

Il ruolo della rizosfera nel ciclo dell'azoto

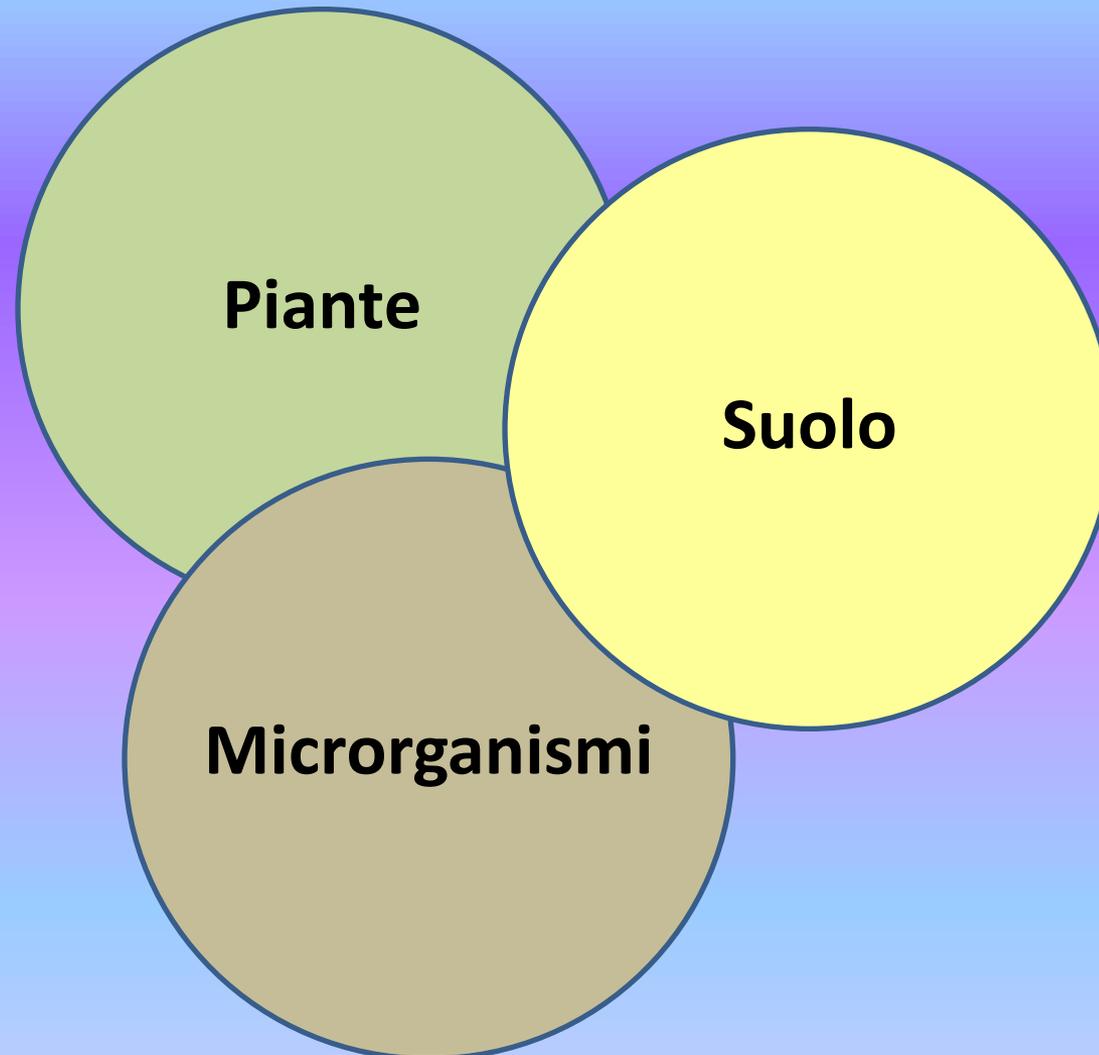
Cultura e vita a .a. 2013/2014

Corso di SCIENZE

“Flussi di energia e cicli della materia”

Prof. Elisabetta Sgarbi – Dipartimento di Scienze della Vita

Il ciclo biogeochimico dell'azoto

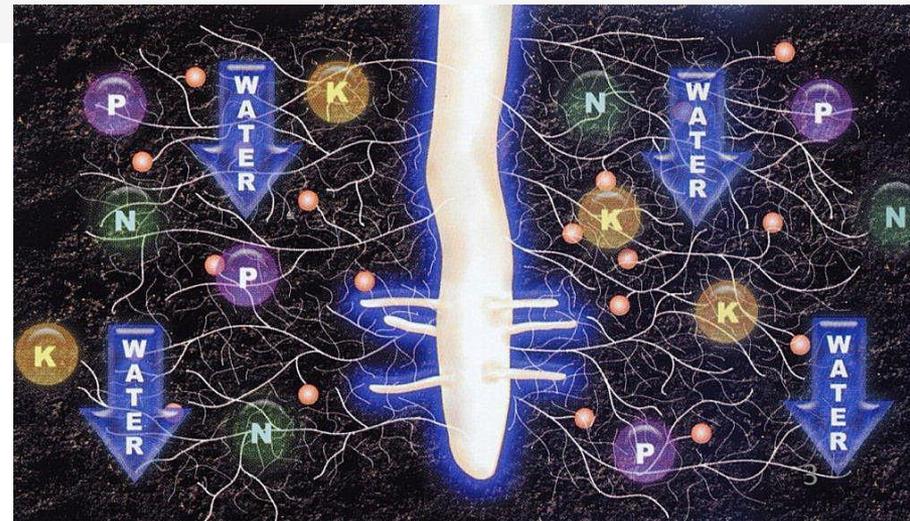


IL SUOLO



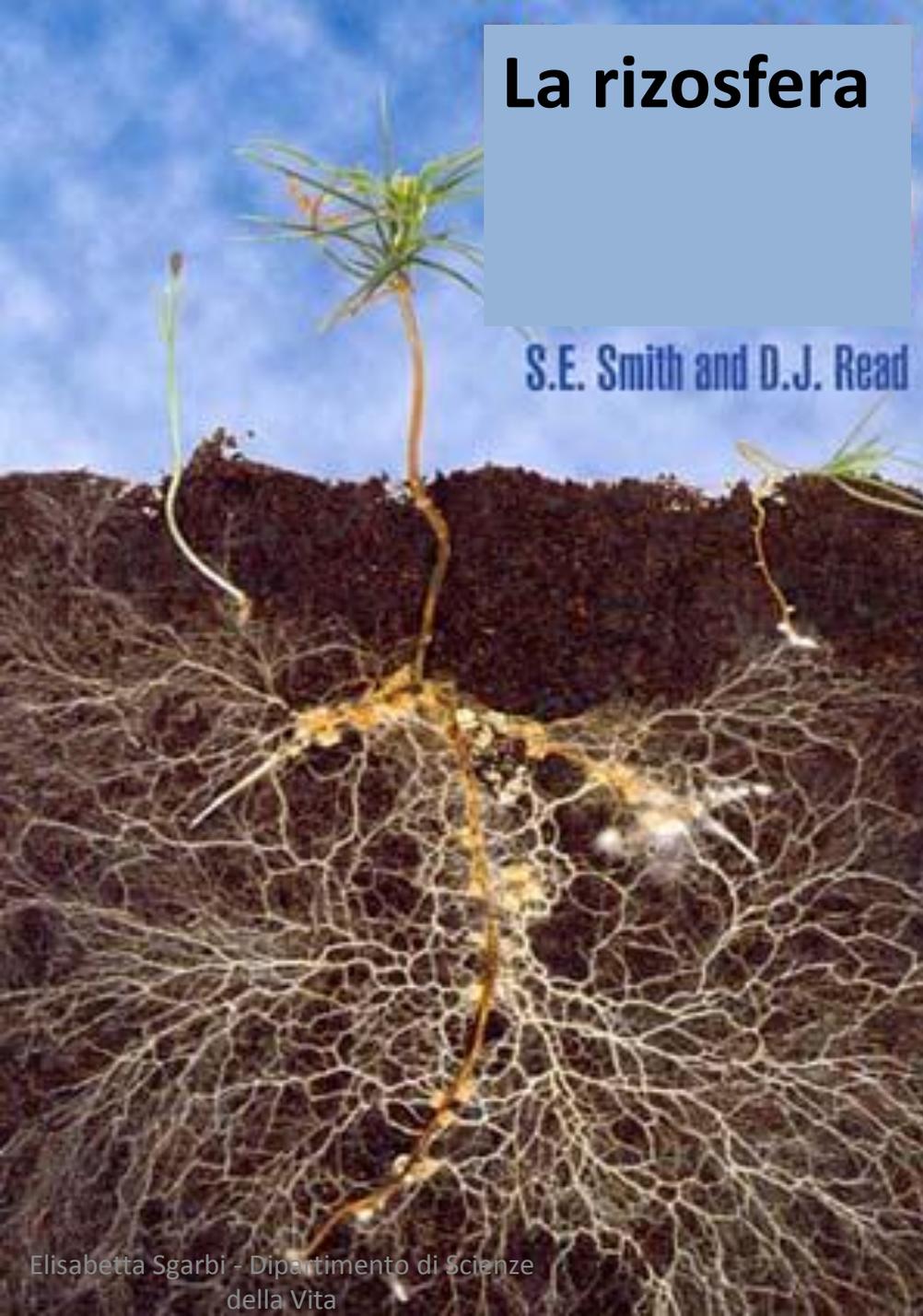
La sua formazione dipende da un processo lungo e complesso:

- Frammentazione della roccia in piccole particelle
- la loro modificazione chimica
- la continua, incessante assunzione e decomposizione di sostanze organiche da parte degli organismi viventi nel suolo stesso...

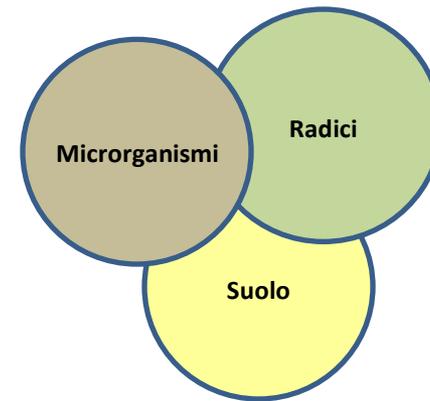


La rizosfera

S.E. Smith and D.J. Read



E' l'area di suolo presente intorno agli apparati radicali delle piante



QUI

la chimica, la biochimica e la biologia sono diverse da quelle del suolo dove non ci sono piante (e radici)

