

MAURO BRAGALONI

VALUTAZIONE DEI VANTAGGI E DEI RISCHI PER L'AMBIENTE E L'AGRICOLTURA  
DERIVANTI DALL'USO DI BIOSTIMOLANTI MICROBICI A BASE DI FUNGHI  
MICORRIZICI ARBUSCOLARI

M. Bragaloni – 2023: *Assessment of the benefits and risks for the environment and agriculture resulting from the use of microbial biostimulants based on arbuscular mycorrhizal fungi.*

**Riassunto**

L'attuale normativa italiana ed europea relativa alla messa a disposizione sul mercato di prodotti fertilizzanti sancisce di fatto la possibilità, nell'ambito dei cosiddetti "biostimolanti microbici", di utilizzare consorzi microbici esotici di funghi e batteri non prevedendone un espresso divieto né, tantomeno, l'obbligo di utilizzare ceppi fungini autoctoni. Le ricadute prevedibili, in termini ecologici connessi all'introduzione di biostimolanti microbici esotici, riguardano la riduzione della biodiversità dei funghi micorrizici locali a causa dell'introduzione di ceppi antagonisti alieni che possono alterare la biodiversità micorrizica arbuscolare dei nostri suoli. Vi sono, inoltre, ricadute non prevedibili perché le conoscenze microbiologiche sono ancora limitate a causa dell'impossibilità di crescere in coltura pura i funghi micorrizici arbuscolari. Inoltre, sussiste una difficoltà di tracciamento dovuta in gran parte alle diverse controversie tassonomiche che scaturiscono dai pochi caratteri morfologici a disposizione per l'identificazione di una specie e dalla mancanza di un consolidato e universalmente accettato sistema di identificazione e analisi filogenetica basato sulle caratteristiche molecolari. La discussione scientifica ha portato molti scienziati a considerare di rivalutare quale debba essere il concetto di specie per questo gruppo di funghi la cui riproduzione sessuale al momento non è nota. L'introduzione di ceppi di funghi arbuscolari micorrizici, quasi sempre esotici, mediante la somministrazione sotto forma di biostimolanti commerciali causa la concomitante trasmissione di microbiota batterico associato alla rizosfera e alle micorrize derivanti dalla produzione di "inoculo grezzo" mediante la pianta ospite. Ad colorandum, i funghi arbuscolari hanno la peculiare caratteristica di poter essere parte del microbioma delle piante ma di avere a loro volta un proprio microbioma a livello endocellulare. La caratterizzazione e il tracciamento dell'endomiobioma micorrizico e dei FAM sono molto complesse e quindi le valutazioni non possono essere estese a grandi superfici di analisi del suolo. Risulta, pertanto, impraticabile poter stimare su vasta scala i danni dei biostimolanti microbici esotici sulla biodiversità micorrizica autoctona. La soluzione tecnica per limitare il rischio microbiologico e l'impatto sull'ambiente può trovarsi nell'utilizzo di biostimolanti microbici locali provenienti da una moltiplicazione *in situ* o, in alternativa, mediante una gestione delle tecniche colturali in campo mirate ad incrementare la ricchezza microbiologica micorrizica locale. Tuttavia, la comunità scientifica continua a prestare troppa poca attenzione a questa problematica e sono pochi gli studi scientifici a supporto in grado di valutare gli effetti dell'aggiunta di biostimolanti microbici esotici. È auspicabile che tutta la documentazione, attualmente disponibile e descritta per sommi capi in questo lavoro, sia spunto di dibattito ai tavoli tecnici e legislativi nella ricerca di una celere risoluzione del problema mediante idonee misure di intervento.

**Parole chiave:** Funghi arbuscolari micorrizici, agricoltura sostenibile, biostimolanti, consorzi microbici esotici, biodiversità microbiologica del suolo, normativa fertilizzanti.

**Abstract**

The current Italian and European legislation relating to the availability on the market of fertilizing products establishes the possibility, in the context of the so-called "microbial biostimulants", of using

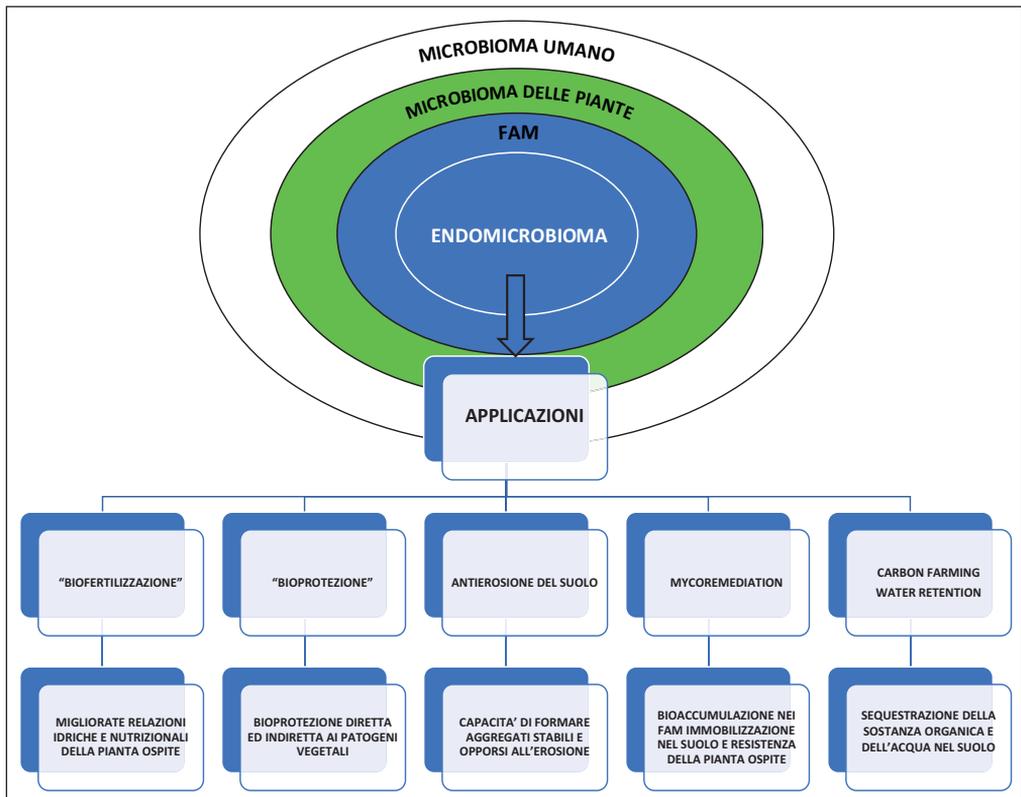
exotic microbial consortia of fungi and bacteria, without providing for a ban or an obligation to use strains native fungi. The foreseeable consequences in ecological terms connected to the introduction of exotic microbial biostimulants concern the reduction of the biodiversity of local mycorrhizal fungi due to the introduction of alien antagonistic strains that could alter the arbuscular mycorrhizal biodiversity of our soils. Furthermore, there are unpredictable consequences because microbiological knowledge is still limited due to the impossibility of growing arbuscular mycorrhizal fungi in pure culture. Moreover, the difficulty of tracing due largely to the various taxonomic controversies arising from the few morphological characters available for the identification of a species and the lack of a consolidated and universally accepted system of identification and phylogenetic analysis based on molecular characteristics. The scientific discussion has led many scientists to consider re-evaluating what the limits of the species' concept should be for this group of fungi whose sexual reproduction is currently unknown. The introduction of strains of arbuscular mycorrhizal fungi, almost always exotic, through the administration in the form of commercial biostimulants causes the concomitant transmission of bacterial microbiota associated with the rhizosphere and mycorrhizae deriving from the production of "crude inoculum" by the host plant. Ad colorandum, arbuscular fungi have the peculiar characteristic of being able to be part of the microbiome of plants but in turn having their own microbiome at the endocellular level. The characterization and tracking of the mycorrhizal endomicrobiome and FAM are very complex and therefore assessments cannot be extended to large soil analysis surfaces. It is, therefore, impractical to be able to estimate on a large scale the damage of exotic microbial biostimulants on native mycorrhizal biodiversity. The technical solution to limit the microbiological risk and the impact on the environment can be based on the use of "local" microbial biostimulants coming from *in situ* multiplication or alternatively by the management of cultivation techniques in the field aimed at increasing the local mycorrhizal microbiological richness. However, the scientific community continues to pay too little attention to this issue and there are few supporting scientific studies capable of evaluating the effects of the addition of exotic microbial biostimulants. Hopefully all the documentary aspects, currently available and described in summary in this work, will be debated at the technical and legislative tables to address the resolution of the problem as soon as possible by preparing suitable intervention measures.

