

STEFANO CESCO*, YOURY PII*, TANJA MIMMO*, GUIDO ORZES*,
PAOLO LUGLI*, FABRIZIO MAZZETTO*, GUSTAVO BRUNETTO**,
ROBERTO TERZANO***

Il rame nei suoli agrari: essenzialità *versus* tossicità

I terreni agrari coltivati, con l'eccezione di quelli dedicati a colture agrarie perenni che richiedono piani specifici di difesa basati su prodotti anche cuprici e applicati ripetutamente nel corso della stagione vegetativa, presentano un contenuto naturale di rame che si aggira mediamente tra i 10 e i 20 mg di metallo per kg di suolo (Alloway, 2013). Questa quantità di rame risulta poi nel suolo distribuita in più frazioni (minerale, adsorbita e solubile) in equilibrio dinamico tra loro. La frazione minerale è rappresentata dal rame contenuto nei minerali primari e secondari (quali ad es. olivina, orneblenda, ecc.) mentre quella adsorbita annovera la quota di metallo che interagisce con le cariche negative dei minerali e della sostanza organica del suolo. Le forme di rame solubili, come ioni liberi (Cu^+ e Cu^{2+}) o complessati con molecole organiche solubili e di varia natura (essudati radicali e microbici, frazioni solubili della sostanza organica del suolo, ecc.), rappresentano invece la frazione di metallo disponibile per l'assorbimento delle piante. È interessante notare che l'entità di quest'ultima dipende dai contenuti di sostanza organica del suolo e dei carbonati del suolo, così come dal pH del suolo stesso. Infatti, a parità di contenuto totale di rame, i suoli acidi si caratterizzano per una maggiore disponibilità del metallo rispetto a quelli calcarei (McBride, 1994). A questo riguardo va sottolineato che alla rizosfera, zona di stretto contatto e interazione tra suolo-radice-microorganismi, le caratteristiche chimico-fisiche-biologiche del suolo possono risultare molto diverse da quelle del suolo non rizosferico proprio come conseguenza di queste molteplici interazioni (Mimmo et al.,

* Facoltà di Scienze e Tecnologie, Libera Università di Bolzano

** Dipartimento di Scienza del Suolo, Università Federale di Santa Maria, Brasile

*** Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti, Università degli Studi di Bari
"Aldo Moro"

2014; Pii et al., 2015). Anche l'intervento antropico può essere determinante in tal senso, come ad esempio la fertilizzazione azotata a base di ammonio o di nitrato. Infatti, è ben risaputo che, mentre l'ammonio induce una considerevole acidificazione della rizosfera, il nitrato ne causa una significativa alcalinizzazione (Marschner et al., 1986), con evidenti e prevedibili effetti in entrambi i casi sui livelli di disponibilità dei nutrienti in questo ben definito volume di suolo.

I contenuti di rame nella pianta si aggirano mediamente sui 10 μg di metallo per g di sostanza secca (Yruela, 2005). Alla superficie della radice, il metallo può rimanere adsorbito alle cariche negative dell'apoplasto e della parete cellulare (Marschner, 2012) o essere acquisito dalle cellule radicali attraverso processi di trasporto trans-membrana delle forme ioniche libere (Cu^+ e Cu^{2+} , Brunetto et al., 2016). Nel caso dell'acquisizione della forma ionica libera ridotta (Cu^+), è ipotizzato il coinvolgimento a monte di un'attività enzimatica di riduzione del Cu^{2+} localizzata alla superficie della membrana plasmatica. Va inoltre fatto notare che non è escluso un possibile utilizzo diretto, come fonte nutrizionale, anche delle forme del rame complessate da leganti organici di ridotte dimensioni molecolari. Una volta all'interno della cellula radicale, il metallo, pur non godendo di elevata mobilità nella pianta, viene comunque sempre trasportato in forma complessata a molecole organiche di varia natura tra le quali l'acido citrico (Curie et al., 2008). Nei diversi compartimenti cellulari, il rame riveste ruoli fondamentali per il metabolismo, ad esempio come costituente del complesso IV della catena di trasporto degli elettroni nel mitocondrio o della plastocianina a livello del cloroplasto. È cofattore anche di enzimi coinvolti nella risposta adattativa agli stress ossidativi (Marschner, 2012).