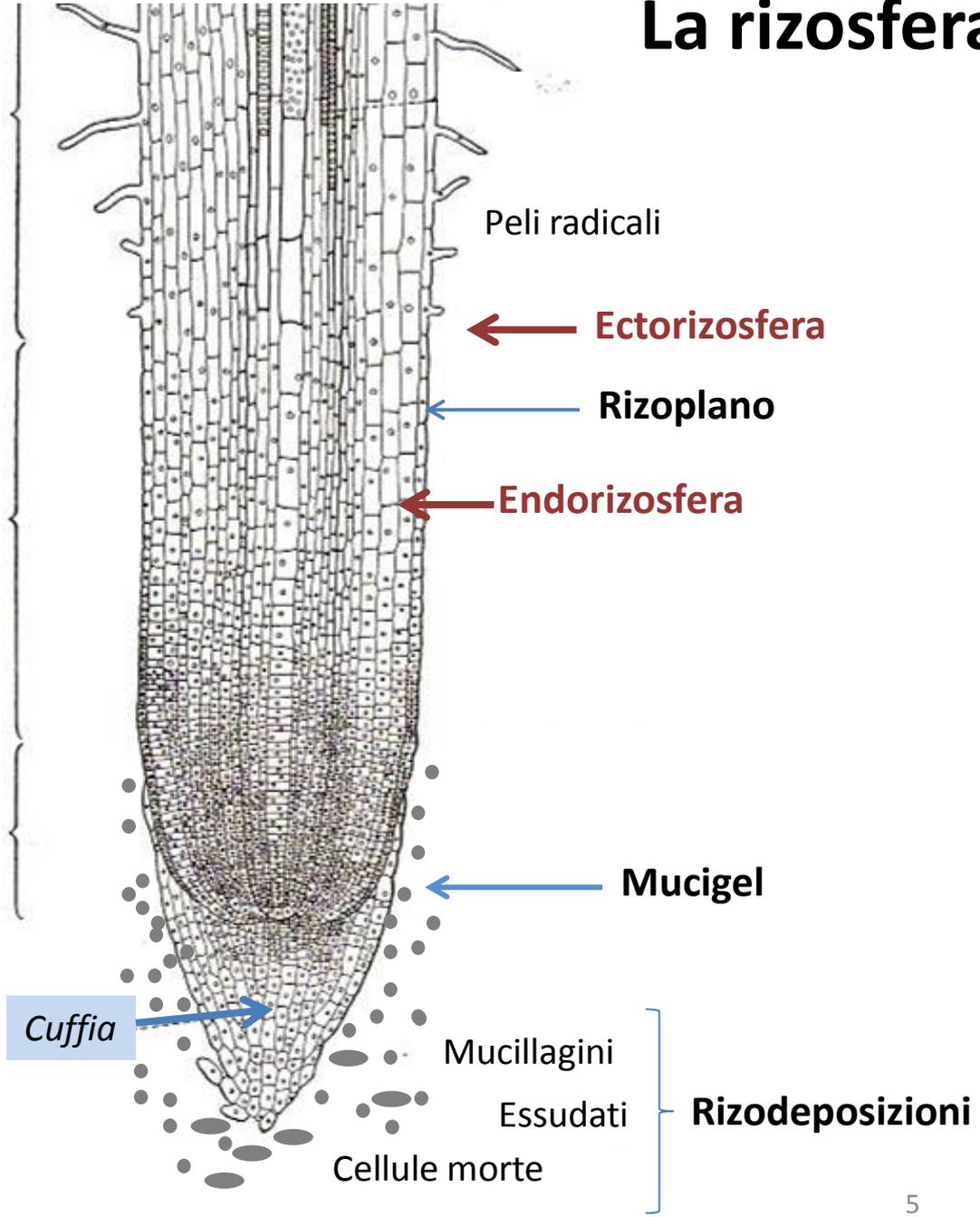
La radice

Zona pilifera
Zona in struttura primaria

Zona liscia di
distensione e differenziamento

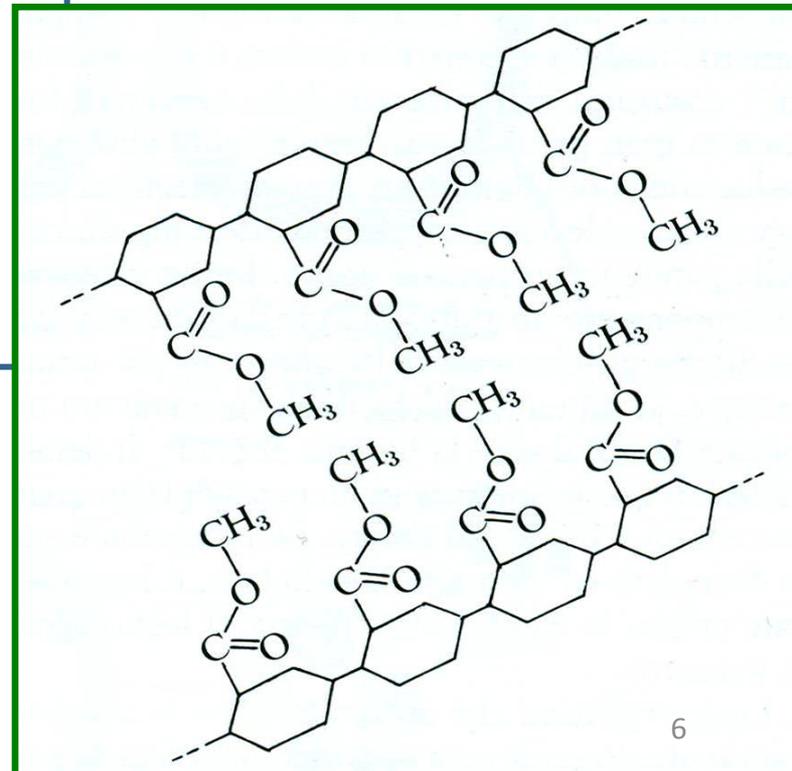
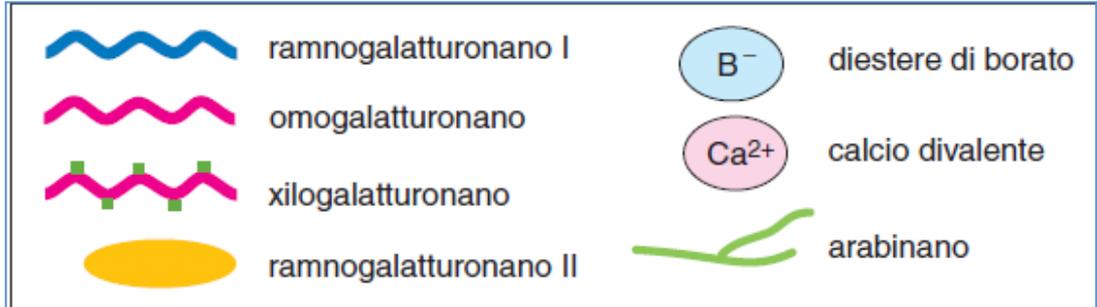
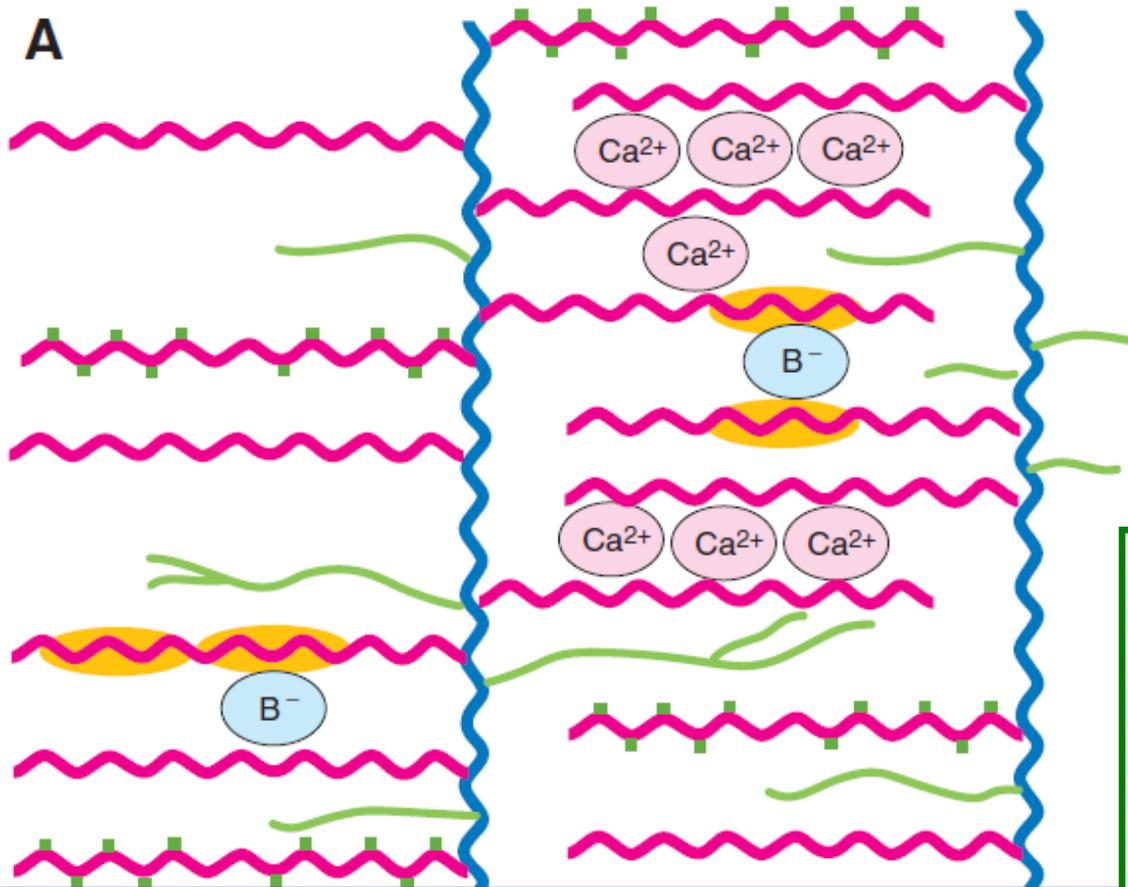
Regione meristemica