**Keywords:** Arbuscular mycorrhizal fungi; sustainable agriculture; biostimulants, exotic microbial consortia, soil microbiological biodiversity, fertilizer regulations.

### **Perché i funghi micorrizici arbuscolari sono considerati i protagonisti dell'agricoltura sostenibile?**

È noto da tempo che i funghi arbuscolari micorrizici (FAM) sono in grado di migliorare le relazioni idriche e nutrizionali (BRAGALONI & REA 1996; BRAGALONI *et al.* 1996; MARSHNER 1995), di conferire una maggiore resistenza agli stress biotici e abiotici nelle piante ospiti (SMITH & READ 2008; RAVNSKOV *et al.* 2020), di sequestrare anidride carbonica instaurando a livello della micorrizosfera aggregati stabili di suolo e sostanza organica con il risultato di limitare la perdita di acqua e l'erosione dei suoli (HARTMUT *et al.* 1995; MARDHIAHAB *et al.* 2016; MILLER & JASTROW 1990, 2000), di "fitorisanare" i suoli trattenendo i metalli pesanti sul micelio fungino, immobilizzandoli e riducendone la biodisponibilità, la traslocazione e il bioaccumulo nei tessuti vegetali dell'ospite (RAKLAMI *et al.* 2022). Per tale motivo i FAM sono considerati di grande interesse per tutte le possibili applicazioni in agricoltura sostenibile e di particolare interesse per la coltivazione delle piante sia in pieno campo sia in coltura protetta. Infatti, i FAM infettano le radici delle piante di interesse agronomico, così come fanno con le piante negli ambienti naturali, formano arbuscoli e vescicole e colonizzano una grossa parte del suolo con la loro fase esterna alla radice composta da ife e spore. L'elevato utilizzo di fertilizzanti, i cicli di coltura, la lavorazione del suolo e la sua sterilizzazione chimica e/o fisica nell'agricoltura intensiva sono state e continuano ad essere le principali cause di una riduzione della biodiversità e della quantità dei FAM negli ambienti di produzione vegetale. Un sistema in termini energetici a

senso unico che, pur variando con la specifica produzione agricola, comporta in linea generale un discreto consumo di acqua e l'ingresso e il consumo di energia soprattutto sotto forma di fertilizzanti e fitofarmaci. Insomma, una situazione diametralmente opposta ai sistemi climatici indisturbati degli habitat naturali ciclicamente autosostenibili e resilienti. Una peculiarità unica di questi funghi sono i loro batteri endosimbionti che si rivengono nel citoplasma e nella parete che avvalorano la possibile origine endosimbiotica di alcuni organuli cellulari. La tassonomia dei FAM ha subito notevoli cambiamenti a partire dagli anni '80. Tali funghi sono stati inquadrati da Famiglia (*Endogonaceae*) a *Phylum* (*Glomeromycota*) con diverse discussioni e conflittualità nel mondo scientifico che sono state descritte altrove (BRAGALONI 2022). Alcuni autori (BRUNS *et al.* 2018) si sono interrogati recentemente in una sessione assembleare di scienziati dedicata dell'"International Conference on Mycorrhiza" (ICOM9) tenutosi nel 2017 a Praga, Repubblica Ceca, sulla sessualità criptica dei FAM e sulla condizione genomica dei nuclei. Si è concluso in tale sessione che i FAM devono essere riesaminati e analizzati con le tecniche attuali per poterne delineare i confini delle specie. Negli anni a venire si potrebbe assistere, pertanto, a nuove riorganizzazioni tassonomiche. Nonostante le conflittualità in tassonomia, le conoscenze raggiunte hanno permesso all'opinione scientifica di maturare il concetto che il passaggio ad un'agricoltura più sostenibile che prenda in considerazione l'utilizzo dei FAM significhi attuare una strategia di riduzione dei costi energetici ed un miglioramento delle condizioni di crescita e della salute delle piante coltivate, dell'uomo e dell'ambiente (KASHYAP 2018). Vi sono però dei rischi da valutare in quanto l'introduzione di funghi arbuscolari micorrizici spesso non autoctoni con biostimolanti microbici a base di FAM possono modificare il microbioma locale e tali modifiche sono di difficile tracciatura non solo per le considerazioni già fatte ma anche per la peculiarità di questi microrganismi. I FAM non solo sono parte del microbioma che interagisce con le piante ma a loro volta hanno essi stessi un proprio endomicrobioma. Infatti, sono presenti batteri che promuovono la crescita delle piante (Plant-Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR) solitamente associati alle superfici fungine nella rizosfera, e un altro gruppo di batteri endocellulari inizialmente rinvenuti nel citoplasma di alcuni isolati di FAM appartenenti alle *Gigasporaceae* (BIANCIOFFO & BONFANTE 2002). Si deve, inoltre, considerare che i batteri associati nella rizosfera e gli endosimbionti batterici vengono trasmessi con i FAM nelle produzioni di biostimolanti microbici. Questi funghi sono simbionti obbligati e devono quindi essere moltiplicati con la pianta ospite per cui il risultato è un "inoculo grezzo" composto almeno da FAM e altri microrganismi. Questa complessità e le conflittualità tassonomiche soprariportate incidono sulla possibilità di tracciamento e di caratterizzazione del microbiota e del microbioma micorrizico e sulla possibilità di poter stimare le influenze dei biostimolanti microbici esotici sulla biodiversità micorrizica e microbiologica locale. La soluzione tecnica da adottare al fine di limitare il rischio microbiologico e l'impatto sull'ambiente consiste nell'utilizzare biostimolanti microbici "locali" provenienti da una moltiplicazione *in situ* e/o in una gestione di campo mirata ad incrementare la ricchezza microbiologica micorrizica locale. Si deve, inoltre, considerare che i FAM instaurano complesse interazioni. Da qualche anno diversi studi confermano che il microbioma umano e gli altri microbiomi sono in relazione e che variazioni nel microbioma del suolo possono influenzare il microbioma umano e la salute (TRINH *et al.* 2018; BANERJEE *et al.* 2023). Per le ragioni esposte non dobbiamo sottovalutare i possibili rischi derivanti dall'uso indiscriminato di biostimolanti microbici commerciali che contengono ceppi esotici perché in questo momento non si è ancora in grado di valutare i possibili effetti a lungo termine di tali azioni. Si riassume quanto detto con la rappresentazione della **Figura 1** per delineare un quadro schematico d'insieme delle relazioni tra l'endomicrobioma dei FAM, il microbioma delle piante e il microbioma umano. Si riportano, inoltre, nello schema di **Figura 1**, oltre alle relazioni tra microbiomi, gli effetti e le possibili applicazioni biotecnologiche dei FAM per salvaguardare l'agricoltura e l'ambiente.