Anche se raramente, alcuni casi di limitata disponibilità di rame sono stati registrati in particolare in suoli formati da minerali costituzionalmente poveri di rame o in casi di abbondante presenza di sostanza organica. In queste situazioni è possibile riscontrare un ridotto sviluppo dell'apparato fogliare associato alla comparsa di ingiallimenti internodali associati spesso a macchie necrotiche.

Tuttavia, in questi ultimi decenni la necessità nelle colture arboree da frutto di contrastare sempre più frequenti infezioni fungine ha favorito il ricorso a una abbondante applicazione di agrofarmaci anche a base di rame, causando in questo caso specifico un significativo incremento dei livelli di metallo nel suolo. Tale fenomeno risulta particolarmente pronunciato nei suoli coltivati a vite dove si sono registrati valori prossimi o addirittura, in taluni casi, superiori ai 1000 mg di Cu per Kg di suolo (Flores-Vélez et al.,

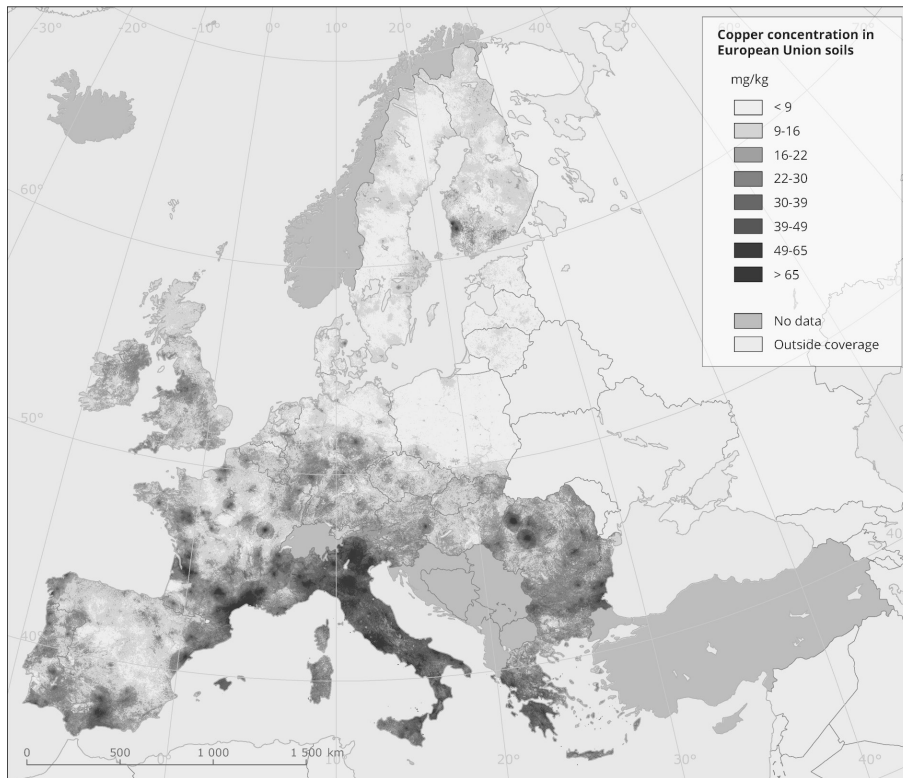


Fig. 1 *Mappa di distribuzione del rame in suoli degli stati della Comunità Europea* (<https://esdac.jrc.ec.europa.eu/themes/copper-topsoils>)

1996). Dal punto di vista del livello di diffusione del fenomeno, i dati riportati in figura 1 ci indicano quanto esso sia esteso sul territorio nazionale anche se con livelli di criticità diversificati. In queste condizioni e in particolare in suoli a reazione subacida, viene sempre più frequentemente evidenziata l'insorgenza di sintomi di tossicità sia a livello radicale che fogliare (fig. 2A) associati a chiari squilibri nutrizionali (Baldi et al., 2018). Ciò suggerisce una possibile interferenza del rame con i meccanismi di acquisizione di alcuni degli altri elementi nutritivi essenziali e determinanti per garantire standard qualitativi elevati del raccolto. Inoltre, l'accumulo del metallo a livello della parete cellulare radicale con conseguente suo irrigidimento pare essere alla base del mancato sviluppo del tessuto radicale in condizioni di tossicità da rame (Kopittke et al., 2011). In un contesto agrario questo fenomeno può indubbiamente rappresentare un serio problema, in particolare nelle fasi di reimpianto dei vigneti. Infatti, è risaputo che i primi anni

