

XXII Convegno Nazionale di Micologia

Siena

06-08 settembre 2018

Unione Micologica Italiana (UMI)

Dipartimento di Scienze della Vita, Università degli Studi di Siena

Comitato Organizzatore

Claudia Perini (presidente), Elena Salerni, Debora Barbato, Paolo Cantiani

Segreteria Organizzativa

Silvia Bruschini, Gianni Henson, Pamela Leonardi

Comitato scientifico

Antonella Amicucci, Santella Burruano, Andrea Ceci, Domizia Donnini,
Mirco Iotti, Benedetto Linaldeddu, Antonietta Mello, Stefano Mocali,
Silvano Onofri, Elena Savino, Giuseppe Venturella, Alessandra Zambonelli,
Mirca Zotti

PROGRAMMA DEL CONVEGNO

Giovedì 06 Settembre 2018

- 11:00** **Registrazione dei partecipanti al convegno**
- 11:30** **Apertura del convegno e saluto ai partecipanti**
Indirizzi di saluto da parte delle Autorità
Prof.ssa Claudia Perini (Presidente del Comitato Organizzatore)
Prof.ssa Alessandra Zambonelli (Presidente dell'UMI)
- 12:00** **Inizio lavori**

Sessione: sistematica fungina
Moderatori: Prof. Giuseppe Venturella & Dr. Andrea Ceci
- 12:00-12:15** **The good, the bad and the ugly. The story of *Cortinarius* spp.**
Antonella Amicucci, Claudio Rossi, Laura Giamperi, Francesca Belcuore, Bálint Dima & Anahi Elena Ada Bucchini
- 12:15-12:30** **Studio sulla diversità genetica delle morchelle in Italia.**
Carmelo Gianchino, Martin Snabl, Urbano Guidori, Marco Leonardi, Pamela Leonardi, Giovanni Pacioni, Alessandra Zambonelli & Mirco Iotti
- 12:30-12:45** ***Tuber aestivum* Vittad. and *Tuber mesentericum* Vittad.: new insights based on morphological and phylogenetic analyses**
Giorgio Marozzi, Gian Maria Niccolò Benucci, Edoardo Suriano, Nicola Sitta, Lorenzo Raggi, Hovirag Lancioni, Leonardo Baciarelli Falini, Emidio Albertini & Domizia Donnini
- 12:45-13:00** ***Fomitopsis officinalis* sulle Alpi italiane: considerazioni e dati preliminari sull'incerto status di un'antica risorsa**
Carolina Girometta, Laura Rovelli, Lara Mariastella Ronconi, Francesca Brescia, Ivano De Negri, Rebecca Michela Baiguera, Anna Maria Picco & Elena Savino.
- 13:00-14:00** **Pranzo di lavoro**

Sessione: Ecologia & distribuzione
Moderatori: Prof.ssa Elena Savino & Prof. Silvano Onofri
- 14:00-14:15** **L'importanza dei siti di elevato interesse conservazionistico per la valutazione delle specie da inserire nelle red-lists IUCN: l'esempio della Riserva Naturale Orientata Biogenetica di Campolino**
Daniele Antonini, Massimo Antonini, Claudia Perini, Elena Salerni & Chiara Bellari
- 14:15-14:30** **Contributo ad una checklist dei Basidiomiceti della provincia di Grosseto**
Diego Cantini, Marco Clericuzio, Elena Salerni & Claudia Perini
- 14:30-14:45** **Wood-inhabiting fungi on logs of *Pinus pinaster*: an ecological and conservationist point of view.**
Ponce Àngel, D'Aguanno Maria Nives, Debora Barbato, Elena Salerni, Landi Marco, Saveri Carlo & Perini Claudia
- 14:45-15:00** **Microfunghi saprotrofi del suolo isolati da siti contaminati da HCH e DDT: valutazione della tolleranza e stress ossidativo**
Fabiana Russo, Andrea Ceci, Antonietta Siciliano, Marco Guida, Miroslav Černík, Eligio Malusà, Małgorzata Tartanus & Anna Maria Persiani

- 15:00-15:15** **Bioremediation of contaminated soil: a strategy based on fungi and bacteria**
Federica Spina, Giulia Spini, Anna Poli, Alice Romagnolo, Andrea Zanellati, Tiffanie Regnier, Anne- Laure Blieux, Abdelwahad Echairi, Valeria Prigione, Jose Julio Ortega-Calvo, Edoardo Puglisi & Giovanna Cristina Varese
- 15:15-15:30** **Verso un'agricoltura sostenibile: potenzialità dei funghi saprotrofi del suolo nella solubilizzazione del tricalcio fosfato**
Veronica Spinelli, Andrea Ceci, Flavia Pinzari, Fabiana Russo, Barbara Felici, Oriana Maggi & Anna Maria Persiani
- 15:30-15:45** **Studio preliminare su adesione e formazione di micofilm in bioreattori a membrane aeree**
Ester Rosa, Antonio Comite & Mirca Zotti
- 15:45-16:00** **Funghi per risanare sedimenti portuali contaminati**
Grazia Cecchi, Simone Di Piazza, Giuseppe Greco, Laura Cutroneo, Marco Capello & Mirca Zotti
- 16:00-16:30** **Coffee break**
- Sessione: Micologia applicata**
Moderatori: Prof.ssa Santella Burruano & Prof.ssa Mirca Zotti
- 16:30-16:45** **Studio dell'attività di microfunghi su substrati lignocellulosici**
Daccò Chiara & Faè Matteo
- 16:45-17:00** **The biodiversity and biotechnological potential of sponges derived fungi**
Elena Bovio, Anna Poli, Laura Garzoli, Anna Lugini, Pietro Villa, Rosario Musumeci, Clementina Elvezia Cocuzza, Giorgio Gribaudo, Claire Hellio, Mohamed Mehiri & Giovanna Cristina Varese
- 17:00-17:15** **Ultra-congelamento del micelio e coltivazione del fungo medicinale *Ganoderma lucidum***
Federico Puliga, Pamela Leonardi, Mirco Iotti, Federica Piattoni & Alessandra Zambonelli
- 17:15-17:30** **Caratterizzazione preliminare di specie di *Hericium* raccolte in Toscana**
Valentina Cesaroni, Annarosa Bernicchia, Maura Brusoni, Federica Corana, Carlo Maria Cusaro, Carolina Girometta, Maria Lidia Guglielminetti, Barbara Mannucci, Hirokazu Kawagishi, Claudia Perini, Anna Maria Picco, Paola Rossi, Elena Salerni & Elena Savino
- 17:30-17:45** **I funghi nella micologia forense: il caso del cadavere mummificato**
Simone Di Piazza, Grazia Cecchi, Giuseppe Greco, Francesco Ventura & Mirca Zotti
- 18:30** **Visita guidata e aperitivo presso Accademia dei Fisiocritici**
Piazzetta Silvio Gigli, 2, Siena
- 20:30** **Cena sociale presso il ristorante San Desiderio**
Piazza L. Bonelli, 2, Siena

