta la produzione di SL endogeni ed esogeni. A livello endogeno l'effetto è quello di una riallocazione delle risorse, a livello esogeno le stesse molecole vengono inviate come messaggeri in cerca di aiuto nella rizosfera. Purtroppo le piante parassite utilizzano gli SL come indicatori della presenza della pianta ospite.

Come vengono prodotti e percepiti dalla pianta gli SL?

Gli SL derivano dai carotenoidi, a loro volta costruiti mediante l'assemblaggio di "mattoni" di isoprene, composto organico costituito da 5 atomi di carbonio (ecco perché spesso carotenoidi e derivati sono costituiti da un numero di atomi di carbonio che è multiplo di 5). Gli SL sono quindi terpeni. I carotenoidi hanno inoltre altre importanti funzioni, tra cui un ruolo chiave nella fotosintesi dove assorbono luce, trasmettono l'energia associata e proteggono l'apparato fotosintetico da danni ossidativi. Inoltre sono responsabili del colore giallo, arancio e rosso caratteristico delle banane, delle carote e dei pomodori rispettivamente. I carotenoidi sono anche i precursori dell'acido abscissico (ABA), altro ormone vegetale che controlla la risposta delle piante a stress ambientali. La via biosintetica che porta agli SL è stata parzialmente elucidata. A partire dal precursore beta-carotene, tre enzimi che si trovano nei plastidi lo convertono in un composto definito **carlattone**. Infine questo viene ossidato ed ulteriormente elaborato nel citoplasma a

fornire lo SL finale. Recentemente è stata individuata una proteina trasportatrice ATP-dipendente che estrude gli SL all'esterno della cellula. Ma come vengono percepiti gli SL? Come per gli altri ormoni vegetali è necessaria una proteina recettore. L'interazione con lo SL scatena una cascata di interazioni con altre proteine che portano alla trasduzione del segnale e ad un cambio di attività nella cellula. La completa identificazione del recettore consente di acquisire informazioni sul meccanismo di azione e di conseguenza progettare molecole altamente specifiche per ognuna delle molteplici funzioni attribuite agli SL. Grazie alla disponibilità di piante mutanti nelle quali la produzione e/o percezione degli SL è difettiva (Figura 3) è stato possibile identificare e caratterizzare la struttura del recettore in pianta e recentemente anche nelle piante parassite; tuttavia non si hanno attualmente informazioni sul recettore degli SL nei funghi micorrizici arbuscolari. Studi farmacologici effettuati mediante applicazione di SL che differiscono in qualche parte della struttura molecolare permettono di affermare che sicuramente per i funghi simbiotici, il sistema di percezione è diverso dalla pianta.

Perché le piante secernono SL se questi stimolano l'attacco di piante parassite?

Abbiamo detto che gli SL stimolano e favoriscono lo stabilirsi di un'associazione simbiotica con i funghi micorrizici-arbuscolari. Gli arbuscoli sono strutture complesse simili ad alberelli che si formano all'interno delle cellule corticali della radice e rappresentano una associazione intima e la sede dello scambio di nutrienti tra pianta e fungo. Questi miceti con le loro ife si ramificano nel suolo, dove acquisiscono nutrienti minerali, specialmente fosfati e nitrati che trasferiscono alla pianta. A loro volta i funghi ottengono zuccheri dalla pianta.

L'80% delle piante formano micorrize. È stato dimostrato sperimentalmente che piante mutate geneticamente che non sono in grado di produrre ed essudare SL sono anche difettive nella loro capacità di stabilire associazioni micorriziche confermando l'ipotesi che gli SL nella rizosfera giocano un ruolo fondamentale nell'instaurarsi della simbiosi. Quindi si pensa che la secrezione negli essudati radicali, pur negativa alla presenza di semi di piante parassite, sia un tratto evolutivamente stabile per via dei risvolti positivi sulla simbiosi micorrizica.