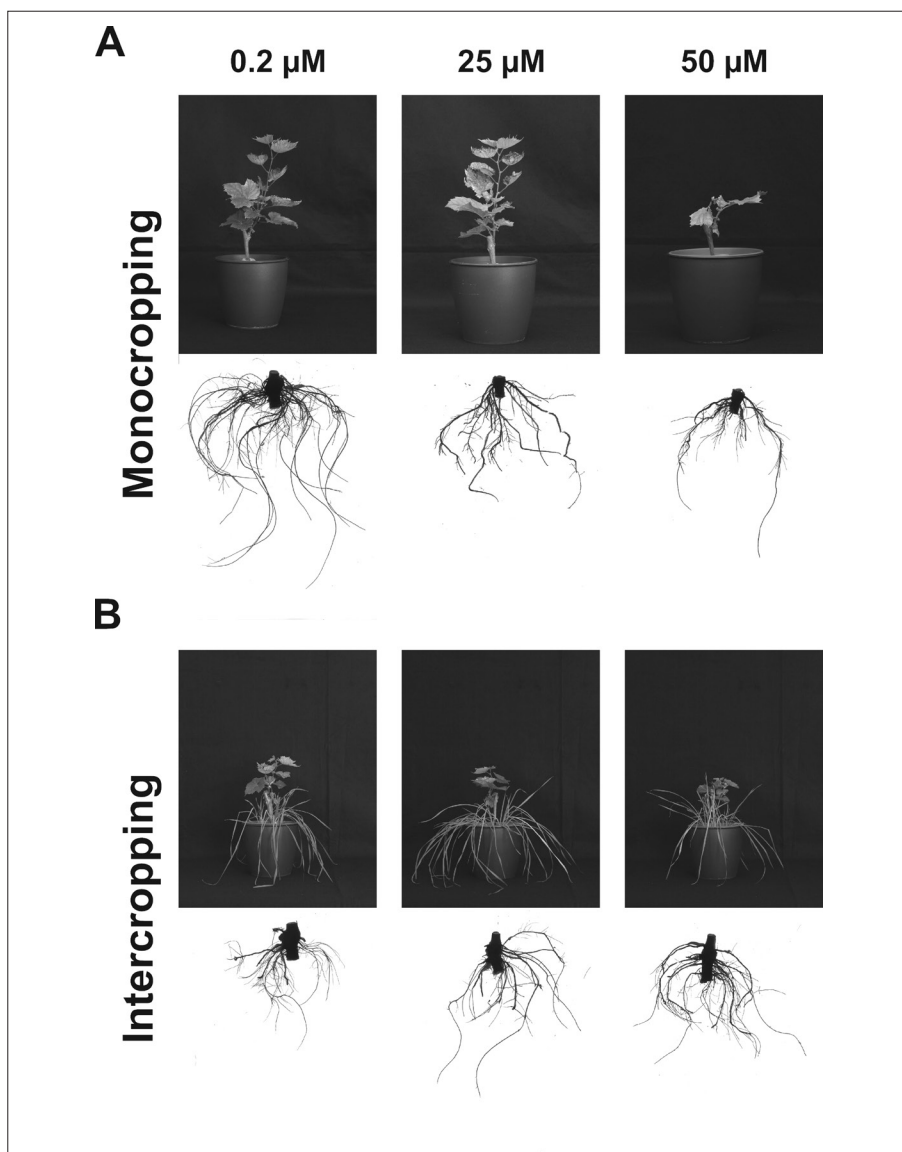


Fig. 2 Effetto della concentrazione di rame (Cu) sui tratti fenotipici di piante di portinnesto di vite 196.17 (*Vitis vinifera* \times *Vitis berlandieri*). **A.** Immagini rappresentative di piante allevate in soluzione idroponica ed esposte a concentrazioni di Cu crescenti (0.2, 25 e 50 μM). I rilevamenti fenotipici su foglie e radici sono stati condotti dopo 14 giorni di trattamento. **B.** Immagini rappresentative di piante allevate in soluzione idroponica in consociazione con piante di *Avena sativa* cv. Fronteira ed esposte a concentrazioni di Cu crescenti (0.2, 25 e 50 μM). I rilevamenti fenotipici su foglie e radici sono stati condotti dopo 14 giorni di trattamento (Tratto e modificato da Marastoni et al, 2019b)