Venerdì 07 Settembre 2018

09:15 Inizio dei lavori

Sessione: Tartufi *et al.*,

Moderatori: Prof.ssa Antonietta Mello & Prof. T. Linaldeddu

09:15-09:30 **Effetto delle nanoparticelle esopolisaccaridiche di ferro su *Tuber borchii***
Pamela Leonardi, Franco Baldi, Laura Chiarantini, Antonella Amicucci, Livia Vittori Antisari, Mirco Iotti, Filippo Piana & Alessandra Zambonelli

09:30-09:45 **Assessing the variability of mycorrhization rate in relation to the number of sampled plants in five *T. melanosporum* truffle orchards of Central Italy**
Leonardo Baciarelli Falini, Giorgio Marozzi, Andrea Onofri, Gian Maria Niccolò Benucci, Emidio Albertini & Domizia Donnini

09:45-10:00 **Indagini su fattori condizionanti diffusione e produzione di *Tuber* in terreni agricoli riconvertiti in impianto forestale**
Anna Maria Meoni, Giuseppe Fabrini, Paola Imola & Naldo Anselmi

10:00-10:15 **Incidenza di *Armillaria* spp. in ecosistemi agrari, forestali ed ornamentali della Regione Lazio.**
Anselmi Naldo, Saraceni Alessandro, Lombi Vanessa & Anselmi Andrea

10:15-10:30 **Effetti della biofumigazione sulle comunità batteriche e fungine del suolo**
Carolina Chiellini, Stefano Mocali, Silvia Landi, Giada d'Errico, Alessandro Infantino & Luca Lazzeri

10:30-11:00 **Coffee break**

Sessione: Patologia vegetale

Moderatori: Prof.ssa Antonella Amicucci & Prof.ssa Domizia Donnini

11:00-11:15 **Il caso del bosso, della piralide e del fungo**
Mirca Zotti, Grazia Cecchi, Simone Di Piazza, Davide Badano & Mauro Mariotti

11:15-11:30 **Specie fungine associate agli attacchi di *Coraebus florentinus* (Herbst): xilofago emergente nei boschi di querce mediterranee**
Claudia Pinna, Vitale Deiana, Andrea Lentini, Lucia Maddau, Lucio Montecchio & Benedetto T. Linaldeddu

11:30-11:45 **Patogeni fungini associati al disseccamento del frassino maggiore nell'Italia nord-orientale**
Benedetto T. Linaldeddu, Genny Fanchin, Francesco Bottecchia, Lucia Maddau & Lucio Montecchio

11:45-12:00 **The nematode trapping fungi of tomato plants' rhizosphere from Cameroon**
Marie Daniele Ngongang, Paola Staffiere, Solveig Tosi & Fabrice Fekam Boyon

12:00-12:15 **Osservazioni preliminari sull'interazione fra *Fusarium solani*, *Neofusicoccum batangarum* ed *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., 1768**
Santella Burruano, Selene Giambra, Giorgio Gusella, Gaetano Conigliaro & Giuseppe Surico

12:15-12:30 **Ruolo di *Gnomoniopsis castaneae* nei castagneti della Sardegna**
Salvatore Seddaiu, Anna Cerboneschi, Clizia Sechi & Antonietta Mello

- 12:30-12:45** **Effetto di *Aureobasidium pullulans* sugli agenti di muffa verde di *Pleurotus ostreatus***
Roberta Roberti, Alessandra Di Francesco & Gloria Innocenti
- 12:45-13:00** **Effetto di prochloraz sulla muffa verde di *Pleurotus ostreatus*: prova *in vivo***
Gloria Innocenti, Matteo Montanari, Hillary Righini & Roberta Roberti
- 13:00-14:00** **Pranzo di lavoro**
- 14:00** **Registrazione dei partecipanti al Seminario SelPiBioLife**

“GLI EFFETTI DELLA SELVICOLTURA SULLA BIODIVERSITA’ DEL SUOLO”

Moderatori: Prof.ssa Alessandra Zambonelli, Dr. Paolo Cantiani & Dr. Stefano Mocali
- 14:45-15:30** **Plenary Lecture: Effect of forest management on fungal diversity and productivity in Mediterranean forest ecosystems**
Sergio De Miguel
- 15:30-16:00** **Coffee break**
- 16:00-16:15** **Il Progetto SelPiBio Life: obiettivi ed azioni**
Isabella De Meo
- 16:15-16:30** **Il trattamento selvicolturale proposto per accrescere la biodiversità nelle pinete di *Pinus nigra***
Paolo Cantiani
- 16:30-16:45** **Gli effetti della selvicoltura sulla biodiversità del suolo: la componente floristica**
Elisa Bianchetto
- 16:45-17:00** **Gli effetti della selvicoltura sulla biodiversità “invisibile”: i microorganismi del suolo**
Stefano Mocali
- 17:00-17:15** **Gli effetti della selvicoltura sulla biodiversità del suolo: la mesofauna del suolo**
Silvia Landi
- 17:15-17:30** **Gli effetti della selvicoltura sulla biodiversità del suolo: la componente micologica**
Elena Salerni
- 17:30-17:45** **Teamwork makes the dream work: disentangling cross-taxon congruence across soil biota in *Pinus nigra* plantations**
Debora Barbato
- 18: 00** **Chiusura del convegno UMI & Seminario SelPiBioLife**

Sabato 08 Settembre 2018

09: 00 Ritrovo e partenza per Vivo d'Orcia

La località dell'escursione verrà raggiunta con i mezzi propri
Il ritrovo sarà presso il parcheggio scambiatore di Porta Tufi

10:30 Visita alle aree dimostrative e di monitoraggio - SelPiBioLife

13:00 Pranzo presso il Ristorante Pizzeria "Flora"

Via IV Novembre, 22, Vivo d'Orcia, Castiglione D'Orcia SI



XXII Convegno Nazionale di Micologia

Siena

06-08 settembre 2018

Unione Micologica Italiana (UMI)

Dipartimento di Scienze della Vita, Università degli Studi di Siena

ABSTRACT

The good, the bad and the ugly. The story of *Cortinarius* spp.

Antonella Amicucci¹, Claudio Rossi³, Laura Giamperi², Francesca Belcuore¹, Bálint Dima⁴, Anahi Elena Ada Bucchini²

¹Department of Biomolecular Sciences, University of Urbino, Via Saffi 2, 61029 Urbino, Italy; ²Department of Biomolecular Sciences-Botanic Garden Center, University of Urbino, Via Bramante 28, 61029 Urbino, Italy; ³Mycological Association of Bresadola, Via Volta, 46, 38123 Trento, Italy, ⁴ Department of Plant Anatomy, Institute of Biology, Eötvös Loránd University, Pázmány Péter sétány 1/C, H-1117 Budapest, Hungary - Department of Biosciences (Plant Biology), Viikki Plant Science Centre, University of Helsinki, P.O. Box 65, FI-00014 Helsinki, Finland

Cortinarius species are peculiar ectomycorrhizal fungi associated with different trees and shrubs, such as the order Fagales and families Pinaceae and Salicaceae. *Cortinarius* is one of the most species rich genus widespread in the world. Although many studies have been carried out, the taxonomic organization is still confused; moreover, other molecular aspects of this fungus are also little known. In the present study, *Cortinarius* species found in the Alps and in the Marche Appenines-were analysed through sequencing of the amplified ITS region with the aim of widening knowledge on this genus and providing important information for accurate taxonomic reassessment.