**Figura 1.** Rappresentazione schematica delle relazioni instaurate nell'ambiente dai Funghi Arbuscolari Micorrizici (FAM) e delle possibili applicazioni biotecnologiche per migliorare l'agricoltura e salvaguardare l'ambiente.

### La definizione dei biostimolanti microbici e il percorso normativo che permette l'uso dei FAM in agricoltura con particolare riferimento alla normativa italiana e ai prodotti biostimolanti registrati in Italia.

In questi ultimi anni si è stimato che la popolazione raggiungerà i 10 miliardi entro il 2050, contestualmente aumenterà la domanda di prodotti agricoli e, salvo porvi riparo affrontando nuove sfide, l'incremento demografico comporterà anche un sovra utilizzo di fertilizzanti chimici e pesticidi con effetti deleteri sull'ambiente e su molte forme di vita, tra cui l'uomo. La situazione è preoccupante e se risulta difficile quantificare il danno dell'uso eccessivo dei fertilizzanti sull'ambiente e sull'uomo migliori sono le stime per il danno causato dai pesticidi. Si stima che ogni anno si verificano circa un milione di decessi a causa di malattie croniche causate da avvelenamento per i soli pesticidi (Environews Forum 1999). Da qui l'urgenza dell'adozione di nuove pratiche agricole sostenibili e rispettose dell'ambiente ma anche efficienti nel produrre più alimenti. Questi obiettivi possono essere raggiunti utilizzando sostanze di origine biologica in grado di ridurre al minimo l'apporto di fertilizzanti chimici e pesticidi. La ricerca ha individuato sostanze naturali utilizzabili in agricoltura che sono in grado migliorare la crescita, la produttività e la qualità delle colture, e di alleviare gli stress biotici e abiotici (PARAĐIKOVIĆ *et al.* 2019). Queste sostanze che possiamo definire "biostimolanti non microbici" possono applicarsi direttamente sui semi, sulla porzione epigea delle piante o direttamente al suolo. Tuttavia, spesso la composizione di queste sostanze di diversa ed eterogenea origine è

complessa e comprende un'ampia gamma di molecole, pertanto è difficile identificare i loro componenti più attivi e le modalità di azione. Bisogna, inoltre, considerare che l'efficacia di un particolare biostimolante non è dovuta a un singolo composto, ma piuttosto alle conseguenze delle azioni sinergiche di diverse molecole bioattive che promuovono la crescita delle piante ed altri effetti benefici quando applicate in piccole quantità rispetto alle quantità dei più comuni fertilizzanti. È proprio l'aspetto relativo alle quantità che distingue i biostimolanti non microbici dai fertilizzanti. Si riporta qui di seguito per esteso la definizione dei biostimolanti menzionati come "*Beneficial substances or compounds*" dell'"Association of American Plant Food Control Officials" (AAPFCO): "*any substance or compound other than primary, secondary, and micro plant nutrients that can be demonstrated by scientific research to be beneficial to one or more species of plants, when applied exogenously to the plant or soil*" (AAPFCO, 2012). In questa definizione non si fa riferimento ai biostimolanti microbici mentre in Europa, al contrario, la "European Biostimulants Industry Council (EBIC) entra nel merito con la seguente definizione: "*Plant biostimulants contain substance(s) and/or microorganisms whose function when applied to plants or the rhizosphere is to stimulate natural processes to enhance/benefit nutrient uptake, nutrient efficiency, tolerance to abiotic stress, and crop quality*" (EBIC, 2013). Per i biostimolanti microbici valgono considerazioni analoghe a quelle già fatte. La composizione dei consorzi microbici non è ben definita da un punto di vista tassonomico, i ceppi microbici possono essere di diversa ed eterogenea origine per cui è difficile identificare quelli più attivi singolarmente ed è altrettanto difficile individuare le loro modalità di azione. Valgono anche qui le considerazioni sulle relazioni sinergiche di diversi ceppi che promuovono la crescita delle piante ed altri effetti benefici quando applicate in piccole quantità rispetto alle quantità dei più comuni fertilizzanti. La normativa europea e italiana si è articolata con diversi aggiornamenti. Nell'art. 13 della Legge 7 luglio 2009, n. 88, si dispone di adeguare la normativa sui fertilizzanti in base alle indicazioni del Regolamento (CE) n. 2003/2003 che viene attuato con l'abrogazione del Decreto Legislativo 29 aprile 2006, n. 217 (D.LGS. 2006, n. 217), e l'entrata in vigore del Decreto Legislativo 29 aprile 2010, n. 75, relativo al "Riordino e revisione della disciplina in materia di fertilizzanti, a norma dell'articolo 13 della legge 7 luglio 2009, n. 88", che entra in vigore il 10/06/2010 e da tale data è stato più volte aggiornato (Ultimo aggiornamento all'atto pubblicato il 16/09/2023). La parte che interessa relativamente alla definizione dei FAM nell'ambito dei biostimolanti è definita nell'allegato 6. Su questa base legislativa viene istituito il "Registro dei Fabbrianti" ed il "Registro dei Fertilizzanti" disponibile sul portale ufficiale SIAN (Sistema Informativo Agricolo Nazionale) al link <https://www.sian.it/vismiko/jsp/indexConsultazione.do> attualmente aggiornato al 13 settembre 2023 (DDG n. 0477374 del 13 settembre 2023; DDG n. 0477376 del 13 settembre 2023). All'interno del Registro dei Fertilizzanti, ai fini della ricerca dei biostimolanti microbici a base di funghi micorrizici, è necessario selezionare preliminarmente se si intende visionare un prodotto per uso in agricoltura convenzionale oppure biologica. Negli atti normativi di aggiornamento del registro lo stesso prodotto a base di micorrize può essere registrato sia per l'uso in agricoltura convenzionale sia per l'uso in agricoltura biologica identificati rispettivamente come lettera C o B. La consultazione dei Decreti del Direttore Generale (Dipartimento delle politiche europee ed internazionali e dello sviluppo rurale – DISR V Ministero dell'agricoltura, della sovranità alimentare e delle foreste – Masaf) è un'alternativa alla consultazione del portale SIAN che però risulta molto più laboriosa. Il portale può essere consultabile qualora si volesse fare un'analisi sui dati contenuti nel registro negli anni disponibili per l'estrazione (2015 - 13 settembre 2023) in relazione ai prodotti utilizzati in agricoltura biologica. Per ottenere tutto l'elenco di prodotti disponibili è necessario selezionare oltre all'uso biologico la spunta su "Ricerca per DENOMINAZIONE DEL TIPO" avendo cura poi di selezionare nel menu a tendina "All. 13 IT All. 6.3.6 – Inoculo funghi "micorizici" dove "micorizici" è stato riportato erroneamente con una sola "r". Le estrazioni, selezionando nel menu a tendina "All. 13 IT All. 6.4.1.6 - Inoculo di funghi micorizici", restituiscono un numero di registrazioni molto limitato e riferibile al solo periodo