di allevamento delle barbatelle sono fondamentali per l'affrancamento della pianta stessa in termini anche di uno sviluppo appropriato del suo apparato radicale. Inoltre, l'attivazione a livello radicale dei meccanismi di acquisizione del Fe in risposta alla limitata disponibilità del Fe nel mezzo di crescita (aumento della capacità di riduzione del Fe^{3+} , trasporto trans-membrana del Fe^{2+} , acidificazione della rizosfera, Kobayashi e Nishizawa, 2012) e il concomitante sbilanciamento tra anioni-cationi (a favore di quest'ultimi), che si verifica nelle piante esposte a questa condizione di stress nutrizionale, determina un accumulo indifferenziato di cationi tra cui il Cu nei diversi tessuti vegetali (Tomasì et al., 2014). Considerata la natura prettamente calcarea dei suoli dell'area mediterranea che spesso induce fenomeni di limitata disponibilità di Fe per le specie vegetali coltivate, appare chiaro che in tale area una non corretta gestione della nutrizione ferrica dell'impianto arboreo (carenza di Fe) potrebbe tradursi nei suoli contaminati con rame in una induzione della sua tossicità, nonostante i valori di pH del suolo siano di per sé sfavorevoli a una consistente disponibilità del metallo.

I dati presenti in letteratura e rappresentati in figura 1 ci mostrano chiaramente come in questi ultimi anni si sia verificato un significativo incremento dei contenuti di rame nei suoli agrari per effetto delle pratiche colturali di difesa. È indubbio che questo fenomeno richieda una seria riflessione, che però andrebbe inserita in un contesto più ampio di sostenibilità ambientale in senso generale. Infatti, le evidenze sempre più frequenti di contaminazioni con composti organici di sintesi per uso umano (come medicinali ad es. ibuprofene, Luo et al., 2014) delle risorse idriche impiegabili a valle in piani di irrigazione di soccorso delle colture agrarie sono uno dei tanti esempi di quanto sia necessaria una discussione che coinvolga sia il produttore che il consumatore, in una visione molto più ampia di tutela dell'ambiente. Crociate contro o a favore dell'uso del rame in agricoltura potrebbero risultare di scarsa utilità, particolarmente in ambito scientifico, soprattutto se svincolate da un contesto di sostenibilità generale dell'agricoltura a cui ogni cittadino, indipendentemente se coinvolto nel ciclo produttivo in prima persona o meno, può fornire un suo significativo contributo. La contestualizzazione del problema dell'accumulo del rame nei suoli agricoli diventa pertanto di fondamentale rilevanza per una sua corretta analisi.

Dal punto di vista pratico, la situazione attuale di accumulo del rame nei suoli di alcuni areali agrari può essere affrontata ricercando (o applicando, qualora già disponibili) strategie che consentano la coesistenza con il problema e/o che ne contengano l'ulteriore apporto al suolo.