In addition, the polyphenolic content and the antioxidant activity of the ethanol extract of the *Cortinarius glaucopus* Schaeff.: Fr, one of the most common species (edible but not yet on the official list of edible fungi and not much appreciated) was analyzed by biochemical studies.

All experiments were carried out on both fresh samples and samples of personal collections or public herbaria. All the samples received were subjected to morphological and microscopic observations and sequence analysis of the ITS region.

The morphological and microscopic characterization of old herbarium specimens was based on original diagnosis, while the fresh samples were described by expert mycologists.

The DNA sequences obtained by the ITS amplicons of all the samples were compared with Databases sequences by BLAST algorithm and phylogenetic analyses was performed.

The analysis of the sequences allowed characterizing some species, not clearly distinguishable with only the description of the morphological characters. Moreover, some species identification parameters used in the current taxonomy of *Cortinarius* spp were proved unsuitable confirming that the morphological identification alone is not sufficient. Moreover, this demonstrates the importance of an integrated molecular analysis in order to recognize the various species and their real diversity.

Finally, given the increasing interest in the nutraceutical content of (many) mushrooms we have evaluated the antioxidant activity of *C. glaucopus*; specifically, the presence of polyphenols and the antioxidant activity of the ethanol extract of the *C. glaucopus* have been evaluated. This investigation is based on the initial preparation of alcohol extracts and their subsequent analysis of the total content of polyphenols.

The preliminary results obtained from biochemical investigations revealed a significant antioxidant activity of *C. glaucopus* harvested in Italy. Such evidence could give this mushroom a value in the pharmacological-nutritional field.

Studio sulla diversità genetica delle morchelle in Italia

Carmelo Gianchino¹, Martin Snabl², Urbano Guidori², Marco Leonardi¹, Pamela Leonardi³, Giovanni Pacioni¹, Alessandra Zambonelli³, Mirco Iotti¹

¹ Dipartimento di Medicina clinica, sanità pubblica, scienze della vita e dell'ambiente, Università dell'Aquila, L'Aquila,

² Unione Micologica Italiana, Bologna, IT, ³ Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Università degli Studi di Bologna, IT

Le morchelle sono funghi appartenenti alla famiglia delle Morchellaceae, volgarmente note col nome di "spugnole". Tra i funghi eduli, il commercio di morchelle è in forte espansione a livello mondiale. Nel corso degli anni 90, sono stati depositati diversi brevetti per la coltivazione delle morchelle ma a causa della bassa sostenibilità economica dei processi produttivi la coltivazione su larga scala non ha avuto il successo sperato. Recentemente, alcuni gruppi di ricerca cinesi hanno sviluppato metodologie per coltivare le spugnole in pieno campo, ma i dettagli sul processo produttivo sono sconosciuti. In Italia il consumo di morchelle ha una dimensione prevalentemente locale e relegato esclusivamente alla raccolta in natura e senza un mercato diffuso su tutto il territorio nazionale. Lo stato attuale della diversità genetica di questi funghi nel territorio italiano è quasi del tutto sconosciuto così come molti aspetti della loro biologia, ecologia e riproduzione.

All'interno del genere *Morchella* la differenziazione delle specie sulla base dei caratteri morfologici è controversa data l'elevata plasticità fenotipica che caratterizza questi funghi. L'applicazione del barcoding molecolare ha rivoluzionato la classificazione tassonomica di questo genere e, attualmente, sono state identificate circa 65 specie, la maggior parte delle quali sono caratterizzate da un accentuato endemismo continentale. Nonostante il crescente numero di studi filogenetici riguardanti il genere *Morchella*, solo 3 campioni di provenienza italiana (tutti raccolti in zone alpine e pre-alpine) sono stati caratterizzati molecularmente.

Questo studio preliminare si propone di valutare la diversità genetica delle specie di *Morchella* nel territorio nazionale, analizzando campioni provenienti da diversi habitat e aree geografiche. Sono state collezionate più di 60 ascomi raccolti da zone del centro e nord Italia e da ambienti costieri, alpini ed appenninici (da 2 a 1750 m slm). La caratterizzazione genetica è stata eseguita mediante sequenziamento delle regioni ITS del rDNA e di frammenti dei geni MAT1.1.1 e MAT1.2.1.

Fra gli ascomi raccolti sono state identificate sia specie appartenenti al gruppo Esculenta (*M. vulgaris*, *M. esculenta* e *M. americana*) sia specie del gruppo Elata (*M. importuna*, *M. purpurascens*). Dagli ascomi raccolti sono state isolate circa 130 colture pure sia dalla carne del gambo sia dalle singole spore. Questo primo screening genetico delle morchelle potrebbe mettere le basi per la selezione di ceppi produttivi di origine italiana e, nel contempo, contribuire alla protezione della diversità naturale alleviando le pressioni sugli ambienti naturali ed evitando una possibile erosione genetica. Inoltre, questo studio rappresenta un punto di partenza per completare le conoscenze sull'ecologia e la biologia delle morchelle presenti in Italia.

Incidenza di *Armillaria* spp. in ecosistemi agrari, forestali ed ornamentali della Regione Lazio.

Naldo Anselmi ¹, Alessandro Saraceni ¹, Vanessa Lombi ², Andrea Anselmi ³

¹ Department of Innovation in Biological, Agro-food and Forest systems (DIBAF) University of Tuscia, Via S. Camillo De Lelli, snc., 01100 Viterbo. ² Istituto Tecnico Agrario “Leopoldo II Di Lorena”, Via Dei Barberi, 58100 Grosseto. ³ Istituto Tecnico Agrario “Dionisio Anzilotti”, Viale Ricciano, 5, 51017 Pescia, Pistoia.