2017-2023. L'elenco risultante permette di evidenziare il singolo prodotto e di verificare il contenuto e la carica microbiologica. Per i funghi micorrizici il dato è espresso come percentuale in peso rispetto all'intero prodotto. Nei batteri e nei funghi non micorrizici, come ad esempio *Trichoderma* spp., rinvenibili nei prodotti con consorzi microbici, il dato è espresso come unità formanti colonia per grammo di prodotto. Dalla consultazione dei dati è stata estrapolata la **Tabella n. 1**. Il numero dei prodotti registrati è molto elevato e supera più di duemila registrazioni (2186) nell'arco del periodo definito. Vi sono flessioni molto rilevanti in alcuni anni ma si può generalizzare affermando che sono stati registrati dai fabbricanti approssimativamente in media circa 200 prodotti l'anno con circa 3-4 prodotti per fabbricante ogni anno. Tuttavia, sono i dettagli all'interno del registro sul contenuto dei prodotti che fanno evincere la presenza il più delle volte di consorzi microbici invece che di soli funghi micorrizici e batteri della rizosfera. Interessanti ma di difficile e laboriosa estrazione potrebbero essere i dati sui prodotti effettivamente commercializzati allo stato attuale e la quantificazione di quanti di questi contengano ceppi esotici. In questa trattazione, piuttosto, si intende entrare nel merito della definizione dei biostimolanti microbici e mostrare il percorso normativo che ha portato alla commercializzazione e agli strumenti ufficiali di consultazione. A tal fine sono state effettuate alcune stime di massima sulla quantità di prodotti biostimolanti microbici con inoculo a base di funghi micorrizici registrati in Italia. Inoltre, tali dati sono stati messi in relazione con il numero di fabbricanti che ogni anno hanno ottenuto la registrazione di nuovi prodotti (**Tabella 1**). Gli aggiornamenti normativi non si sono fermati. Nel 2019 è stato emanato il Regolamento CE n. 1009/2019 che abroga il regolamento (CE) n. 2003/2003 ma che ribadisce la collocazione dei biostimolanti nell'ambito delle norme relative ai fertilizzanti eliminando le possibili ambiguità che potrebbero portare all'inserimento di tali prodotti tra i fitofarmaci con riferimento alle norme da applicare così come riportato nel testo: *"Talune sostanze, miscele e microrganismi, denominati prodotti biostimolanti delle piante, non rappresentano di per sé un apporto di nutrienti ma stimolano comunque i processi nutrizionali naturali delle piante. Laddove tali prodotti siano intesi unicamente a migliorare l'efficienza dell'uso dei nutrienti delle piante, la tolleranza allo stress abiotico, le caratteristiche qualitative o l'aumento della disponibilità di nutrienti confinati nel suolo e nella rizosfera, sono per loro natura più simili ai prodotti fertilizzanti che non alla maggior parte delle categorie di prodotti fitosanitari. Agiscono in aggiunta ai concimi, con lo scopo di ottimizzare l'efficienza di tali concimi e di ridurre il tenore di apporto di nutrienti. Tali prodotti dovrebbero pertanto essere autorizzati a recare la marcatura CE in forza del presente regolamento ed essere esclusi dall'ambito di applicazione del regolamento (CE) n. 1107/2009 del Parlamento europeo e del Consiglio (9). È opportuno pertanto modificare di conseguenza il regolamento (CE) n. 1107/2009"*.