Relativamente alle prime, la letteratura ci offre una serie di soluzioni agro-

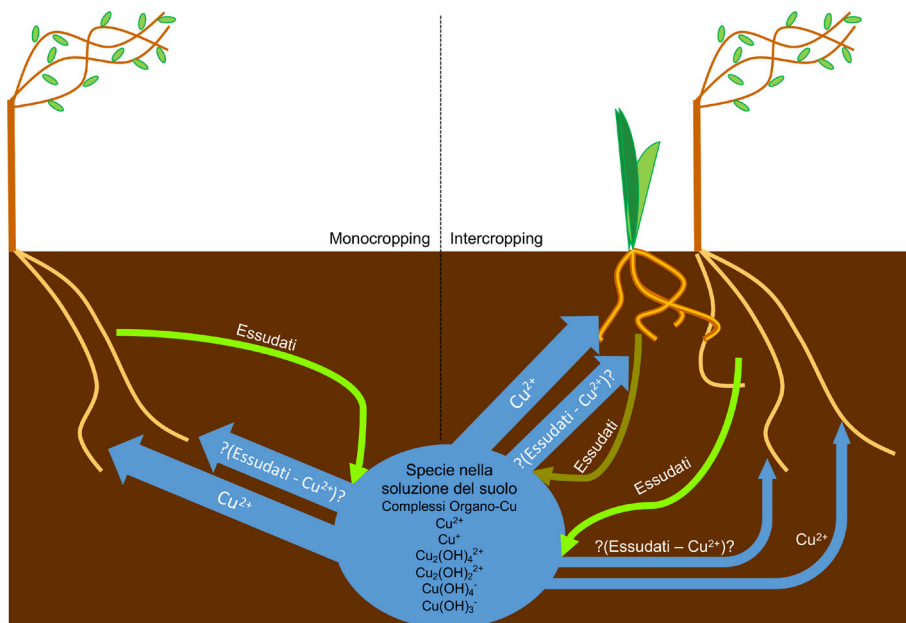


Fig. 3 Rappresentazione schematica delle interazioni alla rizosfera tra piante e forme di Cu disponibili nella soluzione del suolo in caso di sistema di allevamento monocropping e quello intercropping. Lo spessore delle frecce, che indicano il movimento del rame libero (Cu^{2+}) e degli ipotetici complessi tra rame e essudati radicali (Essudati-Cu^{2+}), è rappresentativo dei livelli di concentrazione delle specie nella soluzione del suolo

nomiche già applicabili (si veda anche Brunetto et al., 2016), messe a punto per lo più in suoli subacidi/acidi dove la disponibilità del metallo è piuttosto elevata e il problema è avvertito in modo significativo già da tempo. Sono soluzioni che mirano al contenimento della frazione disponibile del metallo alla rizosfera (fig. 3) limitandone quindi gli effetti tossici sulla specie coltivata (Brunetto et al., 2016), come ad esempio la consociazione delle piante di vite con particolari specie vegetali da copertura (fig. 2B) anche in alcuni casi autoctone (Marastoni et al., 2019a). Oppure, si tratta di strategie agronomiche mirate alla coesistenza con il problema, che in alcuni casi hanno anche fornito risultati promettenti (De Conti et al., 2019).

Sull'altro fronte e cioè quello del contenimento dell'ulteriore apporto di rame ai suoli, sicuramente l'applicazione anche al contesto agricolo dei paradigmi propri della rivoluzione industriale 4.0 e delle sue relative tecnologie (sensoristica, *IoT*, *Big data*, *cloud computing*, ecc.) potrebbe garantire una distribuzione dell'agrofarmaco più tempestiva, localizzata e bilanciata con le necessità d'intervento. Alcuni esempi promettenti di *smart agriculture* sono

già disponibili in letteratura (ad es Augmenta Field Analyzer, <https://www.augmenta.ag/product>). Tuttavia, a causa dei livelli di rame accumulati nel corso degli anni e al fine di poter ancora garantire in una visione di lungo periodo la possibilità di coltivare la vite proprio negli areali storicamente vocati alla viticoltura, la disponibilità di materiale vegetale geneticamente resistente alle diverse patologie pare essere una condizione imprescindibile al contenimento dell'ulteriore apporto di rame ai suoli e per una viticoltura più sostenibile in senso lato. In questi ultimi anni, gli ambiti scientifici della Genetica Vegetale e del Miglioramento Genetico hanno avuto un enorme sviluppo in termini di conoscenze e di strumenti che sicuramente consente loro di dare un fondamentale contributo in tal senso. Le evidenze recenti delle interazioni tra nutrienti e degli squilibri nutrizionali indotti dalla tossicità da rame nelle piante di vite evidenzia tuttavia la necessità di un coinvolgimento di tutti gli ambiti disciplinari/scientifici propri della viticoltura nel raggiungimento di tale obiettivo. Infatti, solo un approccio multidisciplinare al problema, che assicuri una accurata valutazione di tutti i livelli di performance del nuovo materiale vegetale proprio nei suoli ad elevato contenuto di rame, sarà garanzia di riuscita nell'impresa e di una corretta formulazione di una appropriata risposta per la sostenibilità della viticoltura nel lungo periodo.

RINGRAZIAMENTI

Ricerca eseguita con fondi di ricerca della Libera Università di Bolzano (TN2081, TN2053 and TN2071).