La rizosfera



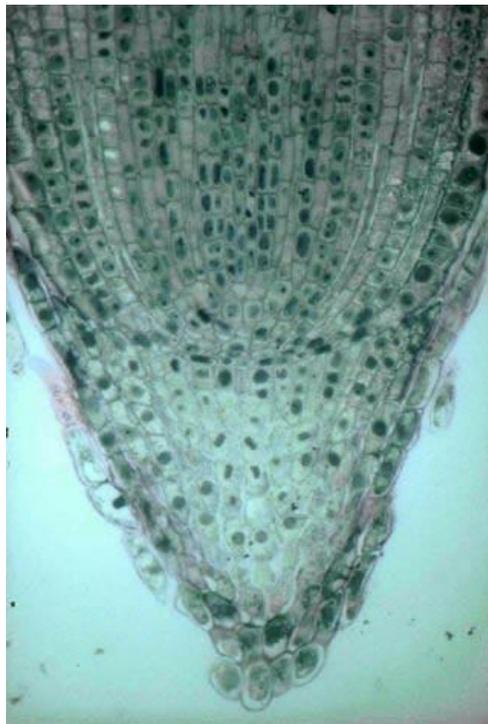
PECTINE

A



Rizodeposizioni

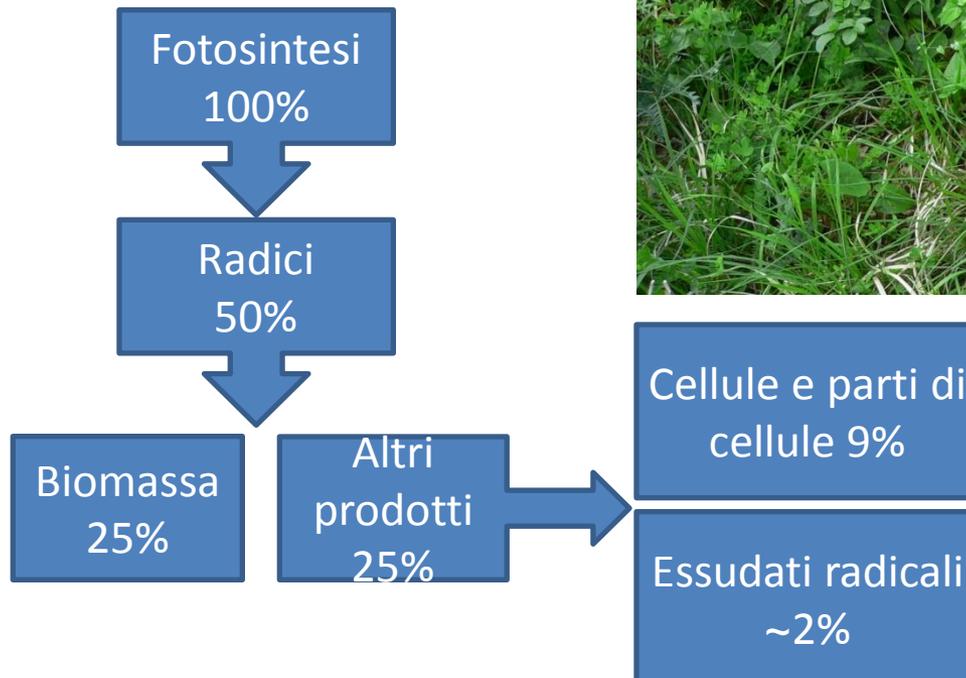
| | | |
|-------------------------------------|----------------------------|---|
| Cellule morte | | |
| Mucillagini | | |
| Essudati radicali organici | <u>Zuccheri</u> | Arabinosio, glucosio, fruttosio, ramnosio, xilosio, saccarosio... |
| | <u>Aminoacidi e ammidi</u> | Tutti i 20 essenziali, acido amminobutirrico, fitosiderofori derivati dall'acido mugineico |
| | <u>Acidi alifatici</u> | Acido formico, acetico, malico, citrico, piruvico, ossalico, glicolico... |
| | <u>Acidi fenolici</u> | Acido caffeico, <i>p</i> -idrossibenzoico, <i>p</i> -cumarico, gallico, salicilico... |
| | Altri composti fenolici | Flavonoli, flavoni, flavanoni, antociani, isoflavonoidi |
| | Acidi grassi | Acido linoleico, linolenico, oleico, palmitico, stearico... |
| | Steroli | Campesterolo, stigmasterolo... |
| | Enzimi | Amilasi, invertasi, cellobiasi, ribonucleasi, desossiribonucleasi, fosfatasi acida, proteasi, perossidasi.. |
| | Altri | Vitamine, regolatori di crescita (auxine, citochinine, GA) etanolo... |
| Essudati radicali inorganici | | H^+ , K^+ , NO_3^- , $H_2PO_4^-$, HCO_3^- , OH^- |



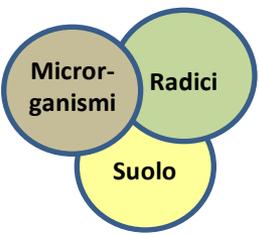
La rizosfera

Le rizodeposizioni variano qualitativamente e quantitativamente...

in funzione della specie vegetale, della sua età, stato fisiologico, dalle condizioni ambientali ed inoltre se la pianta è sottoposta a stress biotici e/o abiotici.



Stima della distribuzione del C fissato dalle piante



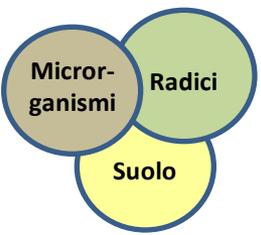
La rizosfera – le rizodeposizioni

Quali possibili ruoli?

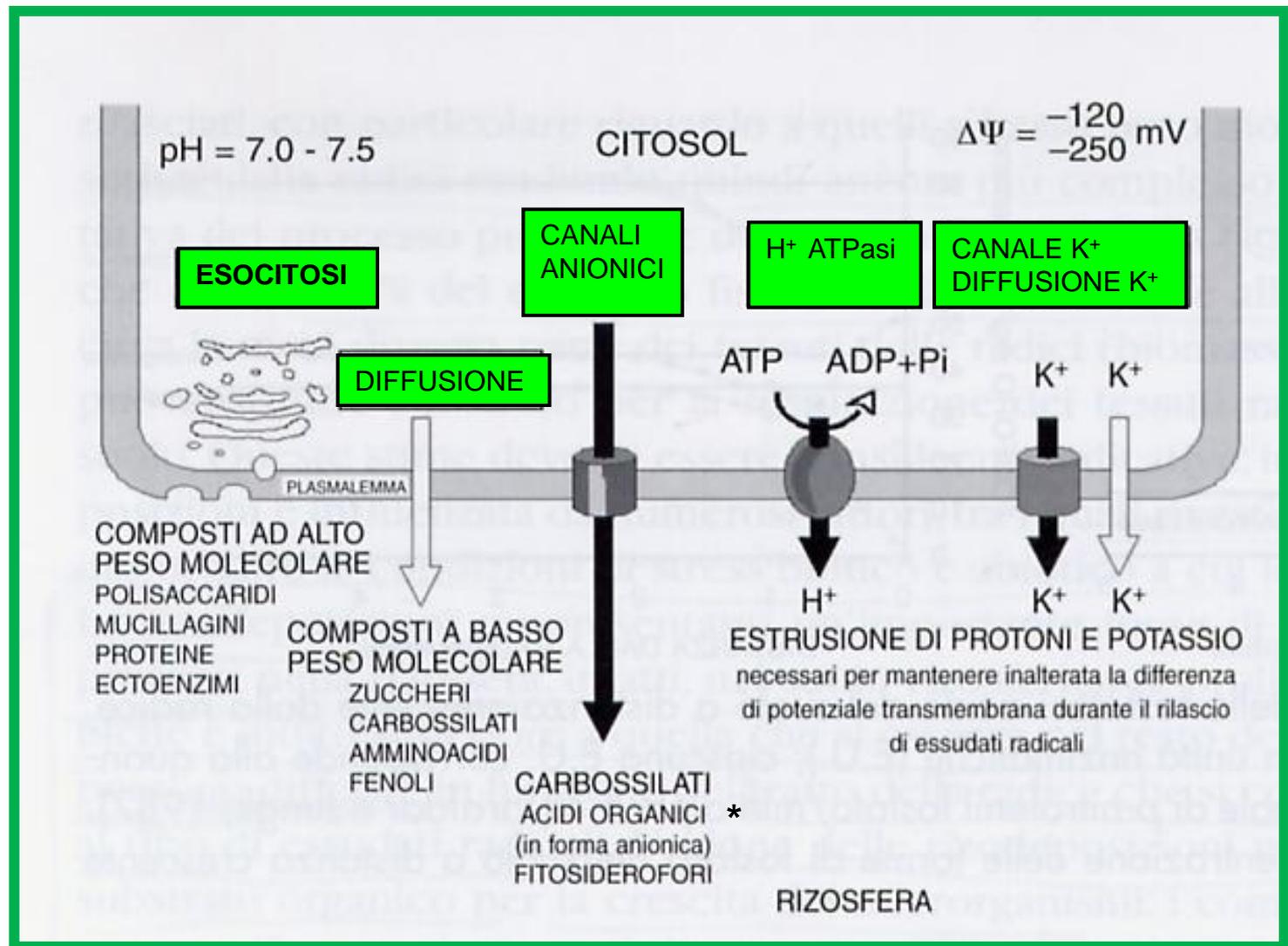
- Acquisizione di nutrienti – solubilizzazione e assorbimento grazie ad es. a siderofori
- Acquisizione di acqua – modificazione del suolo con sostanze idrofile
- Protezione da patogeni – rilascio di fitoalessine
- Protezione da elementi tossici – ad es. complessazione dell'alluminio
- Protezione da altre piante – rilascio di sostanze allelopatiche
- Favorire l'instaurarsi di simbiosi con rizobi e funghi micorrizici – rilascio di molecole segnale, comunicazione tra cellule.

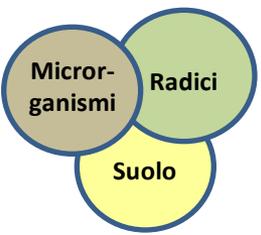


- Modificazione del suolo per rilascio di ectoenzimi (anche da parte di microrganismi) – l'es. delle fosfatasi acide



Le rizodeposizioni – quali meccanismi cellulari e molecolari ne mediano il rilascio?

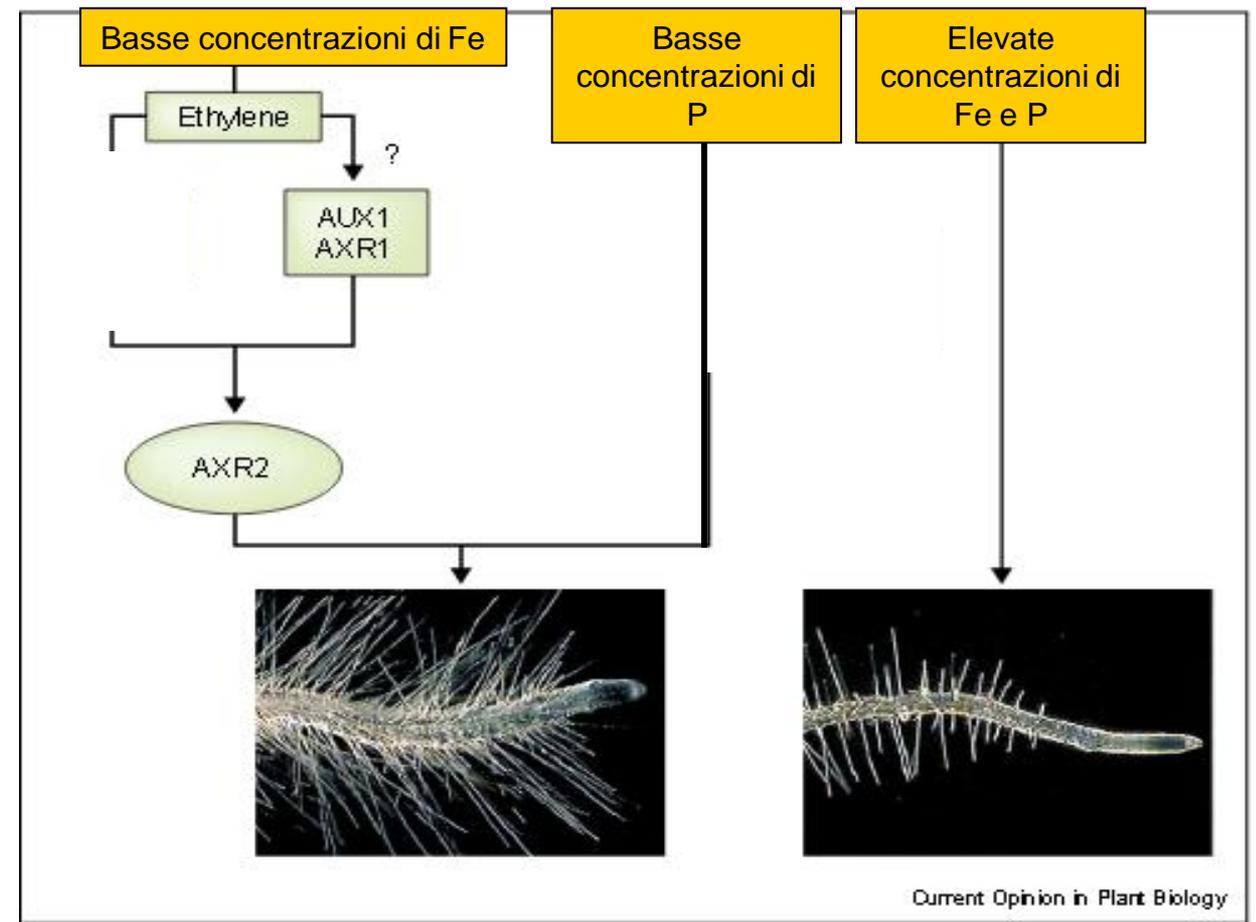




Le componenti abiotiche del suolo influiscono sullo sviluppo della radice?