Indipendentemente dalle possibili considerazioni ed opinioni che possano essere fatte in campo scientifico, la Commissione Europea riconosce ed inquadra i biostimolanti microbici e non microbici nel campo di applicazione del presente Regolamento (CE) n. 1009/2019 nelle categorie dei fertilizzanti evidenziando la scarsa rispondenza con le categorie dei prodotti fitosanitari. Non si esclude il possibile ruolo di alcuni biostimolanti contro i patogeni vegetali ma si ribadisce la prevalenza dell'effetto modulatore sulla nutrizione delle piante andando ad emendare il regolamento (CE) n. 1107/2009 che *"..... omissis ....stabilisce norme riguardanti l'autorizzazione, l'immissione sul mercato, l'impiego e il controllo all'interno della Comunità dei prodotti fitosanitari, così come sono presentati nella loro forma commerciale"*. Infatti, con il Regolamento (CE) n. 1009/2019 al CAPO VII dell'articolo 47 viene emendato il regolamento (CE) n. 1107/2009 entrando nella definizione dei biostimolanti aggiungendo il punto 34 all'art. 3 che recita così: *"34. "Biostimolante delle piante" qualunque prodotto che stimola i processi nutrizionali delle piante indipendentemente dal suo tenore di nutrienti, con l'unica finalità di migliorare una o più delle seguenti caratteristiche della pianta o della rizosfera della pianta: a) efficienza dell'uso dei nutrienti; b) tolleranza allo stress abiotico; c) caratteristiche qualitative; d) disponibilità di nutrienti confinati nel suolo o nella rizosfera."*. Per completezza sulla definizione di "Biostimolante Microbico" il Reg. (CE) 1009/2019 specifica

tra le Categorie Funzionali del Prodotto (PFC) per i prodotti fertilizzanti dell'UE nell'Allegato I al punto 6: "6. *Biostimolante delle piante A. Biostimolante microbico delle piante B. Biostimolante non microbico delle piante*" per cui i FAM vengono a ricadere nella PFC 6.A. dei biostimolanti microbici. Importante rilevare la definizione abbastanza generica di "Fabbricante" all'art. 3 "qualsiasi persona fisica o giuridica che fabbrica un prodotto fertilizzante dell'UE oppure lo fa formulare o fabbricare e lo commercializza apponendovi il proprio nome o marchio". Con questo regolamento vengono aumentate le verifiche da effettuare riguardo alla presenza di microrganismi patogeni nocivi per l'uomo. Tuttavia, in merito alle possibili verifiche sul prodotto i fabbricanti non sono obbligati a produrre certificazioni ma possono dichiarare di rientrare nei requisiti richiesti assumendosi la responsabilità del contenuto così come indicato nelle etichette e nelle relative schede. La responsabilità del contenuto del prodotto biostimolante può ricadere anche sui distributori e sugli importatori come sancito dagli artt. 10 e 11 e, con l'art. 12, sugli operatori economici in merito alla tracciabilità di prodotto. Il procedimento per la registrazione di biostimolanti a base di FAM rimane comunque semplice se comparato con i procedimenti relativi alle altre categorie di fertilizzanti e di fitofarmaci. Nel 2023 come si evince dalla **Tabella 1** non ci sono state in Italia grosse flessioni nel numero di registrazioni di prodotti a base di FAM. Probabilmente è ancora troppo presto per stimare se la normativa nel suo insieme o i singoli articoli 10, 11 e 12 del Reg. (CE) 1009/2019, che individuano le responsabilità dei distributori, degli importatori e degli operatori economici, possano limitare nel futuro il numero di registrazioni e la diffusione di prodotti con ceppi FAM esotici in Italia. Si deve considerare, inoltre, che il regolamento suddetto è entrato in vigore nella sua integralità già dal 16 luglio 2022 per tutti gli stati membri dell'UE e che nel 2023 il numero di registrazioni di nuovi prodotti biostimolanti non si è affatto ridotto (**Tabella 1**).

**Tabella 1.** Estrapolazione del numero di biostimolanti microbici con micorrize per l'uso in agricoltura biologica (All. 6.3.6 - Inoculo funghi micorrizici) e del numero di fabbricanti dal "Registro dei Fertilizzanti" relativamente agli anni disponibili (2015-2023\*) sul portale del Sistema Informativo Agricolo Nazionale (SIAN).

Anno di registrazione	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023*
Numero di Biostimolanti	395	127	96	149	211	262	341	308	297
Numero di Fabbricanti	66	41	38	39	70	91	107	80	81
Rapporto n. Biostimolanti / n Fabbricanti	6,0	3,1	2,5	3,8	3,0	2,9	3,2	3,9	3,7
* I dati relativi all'anno 2023 si riferiscono al solo periodo che va dal 01.01.2023 al 13.09.2023, quest'ultima è la data dell'ultimo aggiornamento nel registro dei fertilizzanti (DDG del Masaf n. 0477376 del 13/09/2023).									

Poiché la normativa non ha imposto vincoli espliciti alla possibilità di registrare dei prodotti con ceppi fungini micorrizici provenienti dall'estero, l'ipotesi di una futura flessione al ribasso del numero di registrazioni di tali prodotti senza nessun ulteriore intervento normativo appare improbabile. Il legislatore ha evitato di entrare nel merito dando la possibilità di contaminare con ceppi esotici i suoli dedicati alla produzione agricola. Si è già evidenziato quanto la conoscenza

sulla biodiversità e funzionalità di questi funghi sia ancora limitata. Inoltre, l'ubiquità di molte specie ha generato negli addetti ai lavori la convinzione di una mancanza di specificità dei FAM tale da poterne giustificare la diffusione e distribuzione a livello mondiale sotto forma di biostimolanti. In realtà le attuali conoscenze non consentono di comprendere appieno le relazioni che esistono tra il microbioma endogeno, i FAM e il microbioma delle piante ospiti nel suo insieme a livello della rizosfera. Questa mancanza di conoscenza potrebbe essere la ragione dei molti insuccessi riportati dai produttori. Si arriva, inoltre, all'erroneo assunto di mancanza di specificità dei ceppi dovuto alla registrazione ubiquitaria nel mondo dei FAM dando per scontato che l'efficacia dei ceppi sia generale e che valga con qualunque pianta ospite e in qualunque condizione di crescita delle piante. In realtà, come anche condiviso da altri autori (EDIRISINGHE & MADAWALA 2017; CHEN *et al.* 2018) esiste una specializzazione funzionale che non può essere trascurata e che deve essere opportunamente valutata se si vogliono ottenere buoni risultati. La controversa situazione tassonomica unitamente alle difficoltà nel valutare l'efficienza e la funzionalità di questi ceppi fungini di per sé o nei consorzi microbici hanno alimentato e permesso di generalizzare la loro fisiologia in relazione con la pianta ospite. Inoltre, in via prudenziale non si dovrebbero introdurre ceppi esotici ma gestire quelli che già sono presenti nei nostri suoli agricoli incrementandoli e proteggendoli nel loro habitat. In accordo con quanto indicato anche da altri autori (BEVER 2002; BERRUTI *et al.* 2016) i produttori agricoli dovrebbero essere incoraggiati e adeguatamente formati a produrre il proprio inoculo di FAM in maniera autonoma dai propri campi. In concreto, ciò comporterebbe affrontare un costo iniziale per istruire gli agricoltori ma da questo investimento ne deriverebbe un grande ritorno economico non solo in Europa ma anche nei paesi in via di sviluppo dove l'agricoltura convenzionale per i costi elevati dei fertilizzanti, dei fitofarmaci e/o dei biostimolanti risulta una scelta non praticabile.