RIASSUNTO

Il rame è un elemento essenziale per le piante e svolge ruoli chiave in diversi processi biochimici e fisiologici collegati alla crescita e allo sviluppo delle piante. Anche se il suo contenuto totale nei terreni agrari viene generalmente ritenuto adeguato, la frazione disponibile per la pianta può invece variare considerevolmente in funzione dei valori di pH del suolo stesso e del suo contenuto in sostanza organica. I meccanismi radicali di acquisizione del rame sfruttano la frazione ionica libera del nutriente ($\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$), anche se l'utilizzo diretto di fonti complessate a leganti organici di varia natura non è esclusa. In questi ultimi decenni tuttavia, l'uso ripetuto e prolungato di fungicidi a base di rame per i piani di difesa delle colture agrarie di pregio, in particolare le piante di vite, ha determinato un significativo accumulo del metallo nei suoli vitati (in particolare negli strati superiori), raggiungendo in diversi casi livelli di concentrazioni tossici per le piante e, in alcune circostanze, addirittura superiori ai limiti imposti nell'UE per

i terreni agricoli. In queste condizioni, le piante mostrano evidenti sintomi di tossicità sia a livello radicale che fogliare associati a chiari squilibri nutrizionali, suggerendo una possibile interferenza del rame con i meccanismi di acquisizione di alcuni degli altri elementi nutritivi essenziali e determinanti per standard qualitativi elevati del raccolto. Ne consegue che una conoscenza più approfondita di tali fenomeni risulta determinante a individuare (o mettere a punto) pratiche agronomiche più appropriate a garantire, anche nel lungo periodo, la coltivazione delle varietà tradizionali di vite nelle zone particolarmente vocate alla viticoltura. Tuttavia, per i livelli di rame accumulati in tali areali nel corso degli anni, la disponibilità di materiale vegetale geneticamente resistente alle diverse patologie, condizione imprescindibile alla limitazione dell'apporto di rame ai suoli e per una viticoltura più sostenibile in senso lato, richiede necessariamente una accurata valutazione dei livelli di performance di tale materiale proprio in questi suoli.

ABSTRACT

Copper is an essential element playing key roles in several biochemical and physiological processes related to plant growth and development. Although its total content in agricultural soils is generally considered adequate, the plant-available soluble fraction can instead vary considerably depending on the pH values and the organic matter contents. It is well known that roots are able to use for their copper acquisition the free ionic forms (Cu^+ / Cu^{2+}), although the direct use of copper complexes with the different organic molecules present in the rhizosphere is not excluded. In the recent decades, however, the prolonged and repeated application of copper-based agrochemicals for the defense plans of valuable agricultural crops, in particular vine plants, has caused a significant accumulation of the metal in the vineyards (in particular in the upper layers), reaching in several cases levels of toxicity for plants and, in some circumstances, even levels higher than the limits imposed in the EU for agricultural lands. Under these conditions, the plants exhibit evident symptoms of toxicity both at the root and the leaf level associated with some manifest nutritional imbalances. This aspect suggests a possible copper interference with the acquisition mechanisms of some of the other essential nutrients which are determinant for the high-quality standards of the crop. Consequently, it appears evident that a deeper knowledge of these phenomena results decisive in identifying (or setting) more appropriate agronomic practices aimed at ensuring, even in the long term, the cultivation of vine plants, also in the future, in the areas vocated to viticulture. Nonetheless, due to the levels of copper accumulated in these areas over the years, the availability of vine-plant varieties genetically resistant to the different pathologies appears to be an essential condition for limiting the further supply of copper to the soils and for a more sustainable viticulture in the broad sense. Considering the micronutrient interactions among the diverse nutrients recently evidenced, for an accurate assessment of the performance levels of this new vegetative material in these specific soils a multidisciplinary approach appears to be essential.

BIBLIOGRAFIA

ALLOWAY B.J. (2013): *Sources of heavy metals and metalloids in soils*, Springer, Dordrecht, pp. 11-50.