Cambiamenti nel differenziamento delle cellule del rizoderma in risposta allo stress da P e Fe in *Arabidopsis*.

La carenza sia di P che di Fe induce la formazione e l'allungamento di peli radicali.



Current Opinion in Plant Biology

Da: Lòpez-Bucio , Cruz- Ramirez & Herrera- Estrella, 2003.

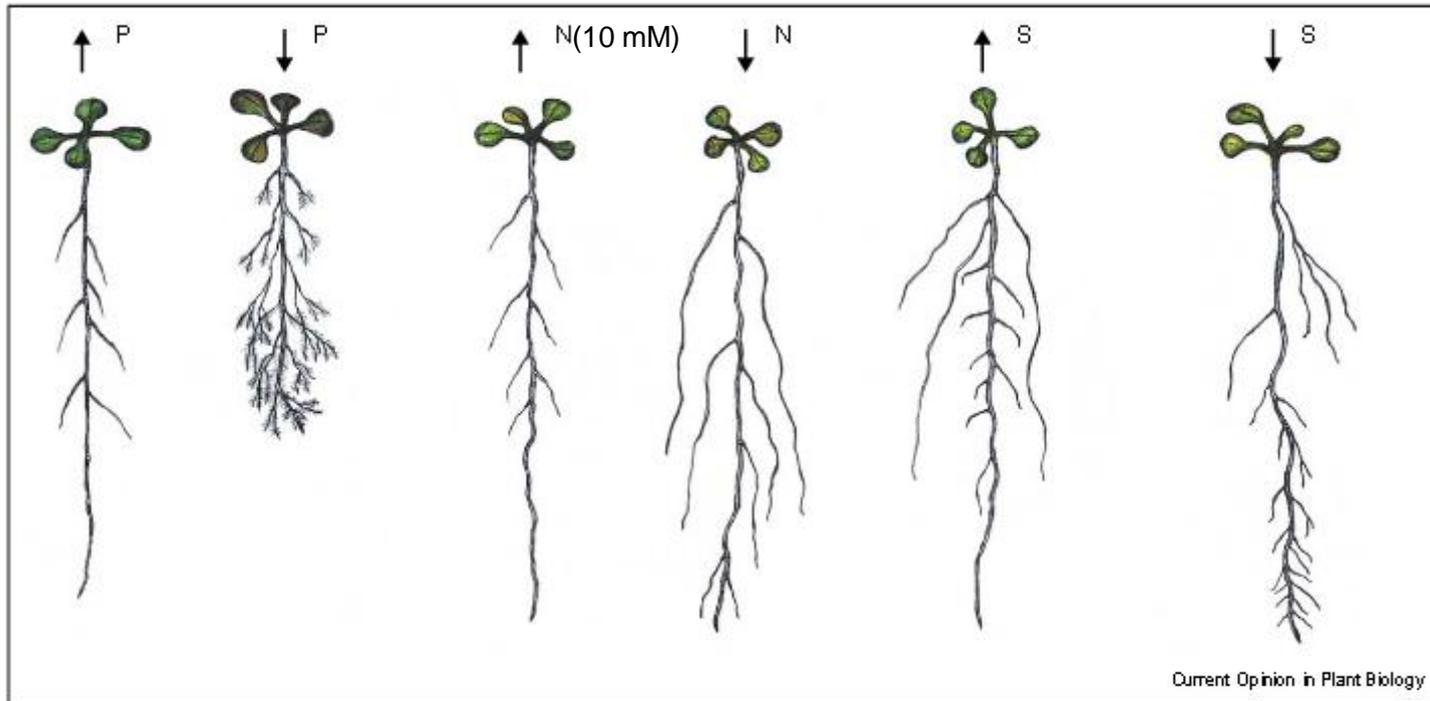
Alcuni nutrienti agiscono come **SEGNALI** che sono **percepiti dalle radici**.

Micror-
ganismi

Radici

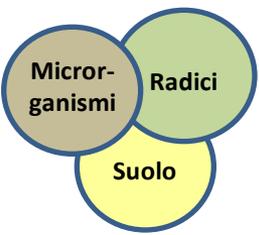
Suolo

Questo innesca meccanismi molecolari che modificano i processi di divisione e differenziazione cellulare determinando modificazione nell'architettura dell'apparato radicale



Responses of *Arabidopsis* root systems to different nutrient supplies. The root systems were grown in nutrient-rich media with or without a high concentration of P, N and S. P and S deficiency can dramatically alter primary and lateral root growth, modifying the overall root architecture [24*,31*]. Contrasting N availability may alter lateral root elongation [13,14*].

Da: Lòpez-Bucio , Cruz- Ramirez & Herrera- Estrella, 2003.



Interazione tra microrganismi e radici nella rizosfera

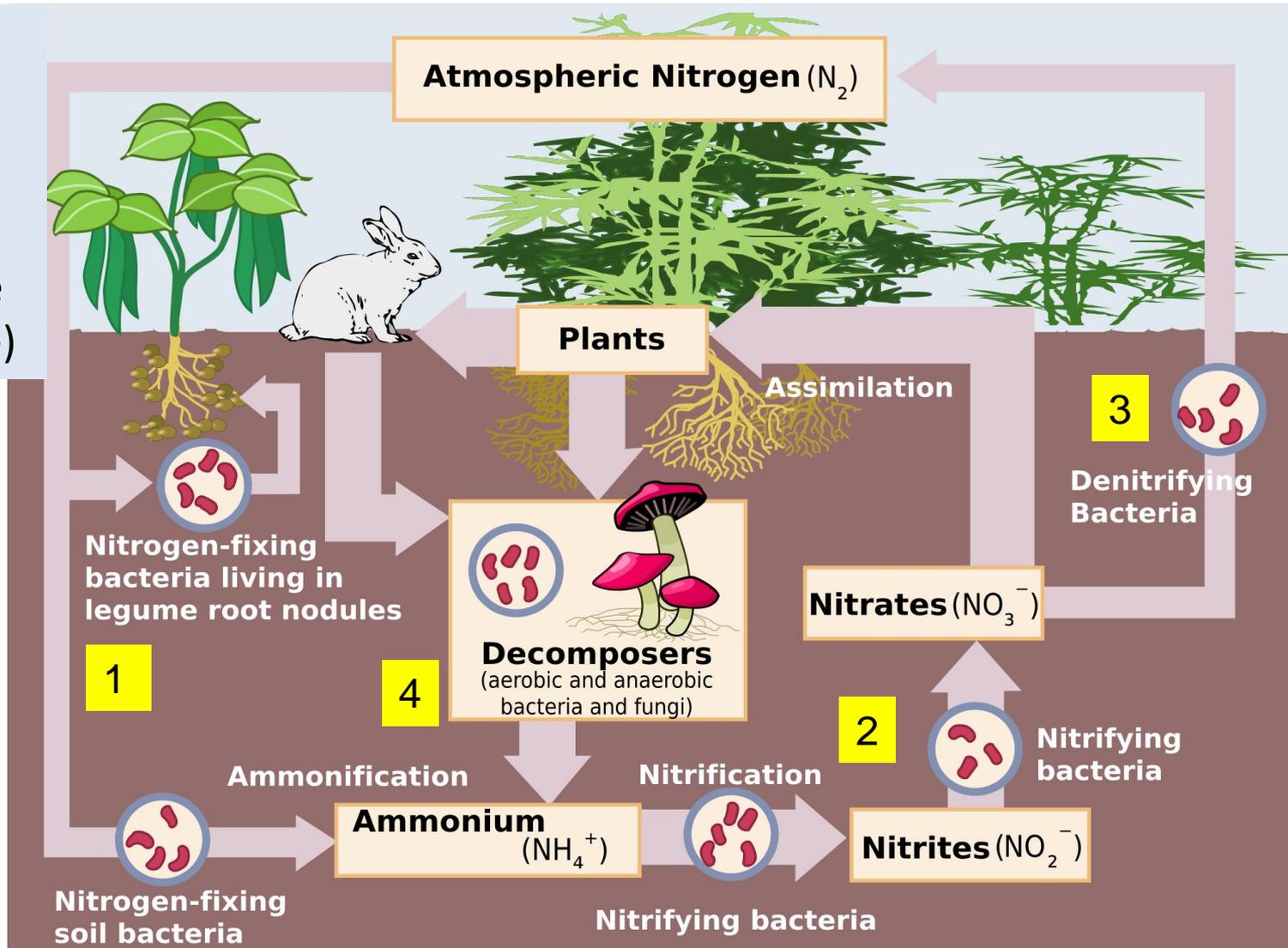


- **Effetto rizosferico:** sin dai primi stadi della germinazione le popolazioni microbiche attive nella porzione di suolo intorno alle radici sono modificate.
- Un grammo di suolo contiene miliardi di batteri e sono migliaia le specie alle quali appartengono.
- Enorme la biodiversità all'interno delle specie (isolati)
- Ogni suolo e ogni apparato radicale (ogni porzione di rizosfera) hanno una loro caratteristica composizione in termini di popolazioni microbiche e fungine

Il ciclo biogeochimico dell'azoto

4 processi

Fissazione
Nitrificazione
Denitrificazione
Ammonificazione
(mineralizzazione)



Various players in the nitrogen cycle

Che cosa si sapeva del ciclo dell'azoto?

- Il processo di nitrificazione avviene ad opera di due gruppi di batteri chemio-lito-autotrofi:

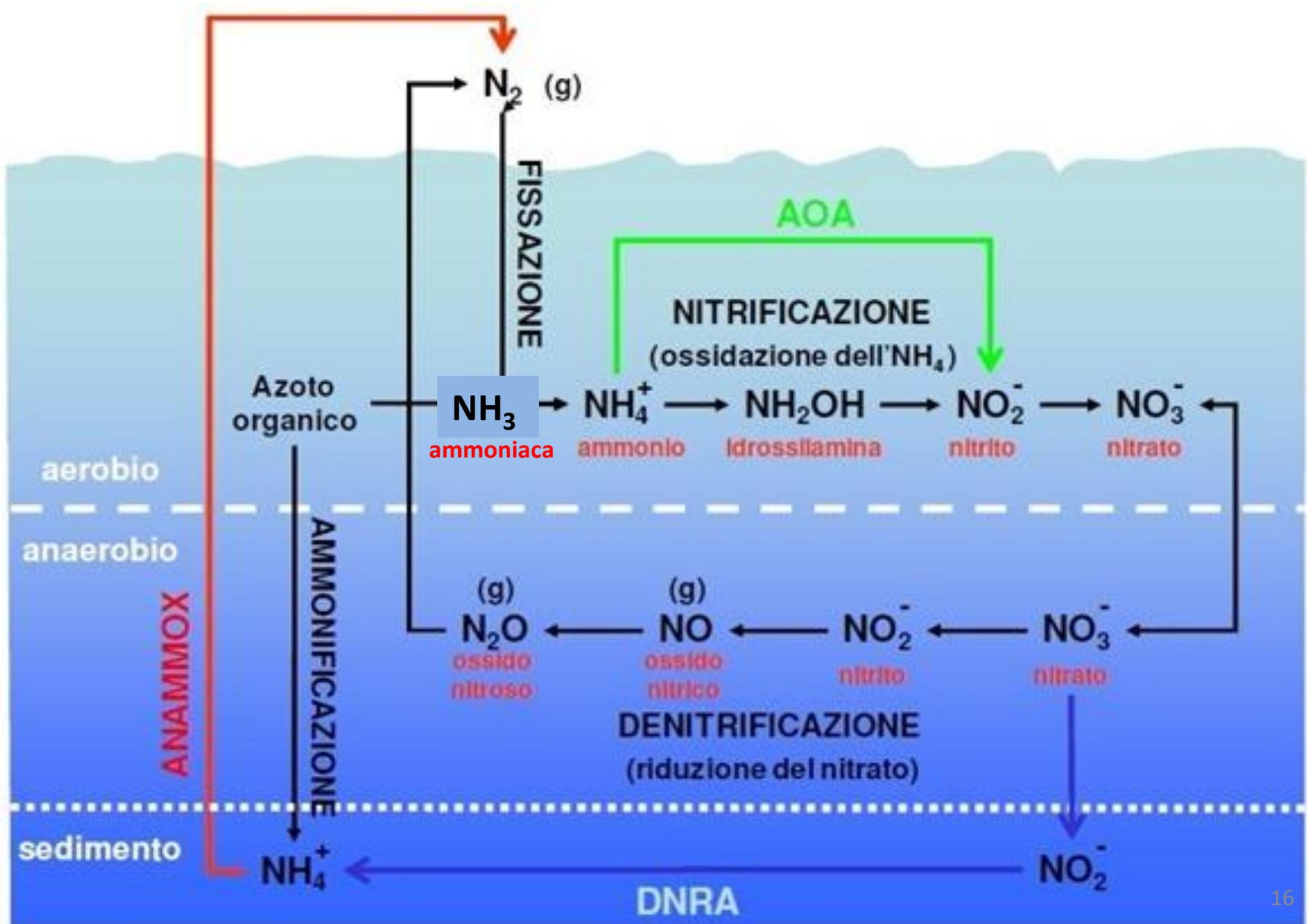
- I batteri ossidanti l'ammonio (AOB)
- I batteri ossidanti i nitriti (NOB)

- Il processo di denitrificazione è mediato da batteri denitrificanti che vivono in condizioni anaerobiche, *Pseudomonas*, *Paracoccus*

Quali sono le più recenti scoperte sul ciclo dell'azoto?

- Molti nuovi microrganismi, appartenenti non solo al dominio Bacteria ma anche anche agli Archea e agli Eukarya sono risultati coinvolti nella nitrificazione e nella denitrificazione.

- Sono state scoperte inoltre nuove reazioni come l' **Anammox** (ANaerobic AMMonium Oxidation).



Nitrificazione



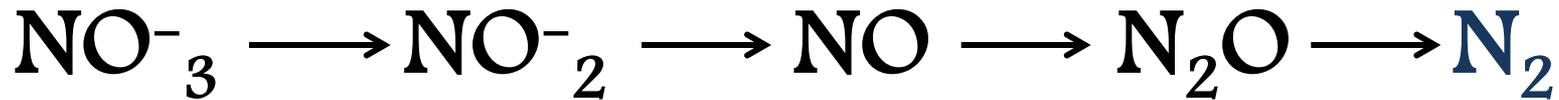
- Batteri ossidanti l'ammonio (AOB) sono classificati in 3 generi: *Nitrosomonas* (β -proteobatteri), *Nitrosospira* (β -proteobatteri) e *Nitrosococcus* (γ -proteobatteri)
- I batteri ossidanti i nitriti (NOB) sono stati classificati in 4 generi: *Nitrobacter* (α -proteobatteri), *Nitrospina* (σ -proteobatteri), *Nitrococcus* (β proteobatteri) e *Nitrospira*. Questo genere contiene un gruppo di batteri appartenenti a molte specie diverse presenti in molti habitat naturali.

Tutti sono batteri chemioautotrofi, dipendono cioè da NH_4^+ o NO_2^- come specifiche risorse di energia.

Ci sono prove indirette che Archeobatteri nitrificanti giochino un ruolo importante nella nitrificazione degli ecosistemi marini e potrebbero agire anche negli ambienti terrestri

Altre ricerche evidenziano che soprattutto nei suoli acidi come i suoli forestali avviene anche una nitrificazione eterotrofica.

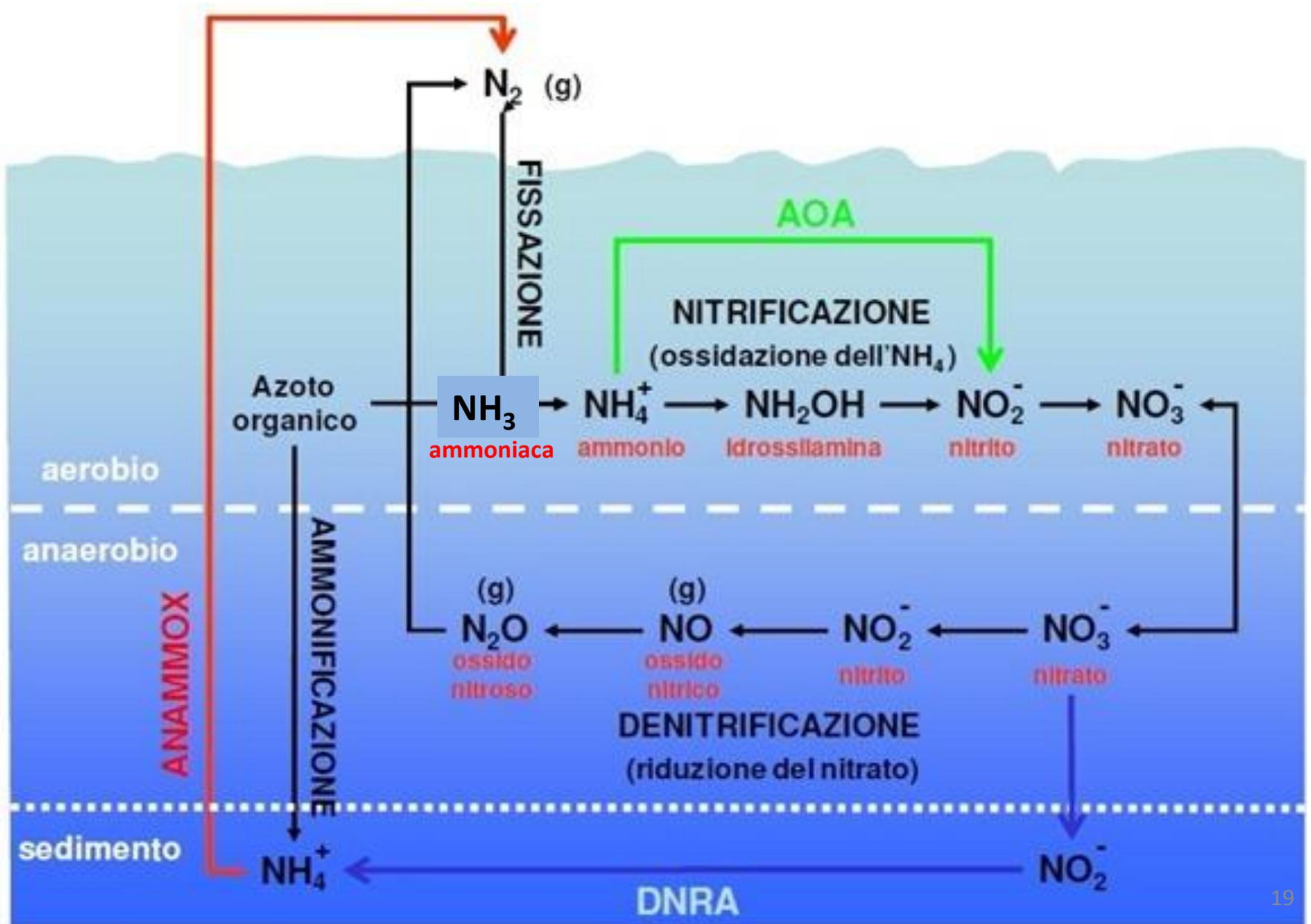
Denitrificazione



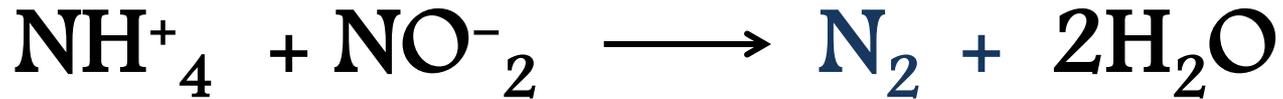
Queste 4 reazioni sono catalizzate dalla nitrato reduttasi (Nar), nitrito reduttasi (Nir), ossido nitrico reduttasi (Nor) e ossido nitroso reduttasi (Nos). Generalmente avviene ad opera di **batteri in condizioni anaerobiche**; recentemente sono stati individuati batteri che compiono denitrificazione in presenza di O₂.

Oltre ai già noti batteri denitrificanti, sono stati scoperti funghi del suolo (*Fusarium oxysporum* e *F.solani*) che riducono i nitriti e rilasciano N₂O in condizioni di basse concentrazioni di O₂. Attività denitrificanti sono poi state identificate in Ascomiceti e Basidiomiceti e in Archebatteri.

Inoltre diversi **Archebatteri** sono in grado di effettuare la denitrificazione attraverso la **DNRA** (dissimilatory nitrate reduction to ammonium), anche chiamata riduzione fermentativa del nitrato – corto circuito del ciclo dell'azoto. Questa reazione avviene in **Batteri** anaerobi obbligati, anaerobi facoltativi o aerobi e in **Funghi** anaerobi del suolo, principalmente Ascomiceti.