Mentre in passato l'incidenza di *Armillaria* species sulle piante agro-forestali del nostro Paese fu in genere collegata a ristagni idrici nel suolo, negli ultimi decenni essa è stata sempre più segnalata anche in ambienti piuttosto aridi (1,3). Al fine di apportare chiarimenti su questi aspetti, in questa nota si riferisce sui risultati relativi ad una serie di indagini condotte nell'ultimo decennio nel Lazio, volte a rilevare la presenza delle varie specie del fungo nei vari ecosistemi agrari, forestali ed ornamentali della regione. Considerando zone diverse, dal livello del mare alle aree montane, le indagini sono state rivolte a piante arboree e arbustive che presentavano sintomi di deperienza, conducendo osservazioni sulle parti prossimali delle grosse radici e sulla parte basale del fusto, nonché saltuariamente sulle micorrize. In caso di riscontro del fungo, oltre ad analizzare i dati termo-pluviometrici all'uopo eventualmente reperiti, per ogni sito venivano annotati: specie, età e sviluppo delle piante colpite, grado del loro eventuale deperimento valutato sulla base della percentuale di ingiallimento e/o seccumi alla chioma, caratteristiche della stazione (altitudine, orografia, ecc.), natura del suolo, presenza di ristagni idrici, attacchi di altri parassiti. L'identificazione della specie di *Armillaria* veniva effettuata sulla base delle rizomorfe e dei carpofori e, in caso di forti dubbi, attraverso osservazioni sull'aspetto delle colonie opportunamente fatte sviluppare in piastre Petri (3). Nel complesso sono state esaminati intorno a 1500 siti, con nuclei o piante singole apparentemente a rischio, appartenenti ad una cinquantina di specie arboree e arbustive agro-forestali diverse. Su circa un terzo di questi siti è stata riscontrata presenza di *Armillaria*, nelle quattro seguenti specie diverse: *Armillaria mellea*, *Armillaria gallica* (= *A. bulbosa*), *Armillaria ostoyae* ed *Armillaria tabescens*. Di queste, *A. ostoyae* è risultata la meno diffusa (17 siti), riscontrata solo su conifere, ed in particolare in alcuni boschi di *Abies alba* e, soprattutto, di *Pinus*, prevalentemente *P. nigra*, ad altitudini superiore a m 700 slm. su cui, pur colpendo spesso piante in forte competizione tra loro, ha dimostrato un discreto carattere parassitario. Più frequenti *A. gallica* (22 siti) ed *A. tabescens* (66 siti), ma con carattere preminentemente saprofitario, esclusivamente su piante di leccio o querce in genere, in piante morenti per fenomeni di deperimento innescato da prolungate e ripetute siccità estive. Gli attacchi più numerosi sono risultati tuttavia da ascrivere ad *Armillaria mellea*, sia su arboreti agrari, sia su piante forestali, in foresta o piantagioni artificiali, in orti, in giardini o in alberate ornamentali, spesso come parassita da debolezza, ma anche con evidente capacità patogenica, soprattutto in caso di forte pressione di inoculo. Le infezioni in vigneti, frutteti ed oliveti ben coltivati sono risultate rare, in genere connesse a persistenti ristagni idrici del suolo; esse invece sono apparsi più frequenti in impianti vecchi od abbandonati, con ridotta reattività delle piante. Gli attacchi del fungo su piante forestale ed ornamentali è apparso correlata a più articolati fattori predisponenti, tra i quali si ricordano: forte pressione di inoculo, per vecchie ceppaie infette, in particolari su impianti artificiali in successione ad altri o costituiti su ex- frutteti o ex-vigneti senza rimuovere le ceppaie; senescenza delle piante; consociazioni di specie che soffrono gli eccessi idrici, quali *Quercus ilex*, *Cedrus* e *Pinus*, ecc., con colture molto irrigate, quali orti o prati ornamentali; presenza di altri parassiti, causa di indebolimento e/o deperimento delle piante, come *Graphium* su *Ulmus*, *Tomicus* su *Pinus*, *Cydalima* su *Buxus*, *Cytospora* su *Carpinus*, *Cryptosphaeria* su *Populus* in short rotation, ecc.; fenomeni di deperimento delle piante per stress da prolungate e ripetute siccità estive, sia in piantagioni da legno (*Populus*, *Salix*, *Prunus avium*, *Juglans*, *Fraxinus*, *Acer*), sia soprattutto in foresta (es. querceti), esaltati nei terreni aridi, su piante stramature od in forte competizione tra loro. Negli ultimi anni si ricordano in proposito le forti siccità estive 2001, 2003, 2007-2008 e 2012, culminate con quella eccezionale del 2017, che sembrerebbe aver scatenato diffuse recrudescenze del patogeno. Questo infatti, endemico ovunque, durante i periodi piovosi raggiunge con le rizomorfe le varie piante, apparentemente innocuo, per scatenarsi su quelle rese meno reattive dai forti suddetti stress, probabilmente anche per una forte mortificazione delle micorrize.

- 1) N. Anselmi, F. Lanata, 1989. Distribuzione e comportamento delle specie di *Armillaria* riscontrate nell'Italia settentrionale. Micol. Ital., 3, 67-70.
- 2) N. Anselmi, F. Lanata, G. Sanguinetti, 1990. Research on the techniques of identification of *Armillaria* species. 8th Congress Mediterranean Phytopathological Union, 34-37.
- 3) J.J. Guillaumin, C. Mohammed, N. Anselmi, etc., 1993. Geographical distribution and ecology of the *Armillaria* species in western Europe. Eur. J. For. Path., 23, 321-341.

***Fomitopsis officinalis* sulle Alpi italiane: considerazioni e dati preliminari sull'incerto status di un'antica risorsa**

Carolina Girometta¹, Laura Rovelli¹, Lara Mariastella Ronconi¹, Francesca Brescia¹, Ivano De Negri², Rebecca Michela Baiguera¹, Anna Maria Picco¹ & Elena Savino¹

¹ Dipartimento di Scienze della Terra e dell'Ambiente (DSTA), Università degli Studi di Pavia, via Sant'Epifanio 14, 27100, Pavia; ²Ente di Gestione delle Aree Protette dell'Ossola, viale Pieri 27, 28868, Varzo (VCO)

Fomitopsis officinalis (Batsch) Bondartsev & Singer (Fomitopsidaceae, Polyporales) è una specie a distribuzione oloartica strettamente legata al genere *Larix*, dove provoca carie bruna molto lenta. I basidiomi, pluriennali, raggiungono anche diversi decimetri e sono stati impiegati fin dai tempi più antichi dalla medicina tradizionale in diverse parti del mondo (Urali, Cina, Alpi, Nord America) contro numerosi disturbi, soprattutto legati all'apparato respiratorio, come citato anche dal proto-farmacologo greco Dioscoride nel I secolo a.C. [1]. Oggigiorno è stato in effetti dimostrato che *F. officinalis* contiene diverse molecole, prevalentemente cumarine clorurate e acido agaricinico, attive contro ceppi di *Mycobacterium tuberculosis*, vari batteri Gram-negativi, virus Herpes, ceppi di H5N1 ed H3N2, Poxviridae e Orthopox virus [2-4].

Quando all'inizio del XX secolo la nascente industria farmaceutica europea decise di sfruttare *F. officinalis*, le popolazioni povere delle Alpi conferirono tanti basidiomi (spontanei) da portare la specie sul limite dell'estinzione nella regione. Benché ridimensionato, è tuttora difficilmente quantificabile l'impatto del prelievo a scopo liquoristico per uso privato e commerciale. La specie è stata inclusa nelle liste rosse di almeno 6 Paesi europei e proposta anche per le liste globali come minacciata o vulnerabile in base ai criteri di popolazione in declino e perdita di habitat [5]. Come dimostra il successo delle politiche specifiche di protezione attuate per esempio dalla Svizzera [6], *F. officinalis* è una specie demograficamente resiliente purché sia tutelata la sua ristretta nicchia trofica (vecchi larici) e si limiti al massimo il prelievo di basidiomi. Obiettivi del presente lavoro sono stati: a) mappatura delle stazioni di fruttificazione in alcune aree protette o ad esse limitrofe nelle Alpi Graie, Pennine, Lepontine e Retiche; b) isolamento dei ceppi in coltura pura, conferma molecolare dell'identificazione e caratterizzazione morfologica.