### **L'efficienza micorrizica dei biostimolanti microbici e lo stato dell'arte sulla possibilità della tracciatura dei FAM nei sistemi di produzione agricola.**

Una delle prime metodiche molecolari per profilare i FAM nei suoli agricoli è stata la "Polymerase Chain Reaction and Denaturing Gradient Gel Electrophoresis" (PCR-DGGE) per rilevare il gene RNA ribosomiale 18S (MA *et al.* 2005). Tuttavia, da qualche anno vengono pubblicati lavori che riportano la possibilità di tracciare i ceppi FAM esotici introdotti nei nostri suoli agricoli distinguendoli da quelli autoctoni con metodologie molecolari più avanzate basate sul sequenziamento del DNA. In alcuni di questi studi si utilizzano anche tecniche di "Next-Generation Sequencing" (NGS) di III e IV generazione. Alcuni autori (PELLEGRINO *et al.* 2022) hanno anche compiuto studi nei suoli italiani cercando di tracciare i ceppi introdotti nel suolo provenienti da collezioni fungine alloctone, sia singolarmente sia come consorzio microbico miscelando tre singole specie alloctone, in comparazione con un consorzio microbico di ceppi autoctoni. Tali autori giungono alla conclusione che i consorzi microbici alloctoni utilizzati persistono più tempo e sono in grado di aumentare la produzione più dei consorzi microbi autoctoni. Tuttavia, questa conclusione si poggia sui risultati ottenuti con solo due combinazioni di consorzi microbici uno alloctono e l'altro autoctono, la produzione vegetale viene valutata nei confronti di un solo ospite (*Medicago sativa* L. var. Giulia) e, pertanto, questi risultati non permettono di assumere una generalizzazione delle conclusioni scientifiche cui si perviene. In letteratura però sono presenti altri risultati riportati da diversi autori (AFFOKPON *et al.* 2011; ESTRADA *et al.* 2013; LABIDI *et al.* 2015) che affermano che i ceppi FAM autoctoni sono molto più efficienti dei ceppi disponibili in commercio. Inoltre, sebbene i fabbricanti di biostimolanti microbici affermino capacità superiori dei propri inoculi posti in commercio diversi autori (GARMENDIA e MANGAS 2014; MUKHONGO *et al.* 2016) ne hanno riportato l'inefficienza. In aggiunta al problema già sollevato è stata anche riscontrata una notevole variabilità di risposta tra i diversi lotti di produzione di biostimolanti microbici che evidenzia le difficoltà del controllo qualità

nella fase di produzione degli stessi. In conclusione, siamo di nuovo di fronte a risultati che portano a conclusioni conflittuali. Altri studi molecolari più avanzati evidenziano la possibilità di poter tracciare i ceppi dei FAM (SCHLAEPPI *et al.* 2016; NIWA *et al.* 2018). Tuttavia, si ribadisce che purtroppo al momento non c'è una piena condivisione generale sull'identificazione molecolare dei FAM e i risultati ottenuti dai diversi tipi di analisi, principalmente sulla variabilità del rDNA, hanno prodotto diverse conflittualità (BRAGALONI 2022). Per i FAM e anche per altri funghi, secondo un rapporto sulle recenti tendenze nelle banche dati genomiche, le sequenze prive di annotazioni o scarsamente annotate vengono depositate con grande sorpresa in preponderanza da micologi esperti nel settore e tale andamento non tende a diminuire nel tempo (ABARENKOV *et al.* 2022). Di fatto tale circostanza limita la possibilità di identificazione certa e gli studi di filogenesi molecolare. Un'ulteriore complicazione deriva dal deposito di molte sequenze dei FAM ottenute da "uncultured spores". Per le spore raccolte in habitat l'identificazione tassonomica su base morfologica è considerata meno attendibile anche se fatta da un micologo esperto e ne deriva una scarsa credibilità della conseguente annotazione nella banca dati. In conclusione, non è stato ancora delineato un metodo economicamente conveniente e agevole per le analisi di routine su ampia scala riguardo il tracciamento dei FAM, sia nei campi agricoli o nelle colture protette, sia nei controlli di qualità della produzione di biostimolanti. Alcuni studi pubblicati recentemente (KOLARÍKOVÁ *et al.* 2021; DELAVALAUX *et al.* 2022) sono molto promettenti e potrebbero costituire un punto di riferimento per le future applicazioni nella tracciabilità dei FAM. Per quanto sopra riportato allo stato attuale diventa difficile poter fare una valutazione del rischio ambientale. Analogamente a quanto detto per i FAM dovrebbe essere valutato l'impatto anche degli altri microrganismi che vengono dispersi nell'ambiente sotto forma di biostimolanti. Questa situazione impone la necessità di un ulteriore intervento normativo rispondente ad un atteggiamento prudentiale idoneo a limitare la diffusione indiscriminata di ceppi di cui non è noto l'impatto a lungo termine. L'attuale Regolamento (CE) 1109/2019 sicuramente mette più paletti per assicurare una riduzione del rischio ambientale e umano ma non potrà sortire molti effetti non prevedendo un divieto esplicito all'uso sul nostro territorio di ceppi esotici dei FAM o di altri microrganismi o consorzi microbici esotici.

## Conclusioni

Si è di fronte ad una sfida impegnativa se si vogliono valorizzare le colture agrarie del nostro paese mediante la gestione dell'infezione micorrizica nell'ambiente di produzione. È opportuno evitare di sviluppare poche fonti di inoculo micorrizico che possano essere diffuse globalmente. L'approccio alternativo è quello di incoraggiare l'adozione di pratiche agricole che possano ampliare la varietà di funghi micorrizici arbuscolari locali e incrementare il loro contenuto nei suoli così da ottenere i benefici ricercati per soddisfare le esigenze della specifica coltura. Tale approccio è per molti aspetti più difficile da realizzare in quanto si deve fornire un ambiente di supporto tecnico affinché un consorzio di FAM possa essere arricchito nella zona di produzione ed essere mantenuto stabile così da colonizzare la maggior parte delle piante coltivate. Questo obiettivo può essere raggiunto solo attraverso lo sviluppo di nuove strategie agricole e con una puntuale assistenza da parte di personale tecnico a supporto degli agricoltori. Questa assistenza indirizzata alla produzione agricola nel rispetto dell'ambiente può arrivare soprattutto dal contributo degli enti pubblici e di ricerca dedicati al supporto all'agricoltura e al territorio. L'assistenza in agricoltura da parte di tecnici formati rappresenta l'arma migliore per poter conseguire gli obiettivi illustrati. Esistono già degli esempi a cui fare riferimento come la Misura 2 del Piano di Sviluppo Regionale. Tale misura finanzia i servizi di consulenza per migliorare la gestione sostenibile, la performance economica e ambientale e il sostegno ad attività dimostrative e ad azioni di informazione delle aziende agricole e forestali e delle piccole e medie imprese che operano nelle zone rurali. Sarebbe auspicabile che interventi come questi possano essere previsti