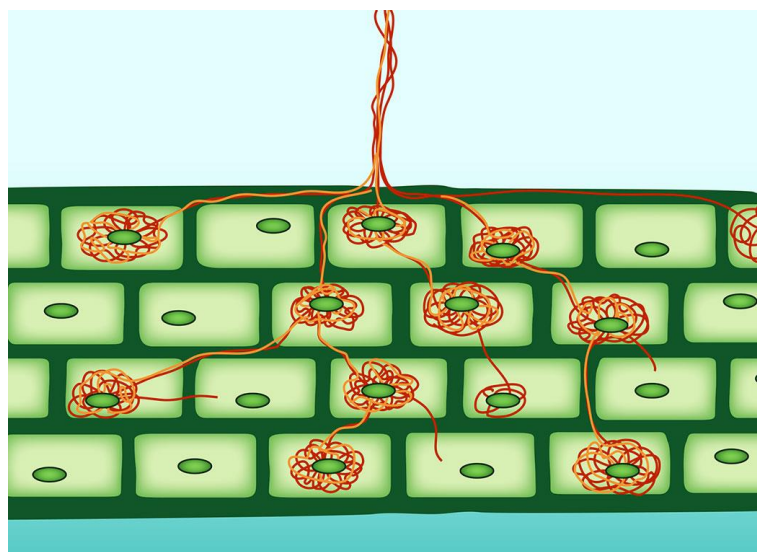


Figura 4. Formazione della simbiosi tra fungo AM e radice della pianta. I due partners traggono reciproco beneficio dalla simbiosi, il fungo trasferisce alla pianta nutrienti minerali e la pianta trasferisce al fungo i prodotti della fotosintesi.

Sappiamo che le ife dei funghi AM possono individuare gli SL perché rispondono alla loro presenza aumentando il metabolismo mitocondriale e ramificandosi, tuttavia non abbiamo la minima idea di come possano farlo. Non c'è nessuna prova sperimentale per supporre che la percezione avvenga mediante recettori simili a quelli della pianta. A conferma di ciò nei funghi ad oggi non sono state individuate proteine simili alle proteine recettoriali ritenute responsabili della percezione degli SL in pianta.

Perché gli SL sono importanti in agricoltura?

Molti scienziati hanno cominciato a considerare le radici delle piante come elementi cruciali per colture con una resa ottimale, con l'obiettivo di superare la Rivoluzione Verde con tutti i limiti che ha comportato ed avviarsi verso una vera e propria Rivoluzione Sotterranea (An underground revolution, D. Lynch Nature 2010). Le radici sono quindi la chiave per una seconda Rivoluzione Verde. Le radici veicolano acqua e nutrienti, due dei fattori essenziali e spesso limitanti della crescita della pianta. Perché insistere nell'introdurre più acqua e fertilizzanti invece di migliorare l'abilità delle radici ad utilizzare quello che c'è già nel suolo e in prospettiva convertire terreni "marginali" in produttivi?.

La radice diventa quindi il candidato ideale per incrementare la produttività delle colture e di conseguenza di cibo a livello mondiale. Gli SL possono giocare un ruolo egemone in questo scenario? Gli scienziati pensano di sì. In particolare, la capacità degli SL di controllare l'architettura della radice e della chioma può essere sfruttata per coltivare piante più efficienti. In questo senso, l'individuazione ed elucidazione del meccanismo alla base della percezione degli SL da parte dei funghi AM è di fondamentale importanza per l'utilizzo delle simbiosi micorriziche come nuova strategia ecosostenibile di incremento produttivo delle coltivazioni. Sarà inoltre necessario investire di più nello sviluppo delle associazioni simbiotiche tra piante e microbi del suolo per promuovere la crescita delle piante. Dissezionare il meccanismo alla base della risposta agli SL può fornire l'opportunità di selezionare varietà più efficienti nell'uso dei nutrienti ed in grado di formare più facilmente associazioni simbiotiche.

Inoltre un trattamento con SL esogeni troverebbe applicazione in tutte quelle coltivazioni dove una crescita apicale rappresenta una caratteristica da favorire; ad esempio in certe specie ornamentali, o in specie orticole ad accrescimento indeterminato come nel pomodoro da serra. Al contempo, la completa definizione della richiesta strutturale degli SL per essere riconosciuti dalle piante parassite permetterebbe di preparare composti altamente specializzati e separare quindi chiaramente e definitivamente gli effetti benefici da quelli dannosi.

Attualmente gli SL sono utilizzati in campo nella lotta alle piante parassite secondo la tecnica detta "germinazione suicida". Il terreno infestato dai semi della specie parassita viene trattato con SL in assenza della pianta ospite (di interesse agronomico). La pianta parassita germina, ma in assenza

della pianta ospite muore rapidamente, permettendo così di bonificare il terreno. I risultati più promettenti ottenuti sino ad ora hanno permesso una bonifica della durata di circa quattro anni.

Nella prima settimana di Marzo 2015 si è svolto a Wageningen (NL) il primo congresso internazionale dedicato agli SL (ICS) che ha raccolto contributi da scienziati accorsi da vari paesi europei, Giappone, Cina, Nuova Zelanda, Australia, Stati Uniti, Sud Africa. La seconda edizione dell'ICS sarà organizzata a Torino nel Marzo 2017, in concomitanza con il meeting di chiusura del progetto COST-STREAM.