I campionamenti, cominciati nel 2013 ed intensificati in particolare nel 2015 e 2016, hanno reso 48 stazioni di crescita, da cui è stato possibile ottenere 20 ceppi in coltura pura [7] confermati attraverso l'analisi della regione ITS. La caratterizzazione morfologica delle colture ha rivelato, coerentemente con i pur scarsi dati di letteratura, una crescita molto lenta su MEA 2% con presenza di clamidospore e conidi entro le 4 settimane, nonché pigmentazione delle ife sommerse.

I rilievi di campo hanno inequivocabilmente associato le stazioni di crescita ai larici vetusti, sia pure isolati; è importante specificare che si tratta esclusivamente di ospiti vivi i cui sintomi patologici sono probabilmente imputabili solo in parte all'azione di *F. officinalis*, con cui possono convivere per molti anni. La rarità di larici vetusti sul territorio ha reso le aree protette un fattore fondamentale per garantire la disponibilità di habitat a *F. officinalis* nel lungo periodo e fornire un serbatoio in grado di sostenerne la resilienza demografica.

Benché non siano disponibili dati pregressi utili ad un confronto, analisi più approfondite e tuttora in corso potranno fare luce sulla diversità genetica tra le popolazioni di aree contigue sui versanti settentrionali e meridionali delle Alpi, nonché sul ruolo della circolazione atmosferica locale nello scambio genetico.

- 1) U. Grienke, M. Zöll, U. Peintner, J.M. Rollinger (2014) *Journal of Ethnopharmacology*, 154(3), 564-583
- 2) M.L. Sidorenko, L.S. Buzoleva (2012) *Antibiotiki i khimioterapija*, 57(5-6), 7-10
- 3) C.H. Hwang et al. (2013) *Journal of Natural products*, 76(10), 1916-1922
- 4) T.V. Teplyakova, N.V. Psurtseva, T.A. Kosogova, N.A. Mazurkova, V.A. Khanin, V.A. Vlasenko (2012) *Int. Journ. Medicinal mushrooms*, 14(1), 37-45.
- 5) <http://iucn.ekoo.se>
- 6) Senn-Irlet, B. (2012) www.wsl.ch/notice_champignons Birmensdorf, Institut fédéral de recherches WSL. 2 p.
- 7) E. Savino, C. Girometta, S. Chinaglia, M.L. Guglielminetti, M. Rodolfi, A. Bernicchia, C. Perini, E. Salerni, A.M. Picco (2014). In *Proceedings of the 8th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products (ICMBMP8)*, World Society of Mushroom Products, 50-54.

L'importanza dei siti di elevato interesse conservazionistico per la valutazione delle specie da inserire nelle red-lists IUCN: l'esempio della Riserva Naturale Orientata Biogenetica di Campolino

Daniele Antonini¹, Massimo Antonini¹, Claudia Perini², Elena Salerni², Chiara Bellari³

¹Associazione Micologica Agaricwatching, Via Ferrucci 626, 51036 Larciano (PT), Italia; ²Dipartimento Scienze della Vita, Università di Siena, Via P.A. Mattioli 4, 53100 Siena, Italia; ³Carabinieri-Forestali, Reparto Carabinieri Biodiversità Pistoia, Via del Carmine 8, 51100 Pistoia, Italia.

La Riserva Naturale Orientata Biogenetica di Campolino (Abetone-Cutigliano, Pistoia) occupa una superficie di 98 ettari, collocata nell'alta Valle del Sestaione, tra i 1440 e i 1800 m s.l.m. La Riserva ospita una popolazione autoctona di *Picea abies*, estesa per ca. 35 ettari, e diversi ecosistemi di notevole interesse conservazionistico come alcune torbiere a sfagni. Oltre venti anni di indagini micologiche hanno permesso l'individuazione di siti di eccezionale rilievo scientifico per la presenza di specie tipiche di ambienti articoalpini estremamente rare e localizzate nell'arco appenninico¹. Nella Lista Rossa dei macromiceti della Toscana², ben 150 specie delle 472 segnalate per tutto il territorio regionale crescono a Campolino. Ulteriori indagini hanno evidenziato siti in cui è stata riscontrata una presenza più significativa di queste specie, come la torbiera a sfagni presso Lago Greppo (1442 m), la sfagneta e i ruscellamenti con briofite delle Lamacce (1550-1600 m), diversi micro-siti nel *Piceetum* autoctono (1650-1750 m) e nelle praterie primarie acidofitiche di crinale e sommitali. L'Unione Internazionale per la Conservazione della Natura (IUCN) stabilisce i criteri per l'assegnazione di una specie nelle Red-list, raccomandando specifiche norme di protezione agli Enti Governativi; tuttavia in buona parte del territorio italiano non esistono ancora decreti specifici di tutela per le specie fungine. Conseguentemente, in mancanza di norme di tutela, buona parte dei monitoraggi sulle popolazioni di specie a rischio è condizionata dal massiccio impatto antropico. In questo caso la Riserva di Campolino, essendo un'area interdotta al pubblico e alla raccolta di qualsiasi specie, offre notevoli opportunità di ricerca sulla naturale evoluzione delle popolazioni di specie vulnerabili. In conformità alle linee guida dettate dall'IUCN³, che stabiliscono un range di osservazioni di almeno dieci anni, abbiamo individuato specie target, principalmente appartenenti ai generi *Cortinarius*, *Galerina*, *Russula*, *Lactarius*, *Hygrocybe* e *Hygrophorus*, con periodi variabili tra 10 e 20 anni di monitoraggio in altrettanti siti target. I dati ottenuti confermano un comportamento fenologico e quantitativo delle popolazioni target indagate più regolare rispetto ad ambienti analoghi presenti in siti appenninici non integralmente protetti, con fruttificazioni spesso vincolate più all'aspetto climatologico, in primis precipitazioni estive e nevose, rispetto ai fattori strettamente antropici presenti altrove; fatta eccezione per il preoccupante insediamento di parassiti alieni e dei danni procurati dagli ungulati (torbiere). Siti di analoga importanza, quali torbiere e ruscellamenti a sfagni, presenti nell'adiacente Val di Luce, a causa di un forte impatto antropico, hanno visto ridursi considerevolmente il proprio areale e la relativa diversità micologica. I siti individuati all'interno della Riserva di Campolino seguono invece un percorso evolutivo di maggiore naturalità in rapporto alla flora micologica strettamente associata, con indicazioni quantitative sulla fruttificazione delle popolazioni significativamente più attendibili. I risultati ottenuti indicano quanto lo studio dei siti con più specie vulnerabili associate possa dimostrarsi determinante per una più corretta valutazione dei criteri di assegnazione delle categorie IUCN, garantendo stime precise e dettagliate, fornendo ulteriori indicazioni per l'attuazione di strategie di conservazione a livello speciografico e di habitat. La frammentarietà estrema di queste subpopolazioni relitte, intese sia come siti sia come specie, in confronto al loro effettivo areale di distribuzione, tipico della fascia alpina e artico-alpina, rende questi habitat particolarmente preziosi e dalla incerta sopravvivenza, auspicandone ulteriori e sempre più approfonditi studi finalizzati all'inserimento di tutte le specie fungine presenti nelle red-list regionali IUCN e dei relativi habitat nelle red-list IUCN degli ecosistemi a rischio di estinzione⁴.