anche per dare il corretto supporto agli agricoltori al fine di consentire agli stessi di provvedere autonomamente in un prossimo futuro alla produzione e gestione di ceppi FAM autoctoni. Per raggiungere questi obiettivi è necessario dissuadere l'uso dei biostimolanti microbici a base di FAM e di altri microrganismi esotici attraverso una corretta informazione sui possibili rischi che potrebbero derivare dall'utilizzazione di tali microrganismi. Inoltre, il legislatore *in primis*, i ricercatori e i tecnici in agricoltura, che presiedono ai tavoli di concertazione, dovrebbero essere esortati ad individuare soluzioni tecnico-giuridiche che abbiano come fine ultimo la limitazione dei rischi connessi alla diffusione dei biostimolanti microbici esotici prevenendo e riducendo l'esposizione ai potenziali danni che potrebbero ricadere sull'ambiente in cui viviamo.

### Indirizzo dell'autore

MAURO BRAGALONI

CREA Alimenti e Nutrizione

Via Ardeatina, 546 - 00178 Roma.

E-mail: mauro.bragaloni@crea.gov.it

### Bibliografia

- AAPFCO – 2012: Product Label Guide. Association of American Plant Food Control Officials. Doi: [https://agr.mt.gov/\\_docs/fertilizer-docs/AAPFCO\\_FertandSoilLabelingGuide\\_2012.pdf](https://agr.mt.gov/_docs/fertilizer-docs/AAPFCO_FertandSoilLabelingGuide_2012.pdf)
- ABARENKOV K., KRISTIANSOON E., RYBERG M., NOGAL-PRATA S., GÓMEZ-MARTÍNEZ D., STÜER-PATOWSKY K., JANSSON T., PÖLME S., GHOBAD-NEJHAD M., CORCOLL N., SCHARN R., SÁNCHEZ-GARCÍA M., KHOMICH M., WURZBACHER C. & NILSSON R.H. – 2022: The curse of the uncultured fungus. *MycKeys*. 2 (86): 177-194. Doi: <https://doi.org/10.3897/mycokeys.86.76053>
- AFFOKPON A., COYNE D.L., LAWOUIN L., TOSSOU C., AGBE'DE' R.D. & COOSEMANS, J. – 2011: Effectiveness of native West African arbuscular mycorrhizal fungi in protecting vegetable crops against root-knot nematodes. *Biol. Fertil. Soils* 47: 207–217. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00374-010-0525-1>
- BANERJEE S. & VAN DER HEIJDEN M.G.A. – 2023: Soil microbiomes and one health. *Nat Rev Microbiol* 21: 6-20. Doi: <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00779-w>
- BIANCOTTO V. & BONFANTE P. – 2002: Arbuscular mycorrhizal fungi: a specialised niche for rhizospheric and endocellular bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek* 81, 365-371. Doi: <https://doi.org/10.1023/A:1020544919072>
- BRAGALONI M. – 2022: I funghi micorrizici arbuscolari del litorale pontino: dalla lotta all'erosione dei suoli all'agricoltura sostenibile e agli alimenti sostenibili. *RMR, Boll. Amer* 117, Anno XXXVIII, 2022 (3): 123-142. Doi: <https://doi.org/10.57624/AMER.2022.07>
- BRAGALONI M. & REA E. – 1996: Impatto di endofiti micorrizici isolati da dune sabbiose su piante di interesse agrario. *Mic. Ital.*, 1:85-91. (ISSN: 0390-0460)
- BRAGALONI M., DI MONTE G., PIERANDREI F. & REA E. – 1996. *Valutazione dell'efficienza di un endofita micorrizico isolato da dune sabbiose*. Atti del XIII Convegno Nazionale della Società Italiana di Chimica Agraria, Firenze, 2-4 ottobre 1995, Pàtron Editore, Bologna: pp. 213-218.
- BERRUTI A., LUMINI E., BALESTRINI R. & BIANCOTTO V. – 2016: Arbuscular Mycorrhizal Fungi as Natural Biofertilizers: Let's Benefit from Past Successes. *Front. Microbiol.* 6: 1559. Doi: <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2015.01559>
- BEVER J.D. – 2002: Host-specificity of AM fungal population growth rates can generate feedback on plant growth. *Plant Soil* 244: 281-290. Doi: <https://doi.org/10.1023/A:1020221609080>
- BRUNS T.D., CORRADI N., REDECKER D., TAYLOR J.W. & ÖPIK M. – 2018: *Glomeromycotina*: what is a species and why should we care? *New Phytologist – Viewpoints*. 220: 963-967. Doi: <https://doi.org/10.1111/nph.14913>
- CHEN M., ARATO M., BORGHI L., NOURI E. & REINHARDT D. – 2018: Beneficial Services of Arbuscular Mycorrhizal Fungi – From Ecology to Application. *Front. Plant Sci., Sec. Plant Path. Interact.* 9:1270. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01270>
- Decreto Legislativo 29 aprile 2006, n. 217. Revisione della disciplina in materia di fertilizzanti. GU n.141 del 20-06-2006 - Suppl. Ordinario n. 152.