- BALDI E., MIOTTO A., CERETTA C.A., QUARTIERI M., SORRENTI G., BRUNETTO G., TOSELLI M. (2018): *Soil-applied phosphorous is an effective tool to mitigate the toxicity of copper excess on grapevine grown in rhizobox*, «Scientia Horticulturae», 227, pp. 102-111.
- BRUNETTO G., BASTOS DE MELO G.W., TERZANO R., DEL BUONO D., ASTOLFI S., TOMASI N., PII Y., MIMMO T., CESCO S. (2016): *Copper accumulation in vineyard soils: Rhizosphere processes and agronomic practices to limit its toxicity*, «Chemosphere», 162, pp. 293-307.
- DE CONTI L., CERETTA C.A., BASTOS DE MELO G.W., TIECHER T.L., SILVA L.O.S., GARLET L.P., MIMMO T., CESCO S., BRUNETTO G. (2019): *Intercropping of young grapevines with native grasses for phytoremediation of Cu-contaminated soils*, «Chemosphere», 216, pp. 147-156.
- CURIE C., CASSIN G., COUCH D., DIVOL F., HIGUCHI K., LE JEAN M., MISSON J., SCHIKORA A., CZERNIC P., MARI S. (2008): *Metal movement within the plant: Contribution of nicotianamine and yellow stripe 1-like transporters*, «Annals of Botany», 103, pp. 1-11.
- FLORES-VÉLEZ L.M., DUCAROIR J., JAUNET A.M., ROBERT M. (1996): *Study of the distribution of copper in an acid sandy vineyard soil by three different methods*, «European Journal of Soil Science», 47, pp. 523-532.
- KOBAYASHI T., NISHIZAWA N.K. (2012): *Iron uptake, translocation, and regulation in higher plants*, «Annual Reviews of Plant Biology», 63, pp. 131-152.
- KOPITKE P.M., MENZIES N.W., DE JONGE M.D., MCKENNA B.A., DONNER E., WEBB R.I., PATERSON D.J., HOWARD D.L., RYAN C.G., GLOVER C.J., SCHEKEL C.G., LOMBI E. (2011): *In situ distribution and speciation of toxic copper, nickel, and zinc in hydrated roots of cowpea*, «Plant Physiology», 156, pp. 663-673.
- LUO Y., GUO W., NGO H.H., NGHIEM L.D., HAI F.I., ZHANG J., LIANG S., WANG X.C. (2014): *A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment*, «Science of the Total Environment», 473-474, pp. 619-641.
- MARASTONI L., SANDRI M., PII Y., VALENTINUZZI F., BRUNETTO G., CESCO S., MIMMO T. (2019a): *Synergism and antagonisms between nutrients induced by copper toxicity in grapevine rootstocks: Monocropping vs. intercropping*, «Chemosphere», 214, pp. 563-578.
- MARASTONI L., SANDRI M., PII Y., VALENTINUZZI F., CESCO S., MIMMO T. (2019b). *Morphological root responses and molecular regulation of cation transporters are differently affected by copper toxicity and cropping system depending on the grapevine rootstock genotype*, «Frontiers in Plant Science», 10, pp. 946.
- MARSCHNER H., RÖMHELD V., HORST W.J., MARTIN P. (1986): *Root-induced changes in the rhizosphere: Importance for the mineral nutrition of plants*, «Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenk», 149, pp. 441-456.
- MARSCHNER P. (2012): *Marschner's mineral nutrition of higher plants*, 3rd ed. London.
- MCBRIDE M. (1994): *Trace and toxic elements in soils*, a cura di McBride M., Oxford University Press, New York, pp. 308-341.
- MIMMO T., DEL BUONO D., TERZANO R., TOMASI N., VIGANI G., CRECCHIO C., PINTON R., ZOCCHI G., CESCO S. (2014): *Rhizospheric organic compounds in the soil-microorganism-plant system: their role in iron availability*, «European Journal of Soil Science», 65, pp. 629-642.

- PII Y., MIMMO T., TOMASI N., TERZANO R., CESCO S., CRECCHIO C. (2015): *Microbial interactions in the rhizosphere: beneficial influences of plant growth-promoting rhizobacteria on nutrient acquisition process. A review*, «Biology and Fertility of Soils», 51, pp. 403-415.
- TOMASI N., MIMMO T., TERZANO R., ALFELD M., JANSSENS K., ZANIN L., PINTON R., VARANINI Z., CESCO S. (2014): *Nutrient accumulation in leaves of Fe-deficient cucumber plants treated with natural Fe complexes*, «Biology and Fertility of Soils», 50, pp. 973-982.
- YRUELA I. (2005): *Copper in plants*, «Brazilian Journal of Plant Physiology», 17, pp. 145-156.