- 1) C. Bellari, D. Antonini, M. Antonini (2012): I Funghi della R.N.O.B. di Campolino. Ministero Politiche Agricole, Corpo Forestale dello Stato, 64 pp.
- 2) D. Antonini, M. Antonini (2006): Libro Rosso dei Macromiceti della Toscana. Regione Toscana-ARSIA, 350 pp.
- 3) IUCN (2017): IUCN Standards and Petitions Subcommittee. 2017. Guidelines for Using the IUCN Red List Categories and Criteria. Version 13. Prepared by the Standards and Petitions Subcommittee. <http://iucnredlist.org/documents/RedListGuidelines.pdf>.
- 4) IUCN (2016). An Introduction to the IUCN Red List of Ecosystems: The Categories and Criteria for Assessing Risks to Ecosystems. Gland, Switzerland: IUCN. vi + 14pp.

Contributo ad una check list dei Basidiomiceti della provincia di Grosseto

Diego Cantini¹, Marco Clericuzio², Elena Salerni¹, Claudia Perini¹

¹ Università degli studi di Siena, Dipartimento di Scienze della Vita, via P.A. Mattioli 4, 53100 Siena; ² Università degli Studi del Piemonte Orientale, Dipartimento di Scienze ed Innovazione Tecnologica, viale Teresa Michel 11, 15121 Alessandria

La provincia di Grosseto si estende dalla fascia costiera tirrenica, passando attraverso le pianure maremmane, alle Colline Metallifere ed al Monte Amiata, per un'estensione di circa 4500 km². Il territorio risulta prevalentemente collinare, con importanti promontori prospicienti il mare come quelli dell'Argentario e dei Monti dell'Uccellina ed aree umide di particolare pregio come la Diaccia-Botrona ed il Lago di Burano. Per quanto riguarda l'Arcipelago Toscano, solo poche isole e isolotti ricadono nel territorio provinciale, tra le quali la maggiore è l'Isola del Giglio. Vari sono gli ambienti naturali che si incontrano e altrettanto varia è la flora che spazia dal pino marittimo all'abete bianco, dal leccio e sughera al faggio, limitandosi alle essenze arboree. E' questo uno dei motivi per cui la provincia di Grosseto risulta una delle più tutelate sul territorio nazionale sotto il profilo ambientale e paesaggistico.

Non sorprende dunque che la biodiversità fungina del territorio sia ampia e di particolare pregio.

A partire dagli anni '80 del secolo scorso, il territorio grossetano è stato meta di escursioni o di ricerche più approfondite, effettuate da singoli esperti o da gruppi di studio. La conoscenza del micobiota presente nei vari ambienti comunque risulta ancora frammentaria e da qui nasce l'esigenza di reperire nuove informazioni e di riunire tutti i dati in un unico archivio informatizzato.

Questo nostro studio si è focalizzato sul solo phylum *Basidiomycota*. Ad oggi, attingendo ai dati in nostro possesso e consultando un'ampia gamma di pubblicazioni riguardanti la provincia, sono state reperite 1535 specie di Basidiomiceti, distribuite in 319 Generi ed 82 Famiglie, afferenti alle 5 Classi in cui questi risultano attualmente suddivisi.

Tra le tante specie ve ne sono alcune ritenute rare o rarissime in Italia ed in Europa, ed alcune di queste fanno parte delle Red List di vari paesi europei. Una in particolare, *Myriostoma coliforme* (Dicks.) Corda è tra le candidate ufficiali per l'inserimento nell'Appendice I della Convenzione di Berna e nella Red List dell'IUCN. A questo proposito, vista la recente revisione tassonomica [1] a cui il Genere *Myriostoma* Desv. è stato sottoposto, la quale ha portato al riconoscimento di 4 specie a livello mondiale, si è resa necessaria un'accurata analisi morfologica e molecolare di tutti i campioni raccolti per accertare la reale identità dei reperti.

Alcune specie sono state descritte in tempi recenti proprio sulla base di materiale proveniente dal territorio provinciale. Tra queste, *Tephrocybella constrictospora* Clericuzio, Dovana & Vizzini è stata pubblicata pochi mesi fa [2].

Questa considerevole mole di specie proviene dai più vari habitat naturali e seminaturali presenti nella zona (alcune sono state reperite anche in ambienti urbani), ed in modo più o meno consistente da ogni Comune della provincia, anche se solo alcuni di questi sono stati esplorati approfonditamente. In particolare, la nostra attività di ricerca si è svolta all'interno di aree protette, come quelle dell'Oasi WWF di Bosco Rocconi, nella Riserva Naturale del Lago di Burano, nel Parco Regionale dell'Uccellina, nel Parco Naturale Interprovinciale di Montioni e qui in particolare nella Riserva Naturale Integrale di Poggio Tre Cancelli.

Dunque la ricerca non può certo ritenersi conclusa: come spesso accade varie zone risultano a tutt'oggi pressoché sconosciute dal punto di vista micologico e solo alcuni ambienti sono stati indagati in dettaglio.

La realizzazione di una check list per la provincia di Grosseto potrebbe servire come base per futuri studi più approfonditi sulla biodiversità fungina di questo splendido territorio.

- 1) Sousa J.O., Suz L.M., García M.A., Alfredo D.S., Conrado L.M., Marinho P., Ainsworth A.M., Baseia I.G., Martín M.P. (2017) PLoS ONE 12 (6): e0177873
- 2) Clericuzio M, Dovana F., Vizzini A. in Hyde et al. (2017) Fungal Diversity 87: 190

Wood-inhabiting fungi on logs of *Pinus pinaster*: an ecological and conservationist point of view.

Ángel Ponce¹, Maria Nives D'Aguanno², Debora Barbato², Marco Landi³, Carlo Saveri³, Elena Salerni², Claudia Perini²

¹Departament de Biologia Animal, de Biologia Vegetal i d'Ecologia Edifici C Facultat de Biociències 08193 Bellaterra (Barcelona), ² Dipartimento di Scienze della vita, Università di Siena, Via Mattioli 4, I-53100 Siena, ³Raggruppamento Carabinieri Ufficio Territoriale Biodiversità, Via Cassia Nord, 7, 53100 Siena

Forest management is one of the most ancient way mankind has ever had to shape nature. It is one of the disciplines that is gaining strength with the advance of science, because several factors that condition and affect forest ecosystem are being discovered. For long time a necessary action for a “correct” forest management has been? the removing of dead wood from forests. On the other hand, in recent years the attention to deadwood and its role in ecosystems increased.

Involved in carbon storage and regulation of nutrient cycling, in hydrologic processes, and in the provision of habitat for many groups of organisms, deadwood finally was included among the indicators for a sustainable forest management (MCPFE, 2004).

Among the organisms that have greater weight in the correct functioning of a forest, fungi and in this context the wood-inhabiting as decomposers, play an essential role in forest ecosystem.

Because of the writing of guidelines for a forest management plan (1, 2) and for a doctoral research (3), many data have been gathered in pine forests situated in the Natural Biogenetic Reserve of Tocchi (Siena, Italy). In particular, for 10 permanent plots, information on environmental variables, vegetation and forest structure, amount and type of dead wood, as well as the complete list of fungal species growing on woody debris were obtained. Concerning fungi, *Basidiomycetes* with smooth to odontoid hymenophore on a soft, resupinate fruitbody (the group of Corticoid fungi), with a hymenophore in the shape of tubes (the group of *Polypores*) or gilled (*Agaricales*), with gelatinous fruiting body (“jelly fungi”) were taken into account. In D'Aguanno et al. (4) some first results were published.