- Decreto Legislativo 29 aprile 2010, n. 75. Riordino e revisione della disciplina in materia di fertilizzanti, a norma dell'articolo 13 della legge 7 luglio 2009, n. 88. GU n.121 del 26-05-2010 - Suppl. Ordinario n. 106.
- DELAUVAUX C.S., RAMOS R.J., STURMER S.L. & BEVERE J.D. – 2022: Environmental identification of arbuscular mycorrhizal fungi using the LSU rDNA gene region: an expanded database and improved pipeline. *Mycorrhiza* 32, 145-153. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00572-022-01068-3>
- ESTRADA B., AROCA R., BAREA J.M. & RUIZ-LOZANO J.M. – 2013: Native arbuscular mycorrhizal fungi isolated from a saline habitat improved maize antioxidant systems and plant tolerance to salinity. *Plant Sci.* 201–202: 42-51. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2012.11.009>
- EDIRISINGHE C. & MADAWALA S. – 2017: Arbuscular mycorrhizal fungal dynamics following change of land use from mature forest to Eucalyptus plantation. *J. Natl. Sci. Found.* 45 (4): 321-328.
- EIBC (European Biostimulants Industry Council) – 2013: Promoting the Biostimulant Industry and the Role of Plant Biostimulants in Making Agriculture More Sustainable. Available online at: [www.biostimulants.eu/](http://www.biostimulants.eu/).
- Environews Forum – 1999: Killer environment. *Environ. Health Perspect.* 107, A62.
- GARMENDIA I. & MANGAS V.J. – 2014: Comparative study of substrate-based and commercial formulations of arbuscular mycorrhizal fungi in romaine lettuce subjected to salt stress. *J. Plant Nutr.* 37: 1717-1731. Doi: <https://doi.org/10.1080/01904167.2014.889149>
- HARTMUT K. ELKE M. & SYBILLA H. – 1995: Soil microarthropods (Acari, Collembola) from beach and dune: characteristics and ecosystem context. *J. Coast Conserv.* 1: 77–86. Doi: <https://doi.org/10.1007/BF02835564>
- KOLAŘÍKOVÁ Z., SLAVÍKOVÁ R., KRÜGER C., KRÜGER M., & KOHOUT P. – 2021: PacBio sequencing of Glomeromycota rDNA: a novel amplicon covering all widely used ribosomal barcoding regions and its applicability in taxonomy and ecology of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 231: 490-499. Doi: <https://doi.org/10.1111/nph.17372>
- LABIDI S., JEDDI F.B., TISSERANT B., YOUSFI M., SANAA M., DALPE Y. & SAHRAOUI A.L.H. – 2015: Field application of mycorrhizal bio-inoculants affects the mineral uptake of a forage legume (*Hedysarum coronarium* L.) on a highly calcareous soil. *Mycorrhiza* 25: 297-309.
- Legge 7 luglio 2009, n. 88. Disposizioni per l'adempimento di obblighi derivanti dall'appartenenza dell'Italia alle Comunità europee - Legge comunitaria 2008. GU n.161 del 14-07-2009 - Suppl. Ordinario n. 110.
- MA W.K., SICILIANO S.D. & GERMIDA J.J. – 2005: A PCR-DGGE method for detecting arbuscular mycorrhizal fungi in cultivated soils. *Soil Biol. and Biochem.*, 37 (9): 1589-1597. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.01.020>
- MARDHIAHAB U., CARUSO T., GURNELLD C. & RILLIGAB M.C. – 2016: Arbuscular mycorrhizal fungal hyphae reduce soil erosion by surface water flow in a greenhouse experiment. *Appl. Soil Ecol.* 99: 137-140. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.11.027>
- MARSHNER H. – 1995: *Mineral nutrition in the Higher Plants*. Academic Press Inc., London Ltd. II edition: pp. 889. ISBN: 9780080571874. Doi: <https://doi.org/10.1006/anbo.1996.0155>
- MILLER R.M. & JASTROW J.D. – 1990: Hierarchy of Root and Mycorrhizal Fungal Interactions with Soil Aggregation. *Soil Biol. and Biochem.*, 22: 579-584. Doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0038-0717\(90\)90001-G](http://dx.doi.org/10.1016/0038-0717(90)90001-G)
- MILLER R.M. & JASTROW J.D. – 2000: *Mycorrhizal Fungi Influence Soil Structure*. In: Kapulnik, Y. and Douds, D.D., Eds., *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*, Springer, Dordrecht: 3-18. Doi: [https://doi.org/10.1007/978-94-017-0776-3\\_1](https://doi.org/10.1007/978-94-017-0776-3_1)
- MUKHONGO R.W., TUMUHAIRWE J.B., EBANYAT P., ABDELGADIR A.H., THUITA M. & MASSO C. – 2016: Production and use of arbuscular mycorrhizal fungi inoculum in sub-Saharan Africa: challenges and ways of improving. *Int. J. Soil Sci.* 11: 108-122. Doi: <https://doi.org/10.3923/ijss.2016.108.122>
- NIWA R., KOYAMA T., SATO T., ADACHI K., TAWARAYA K., SATO S., HIRAKAWA H., YOSHIDA S. & EZAWA T. – 2018: Dissection of niche competition between introduced and indigenous arbuscular mycorrhizal fungi with respect to soybean yield responses. *Sci. Rep.* 8: 7419. Doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25701-4>
- PARADIKOVIĆ N., TEKLIĆ T., ZELJKOVIĆ S., LISJAK M. & SPOLJAREVIĆ M. – 2019: Biostimulants research in some horticultural plant species - a review. *Food Energy Secur.* 8: e00162.
- PELLEGRINO E., NUTI M. & ERCOLI L. – 2022: Multiple Arbuscular Mycorrhizal Fungal Consortia Enhance Yield and Fatty Acids of *Medicago sativa*: A Two-Year Field Study on Agronomic Traits and Tracing of Fungal Persistence. *Front. Plant Sci.* 13: 1-19. Doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.814401>

- RAKLAMI A., MEDDICH A., OUFDOU K. & BASLAM M. – 2022: Plants-Microorganisms-Based Bioremediation for Heavy Metal Cleanup: Recent Developments, Phytoremediation Techniques, Regulation Mechanisms, and Molecular Responses. *Int. J. Mol. Sci.* 9: 5031. Doi: <https://doi.org/10.3390/ijms23095031>
- Regolamento (CE) n. 2003/2003 del Parlamento europeo e del Consiglio del 13 ottobre 2003 relativo ai concimi (Testo rilevante ai fini del SEE). Gazzetta ufficiale n. L 304 del 21/11/2003 pag. 1-194.
- Regolamento (CE) n. 1107/2009 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 21 ottobre 2009, relativo all'immissione sul mercato dei prodotti fitosanitari e che abroga le direttive del Consiglio 79/117/CEE e 91/414/CEE.
- Regolamento (UE) 2019/1009 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 5 giugno 2019, che stabilisce norme relative alla messa a disposizione sul mercato di prodotti fertilizzanti dell'UE, che modifica i regolamenti (CE) n. 1069/2009 e (CE) n. 1107/2009 e che abroga il regolamento (CE) n. 2003/2003.
- SCHLAEPPI K., BENDER S. F., MASCHER F., RUSSO G., PATRIGNANI A., CAMENZIND T., HEMPEL S., RILLIG M.C. & VAN DER HEIJDEN M.G.A. – 2016: High-resolution community profiling of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 212: 780-791. Doi: <https://doi.org/10.1111/nph.14070>
- SMITH S.E., & READ D.J. – 2008: *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press and Elsevier London, New York City, New York, USA. ISBN 978-0-12-370526-6. Doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370526-6.X5001-6>
- TRINH P., ZANEVELD J. R., SAFRANEK S. & RABINOWITZ P. M. – 2018: One health relationships between human, animal, and environmental microbiomes: a mini-review. *Front. Public Health* 6: 1-9. Doi: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2018.00235>