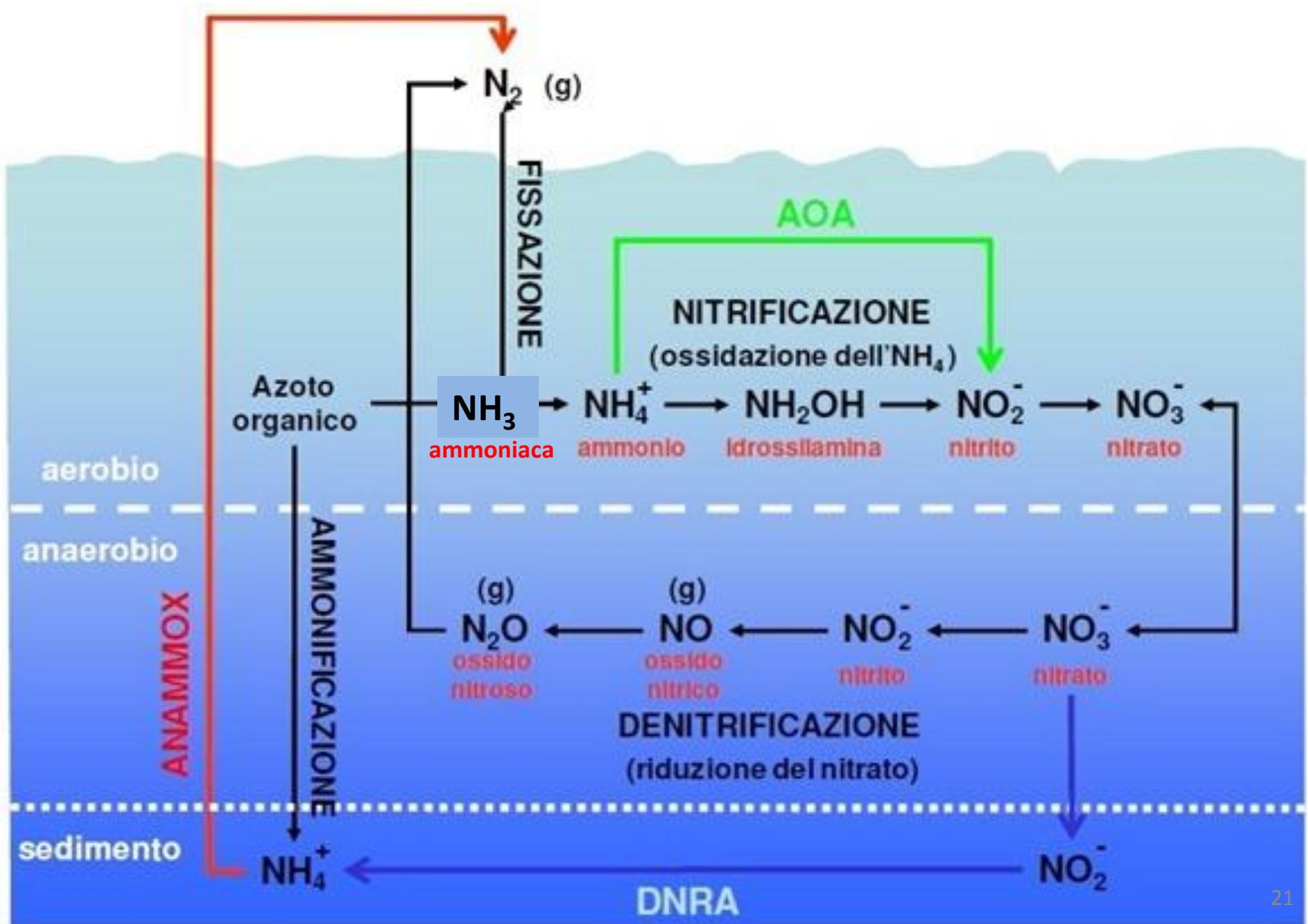


Anammox – ossidazione anaerobica dell'ammonio

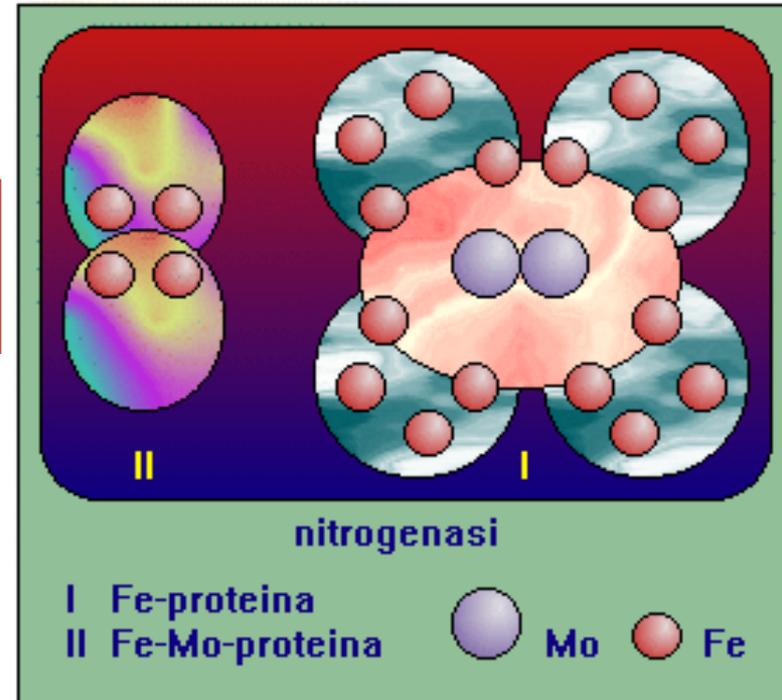


Batteri anammox sono stati isolati in coltura pura ma sono generalmente isolati da acque inquinate. Sono stati classificati come appartenenti al genere *Candidatus*, *Scalindua* e *Kuenenia* o alla specie *Brocadia anammoxidans*.

Sta divenendo chiaro che i batteri anammox sono molto diffusi e che giocano un ruolo importante in ambienti naturali e artificiali.



Fissazione



La reazione avviene ad opera di batteri azotofissatori che vivono nel suolo:

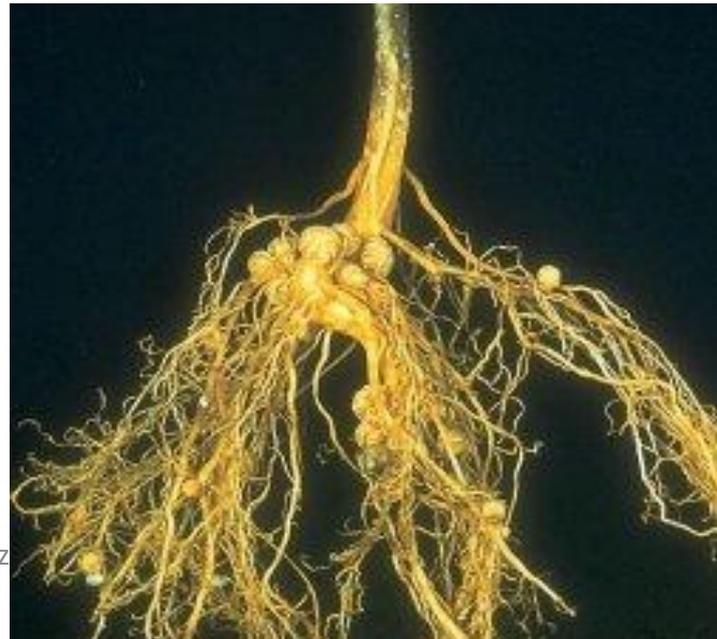
in condizioni aerobiche – *Azotobacter*, cianobatteri
In condizioni anaerobiche - *Clostridium*

Fissazione

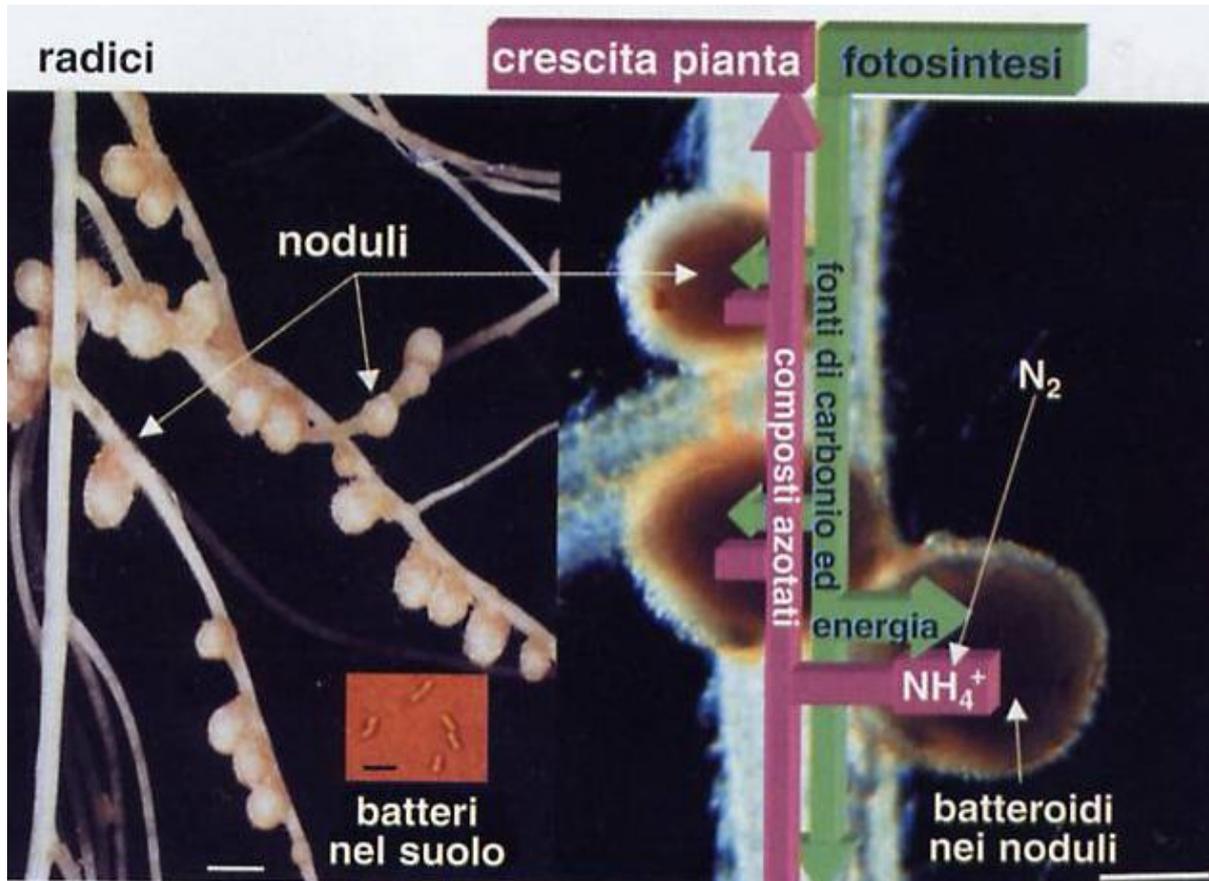
Batteri che vivono nel suolo, chiamati genericamente *Rhizobium* stabiliscono relazioni simbiotiche con le radici di alcune piante appartenenti alla Famiglia delle Fabaceae (ex Leguminosae).

I batteri sono gram- e appartengono a diversi generi: *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium*, *Rhizobium*...

La simbiosi si realizza attraverso la formazioni di strutture specializzate, i **noduli radicali azotofissatori**



Fissazione



Da: Patriarca e Iaccharino, 2006 Idelson-Gnocchi (Ed.)

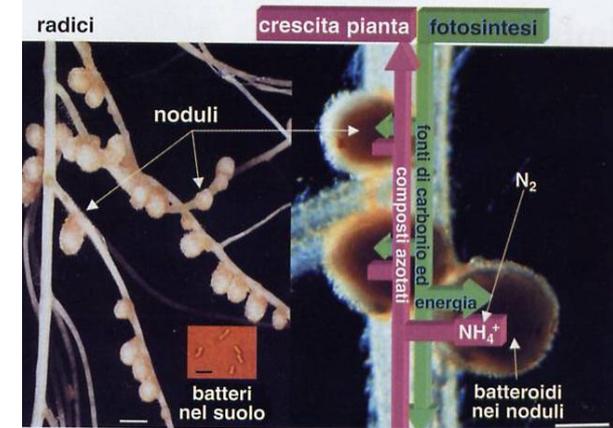
- L'interno dei noduli è un ambiente ottimale per i batteri che sono allo stato di simbionti intracellulari. Essi trasformano l'azoto molecolare in ammonio che è poi assorbito dalle cellule della pianta ospite.