The main aim of this contribution is to analyze from an ecological and conservationist point of view the great dataset in order to evaluate if there are relationships between species richness and composition and deadwood characteristics, and to study how a group of environmental variables shape and influence the action of this kind of fungi in a *Pinus pinaster* forest.

- 1) Saveri C. (Promotore), 2014 - Piano di gestione naturalistico della riserva naturale di Tocchi: periodo di applicazione 2015-2025: 58pp.
- 2) Saveri C. (A cura di), 2016 – La riserva naturale biogenetica di Tocchi. CFS/UTB Siena: 256pp.
- 3) D'Aguanno M.N., 2014-2015 – Wood-inhabiting fungi in Mediterranean forests: biodiversity, ecology and phylogeny. Doctoral Research programme in Life Sciences, XXVII cycle. Thesis: 106pp.
- 4) D'Aguanno M.N. et al., 2016 - Analysis of diversity of wood-inhabiting fungi retrieved from a Mediterranean forest dominated by *Pinus pinaster* Aiton. Italian Journal of Mycology vol. 45 (2016) DOI: 10.6092/issn.2531-7342/6072.

Microfunghi saprotrofi del suolo isolati da siti contaminati da HCH e DDT: valutazione della tolleranza e stress ossidativo

Fabiana Russo¹, Andrea Ceci¹, Antonietta Siciliano², Marco Guida², Miroslav Černík³, Eligio Malusà⁴, Małgorzata Tartanus⁴, Anna Maria Persiani¹

¹ Department of Environmental Biology Sapienza University of Rome, Piazzale Aldo Moro 5, 00185 Roma, Italy; ² Department of Biology, University of Naples Federico II, Via Cinthia, 80126 Naples, Italy; ³ Institute for Nanomaterials, Advanced Technologies and Innovation, Technical University of Liberec, Studentská 1402/2, 461 17 Liberec 1, Czech Republic; ⁴ Research Institute of Horticulture, ul. Pomologiczna 18, 96-100 Skierniewice, Poland

Il dicloro-difenil-tricloroetano (DDT) e l'esaclorocicloesano (HCH), noto anche commercialmente con il nome di lindano, sono stati utilizzati intensamente in tutto il mondo come insetticidi organoclorurati per il controllo di insetti dannosi per l'uomo e le attività agricole (1, 2). Data la loro persistenza, la loro diffusione a grande distanza e il loro accumulo nella catena alimentare, tali composti clorurati, noti come P.O.P. (*Persistent Organic Pollutants*) sono stati messi al bando a livello internazionale ormai da quasi tre decenni (3). Malgrado ciò, i loro isomeri e prodotti di degradazione, ancora presenti nei diversi comparti ambientali, costituiscono un'eredità che pone gravi rischi ambientali a medio e lungo termine (3). Diversi studi hanno dimostrato l'efficacia dell'utilizzo di funghi indigeni nell'ambito del biorisanamento di siti contaminati (4). In questo lavoro presentiamo alcuni risultati delle ricerche svolte nella caratterizzazione biologica di siti da lungo tempo contaminati da DDT e HCH, rispettivamente in Polonia e nella Repubblica Ceca. L'isolamento di microfunghi saprotrofi di questi suoli è stato il primo passo per selezionare i migliori candidati per il biorisanamento. Elevate concentrazioni di isomeri di HCH sono state impiegate per valutare la tolleranza di alcuni taxa fungini isolati dal sito ceco attraverso l'utilizzo di due indici di tolleranza basati sul crescita fungina e sulla produzione di biomassa (Rt/Rc; TI) (Fig. 1). Similmente per la valutazione della tolleranza di alcune specie fungine isolate dal sito polacco sono state impiegate alte concentrazioni di isomeri di DDT (Fig. 1). Test specifici, riguardanti la produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) e di vari enzimi coinvolti nel processo di scavenging dei ROS (superossido dismutasi, catalasi, glutatione-s-transferasi e perossidasi) sono stati effettuati per valutare le risposte allo stress ossidativo causato dall'esposizione ai due composti clorurati per 4 specie fungine, 2 isolate dai suoli polacchi e 2 da quelli cechi (Fig. 2). Tutte le specie fungine testate sono risultate tolleranti alle elevate concentrazioni dei due composti clorurati. Entrambi i composti hanno determinato una significativa produzione di ROS nelle specie fungine studiate, mentre l'attività degli enzimi è risultata essere specie- specifica e dipendente dal tipo di contaminante indagato. I risultati ottenuti hanno fornito un quadro d'insieme utile per ottimizzare l'impiego delle specie fungine indigene studiate in applicazioni integrate, sostenibili ed economicamente vantaggiose nell'ambito del biorisanamento di siti da lungo tempo contaminati da composti clorurati persistenti.

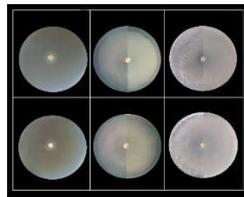


Fig. 1. Tolerance test



Fig. 2. Oxidative stress analysis

- 1) Mansouri, M. Cregut, C. Abbes, M.J. Durand, A. Landoulsi, G. Thouand (2017) *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 181, 309–339
- 2) V. Turusov, V. Rakitsky, L. Tomatis (2002) *Environ. Health Perspect.*, 110, 125–128
- 3) M.A. Ashraf (2017) *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 24, 4223–4227
- 4) Ceci, F. Pinzari, C. Riccardi, O. Maggi, L. Pierro, M. Petrangeli Papini, G.M. Gadd, A.M. Persiani (2018) *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 102, 1019–1033.

Bioremediation of contaminated soil: a strategy based on fungi and bacteria

Federica Spina¹, Giulia Spini², Anna Poli¹, Alice Romagnolo¹, Andrea Zanellati¹, Tiffanie Regnier³, Anne-Laure Bliieux³, Abdelwahad Echairi³, Valeria Prigione¹, Jose Julio Ortega-Calvo⁴, Edoardo Puglisi², Giovanna Cristina Varese¹

¹University of Turin, Turin, Italy; ²Università Cattolica del Sacro Cuore, Piacenza, Italy; ³Satt Grand-EST, Dijon, France; ⁴Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Sevilla, Spain