Una parte del carbonio derivato dalla fotosintesi (acidi dicarbossilici) è trasferito ai batterioidi; essi ne ricavano l'energia necessaria per vivere e far funzionare il complesso della nitrogenasi

Complementazione molecolare

Caratteristiche dell'interazione *Rhizobium*-Fabaceae

Altamente specifica: ogni specie batterica interagisce con una o poche piante;



Specifico processo morfogenetico: si attiva un meristema secondario (m. nodulare) preceduto da un primordio nodulare

Processo inducibile: primordio e meristema sono indotti dal *Rhizobium*. Ruolo dei fattori Nod; quali meccanismi molecolaritrasmissione, percezione dei segnali?

Processo transiente: il periodo che intercorre tra l'induzione e la senescenza del nodulo sono inferiori al tempo di vita della pianta. Perché questa relazione non evolve verso una simbiosi stabile?

Interazione finemente regolata in tutte le sue fasi: n° di noduli, localizzazione, sviluppo, funzionalità e scambi metabolici sono controllati e regolati finemente dalla pianta.

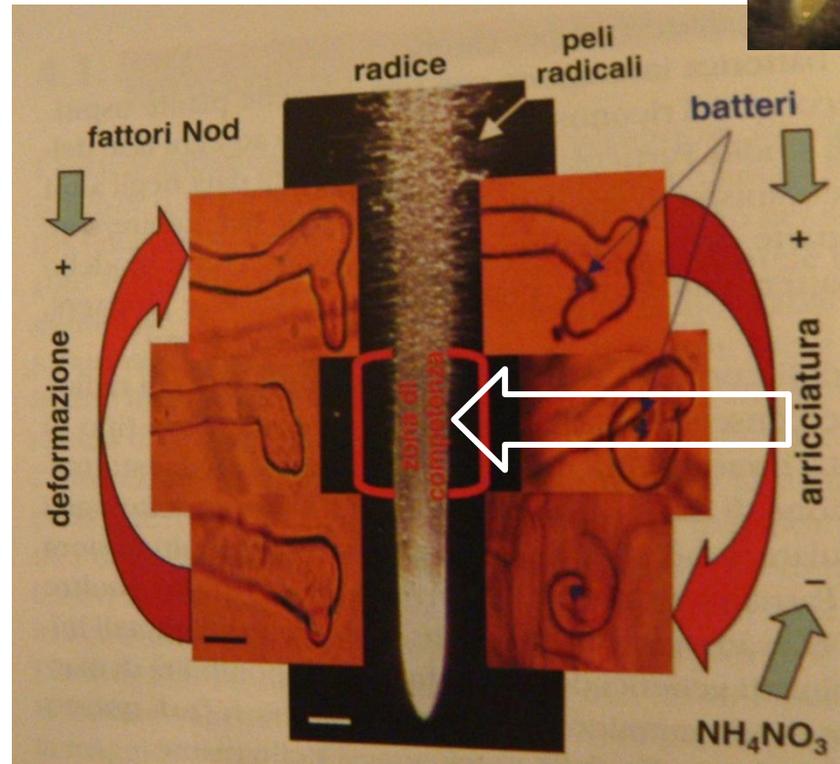
Fasi iniziali dell'infezione

- I batteri devono inizialmente crescere nella rizosfera, e moltiplicarsi sul rizopiano, competendo con altri batteri.
- La radice rilascia essudati che svolgono attività chemiotattica (es. flavonoidi, aminoacidi): attraggono e stimolano la crescita
- I batteri producono **adesine** e aderiscono ai tricomi della radice



Deformazione dei peli radicali

i *Rhizobium* inducono deformazioni/arricciature ai peli radicali in funzione della fase di sviluppo del pelo.

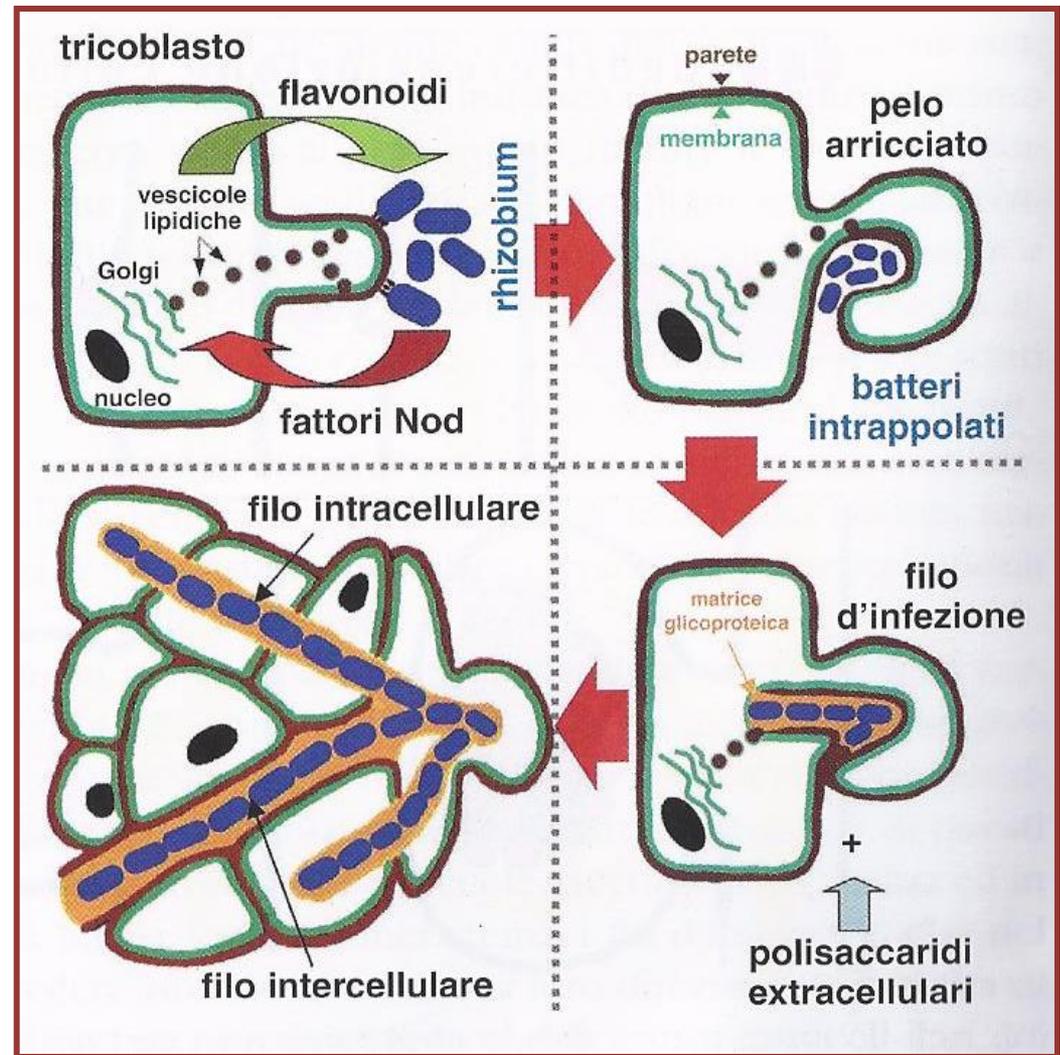


Zona di competenza

Sviluppo dei fili d'infezione

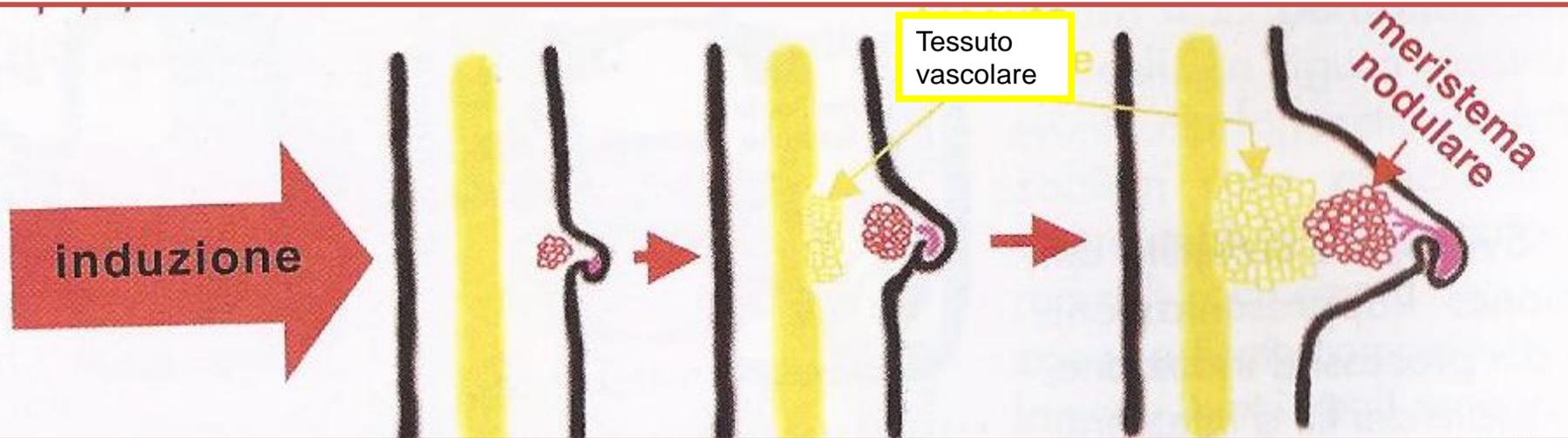
Sono le strutture attraverso le quali i batteri invadono le cellule della radice.

- La fase preliminare è la digestione della parete cellulare che sembra mediato da enzimi **della pianta**.
- Solo i batteri localizzati sulla parte apicale del filo proliferano mentre gli altri sono circondati da una matrice glicoproteica indurita



Da: Patriarca e Iaccarino, 2006 Idelson-Gnocchi (Ed.)

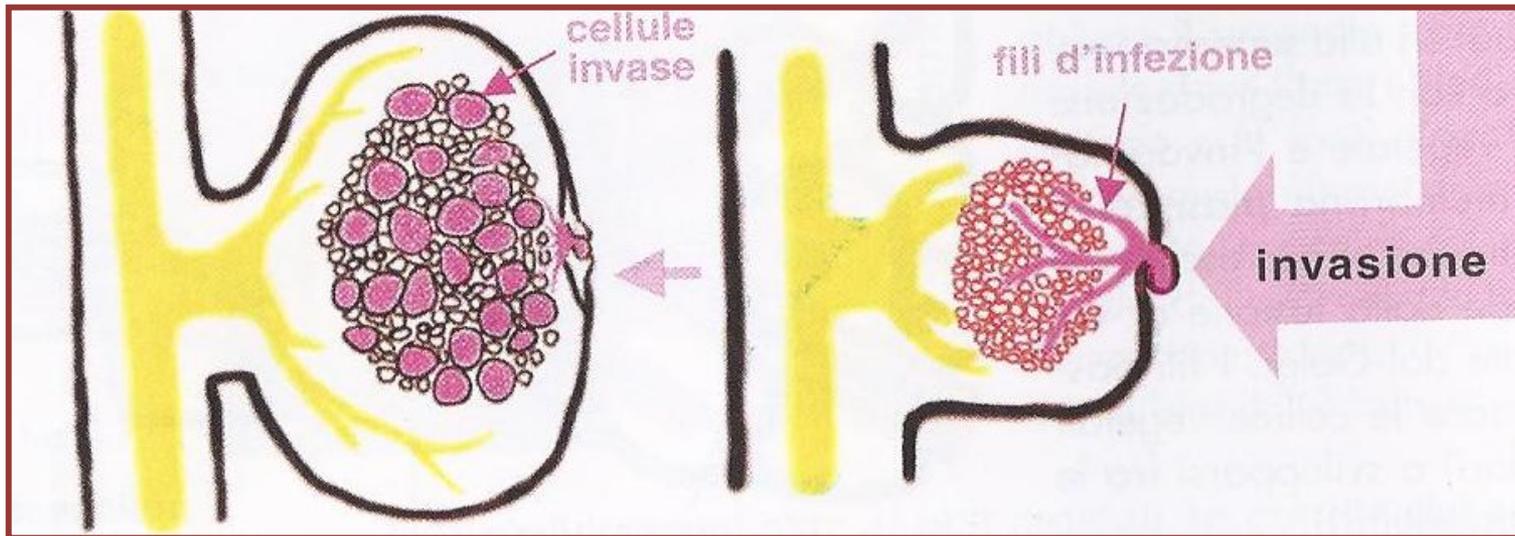
Induzione, sviluppo e invasione dei primordi nodulari



Da: Patriarca e Iaccarino, 2006 Idelson-Gnocchi (Ed.)

- Contemporaneamente all'allungamento del filo d'infezione inizia la formazione dei primordi nodulari.
- Alcune cellule specializzate della corteccia, sotto al pelo radicale invaso, iniziano un processo di de-differenziamento e formano un meristema secondario, il meristema nodulare.
- La sua attività perdura per alcune settimane

Invasione cellulare e formazione dei noduli

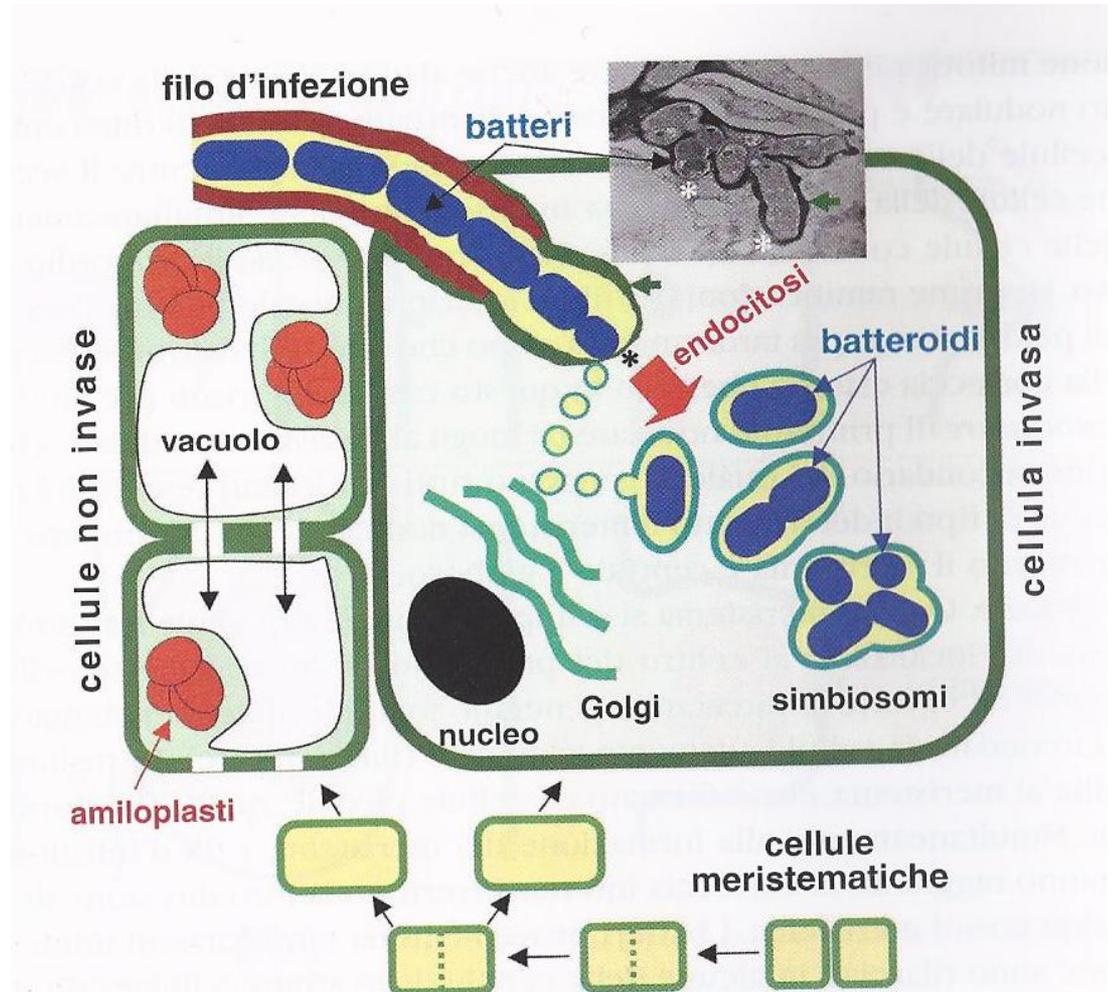
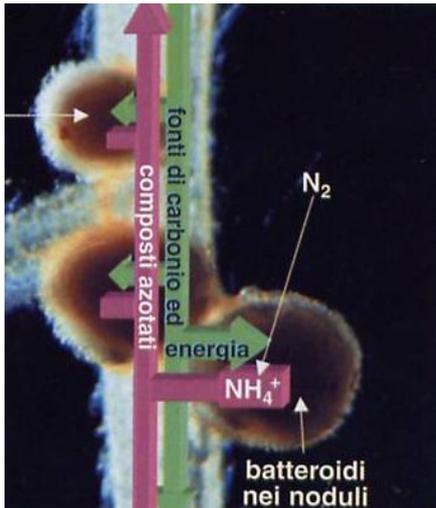


Da: Patriarca e Iaccarino, 2006 Idelson-Gnocchi (Ed.)

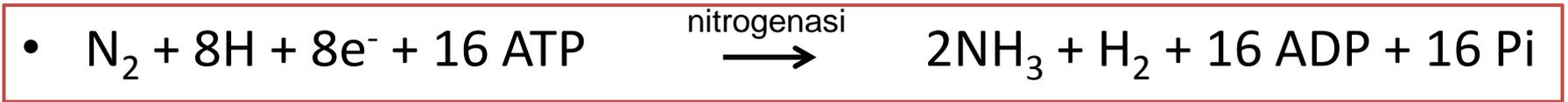
- Durante lo sviluppo del nodulo i batteri vengono rilasciati dai fili di infezione nel citoplasma delle cellule meristematiche neo-formate.

Invasione cellulare e formazione dei noduli

- Le cellule invase sono di grandi dimensioni e sono piene di batterioidi azotofissatori, avvolti dalla membrana plasmatica.
- Una singola cellula può contenere migliaia di simbiosomi.



Da: Patriarca e Iaccarino, 2006 Idelson-Gnocchi (Ed.)



Alterazioni del ciclo dell'N per attività antropiche

- **NO_x e NH₃**

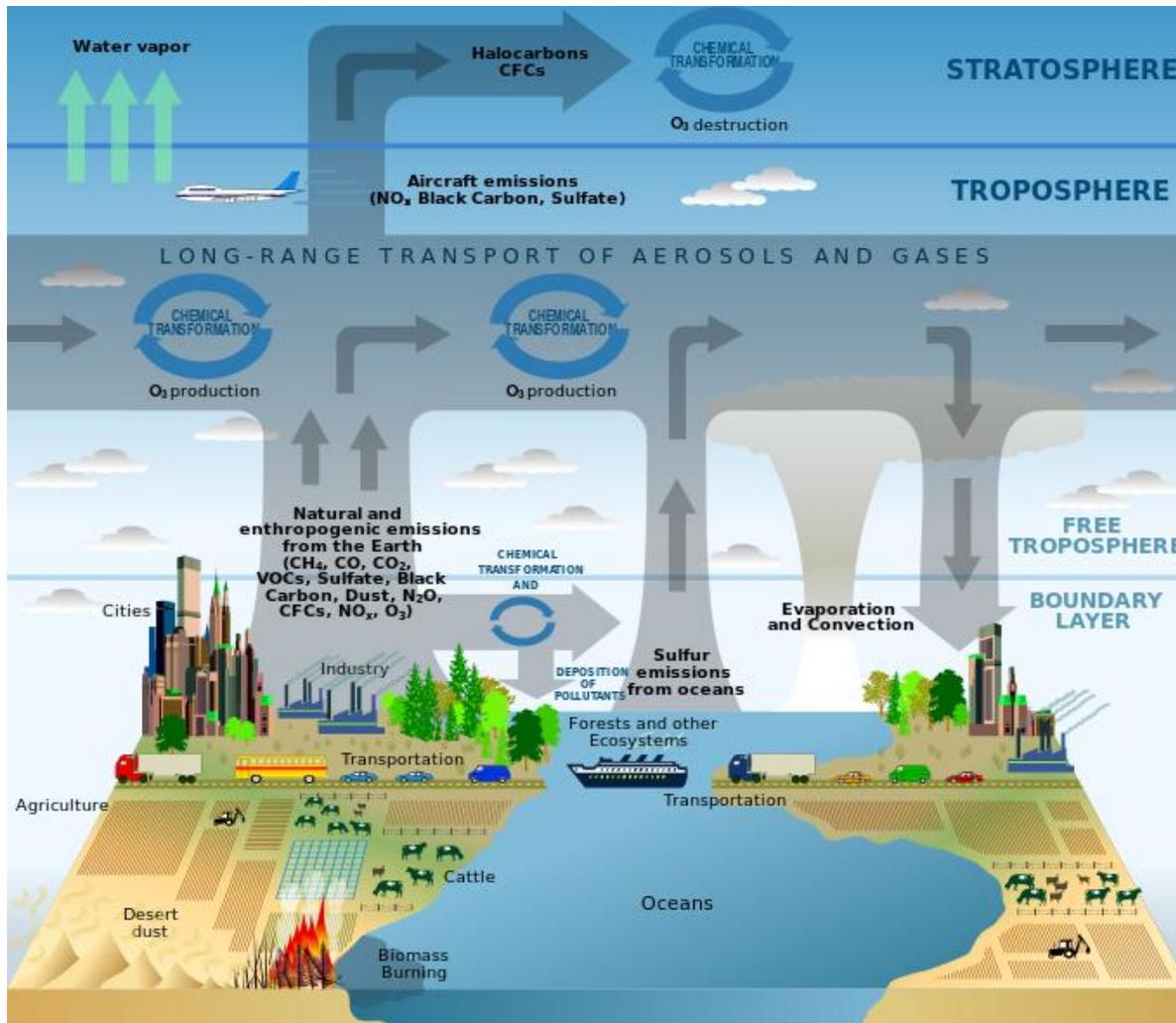
- ***Fonte:***

- Processi di combustione, indipendentemente dal combustibile

- ***Responsabili dell'emissione:***

- NO_x: autoveicoli, impianti industriali e di riscaldamento
- (tempo di vita in atmosfera: 4-20 ore)
- NH₃: attività agricole e industriali (fertilizzanti); trattamento di rifiuti
- (tempo di vita: 1-10 – 70 giorni)

Alterazioni del ciclo dell'N per attività antropiche



La fissazione industriale dell'N, realizzata per la produzione dei fertilizzanti determina un aumento significativo del materiale azotato nel suolo e nelle acque.

Problemi

- Eutrofizzazione, nitrati nelle acque di falda...
- Piogge acide
- Ozono

- Grazie per l'attenzione

Elisabetta Sgarbi - Dipartimento
di Scienze della Vita