Soil degradation is a serious issue in the European Union, causing the loss of more than 340,000 areas. LIFE BIOREST (LIFE15 ENV/IT/000396, www.lifebiorest.com) is a UE funded project in the framework of the LIFE Project, aimed to treat a soil contaminated by PHAs, BTEX and alkanes. This site (about 80,000 m² wide) is located in Italy (Fidenza, Emilia Romagna) and has a long history of industrial exploitation. The project aimed to optimize a bioremediation method where the transformation made by consortia of fungi and bacteria is finalized by the final step of re-vegetation. The best performing strains will be used to set up consortia working in microcosms and mesocosms before up-scaling the process at in-situ level (biopiles). The following contaminants were chosen because they represent the soil of interest has some predominant pollutants of the site: benzene as BTEX, naphthalene, phenanthrene and pyrene as PHAs, paraffin oil and heptadecane as alkanes. A solid screening and a liquid enrichment using few selected contaminants (naphthalene, pyrene, phenanthrene, benzene, alkanes and oil extracted from the soil) were carried out to identify the strains with the best adaptation and degradation skills. Despite the strong contamination, microbial communities was consistently developed: more than 220 fungi belonging to 70 species have been identified and more than 140 bacteria. Most of the fungal strains belonged to *Ascomycetes* (mainly to *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium* and *Scedosporium* genera) even though almost 20 Basidiomycetes were also isolated. The bacterial isolates mostly belonged to the Gram negative genera *Pseudomonas*, *Sohingobacterium*, *Pseudoxanthomonas*, *Rhizobium* and *Acinetobacter*. A number of Gram positive *Bacillus* and *Paenibacillus* strains were also found. Phenanthrene and pyrene were the best substrates, easily used as sole carbon source, whereas few fungi were able to grow on the crude oil provided by Fidenza Municipality. Considering the very high content of hydrocarbons and the intrinsic toxicity of this oil that strongly limit the growth capability of microorganisms particular attention will be given to those isolates able instead to grow on it, indicating interesting adaptation features and great metabolic pattern. The actual degradation skills of these strains was validated and compared in an innovative microplate-performed assay. The optimized protocol allowed to screen the capability of hundreds of strains to use pollutants as sole carbon source. Several strains were capable of growing on the pollutants (at 200 ppm and 1% v/v) as much as positive controls with glucose, highlighting their capability to exploit complex source of nourishment as far as simple and bioavailable ones. Particular attention was given to those strains that showed to better grow on pollutants than glucose. Since the bioavailability of organic pollutants in soil is a recognized issue that often limit the efficiency of bioremediation approaches, strains were also screened for their capability to produce biosurfactants. Some fungi were found capable of producing extracellular broths with both emulsifier and biosurfactants activity. The best performing strains were chosen and their degradation skills were challenged in the presence of the polluted soil. Almost 30 fungi and 30 bacteria have been selected; fungi were tested singly and in consortia with selected bacteria in order to evaluate also their capability to grow and colonize the contaminated soil, and ultimately decontaminate it within 3 months treatment. Microcosms and mesocosms trials were carried out, scaling up the treated volume from 500 g to 10 kg. The bioaugmentation approach foresaw the addition of microorganisms as single inoculum or mixed consortia. Noteworthy mixed consortia were faster and more efficient, demonstrating that fungi and bacteria may work in synergism; the combination of their metabolic pathway trigger the wide pollutants degradation. The best consortium has been then applied in a full scale application in the in situ treatment based on controlled biopile. The project aims also to evaluate the role of phytoremediation and a final remediation step after the microbial attack.

Verso un'agricoltura sostenibile: potenzialità dei funghi saprotrofi del suolo nella solubilizzazione del tricalcio fosfato

Veronica Spinelli¹, Andrea Ceci¹, Flavia Pinzari², Fabiana Russo¹, Barbara Felici³, Oriana Maggi¹, Anna Maria Persiani¹

¹Fungal Biodiversity Lab, Department of Environmental Biology, Sapienza University of Rome, Piazzale Aldo Moro, 5, Rome, Italy; ²Italian Council for Agricultural Research and Economics (CREA-AA), Via della Navicella 4, Rome, Italy; ³Italian Council for Agricultural Research and Economics (CREA-GB), Via Ardeatina 546, Rome, Italy.

Il fosforo rappresenta un nutriente fondamentale ed insostituibile per la crescita delle piante. Tuttavia, a causa della sua limitata mobilità nel suolo, nella maggior parte dei suoli agrari esso rappresenta un fattore limitante per la produttività. Sebbene il fosforo negli agroecosistemi venga integrato con l'apporto di fertilizzanti, la gran parte di esso viene rimosso dalla frazione biodisponibile a seguito di fenomeni di immobilizzazione o di lisciviazione. Al contempo la produzione e l'applicazione di fertilizzanti presenta elevati costi ambientali a molteplici scale, spaziali e temporali. Appare quindi chiara la necessità di implementare pratiche agricole sostenibili volte ad incrementare l'efficiente utilizzo delle risorse e a mitigare le minacce ambientali mantenendo un elevato tasso di produttività. In questa ottica, sempre maggior rilievo stanno assumendo gli organismi promotori della crescita delle piante applicabili nella formulazione di *biofertilizer*. Infatti, l'utilizzo di microrganismi (batteri e funghi) dotati della capacità di rendere biodisponibili i fosfati inorganici naturalmente presenti o accumulatisi nel profilo del suolo, a seguito di anni di eccessiva fertilizzazione, ha un potenziale nel sostituire o quantomeno ridurre l'uso dei fertilizzanti fosfatici. I funghi, in particolare, sono efficienti nella solubilizzazione dei fosfati e, in condizioni di laboratorio, si sono dimostrati mediamente superiori ai batteri nello svolgere questo compito.

Lo scopo di questo studio è consistito nel testare 9 specie di funghi saprotrofi, appartenenti ai *phyla* degli zigomiceti, ascomiceti e basidiomiceti, aventi differenti strategie di vita, per studiarne l'efficienza nel solubilizzare il tricalcio fosfato (TCP, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), i meccanismi di solubilizzazione e il loro potenziale nel promuovere efficientemente la crescita della soia. Al fine di stimare la quantità di fosforo solubilizzato dai funghi e la frazione da essi accumulata nelle biomasse, sono state eseguite analisi di tipo colorimetrico e spettrofotometrico (ICP-MS). Le specie testate si sono mostrate tutte in grado di solubilizzare, seppur in diversa misura, il TCP, aumentando la concentrazione del fosforo nel mezzo liquido e nella biomassa del fungo.

Inoltre, la presenza nelle biomasse o sul fondo dei contenitori, di minerali di formazione secondaria è stata valutata mediante SEM/EDXA. Dall'analisi dei minerali precipitati sono emersi diversi *pattern* di precipitazione di P e Ca per le diverse specie. Alla luce di quanto osservato le 9 specie sono state testate con semi di *Glycine max* (soia) in vitro per valutare le interazioni pianta-fungo. Al termine della prova sono state effettuate valutazioni di tipo microscopico ed istologico relativamente alle plantule di soia.

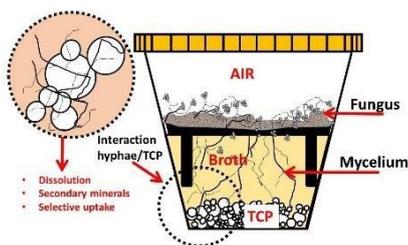


Fig. 1 Rappresentazione schematica del sistema di coltura adottato

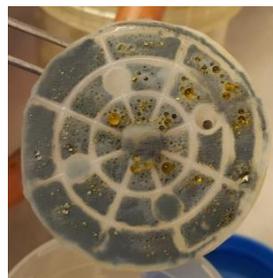


Fig. 2 Micelio di *Penicillium griseofulvum* al termine dei 14 giorni di crescita

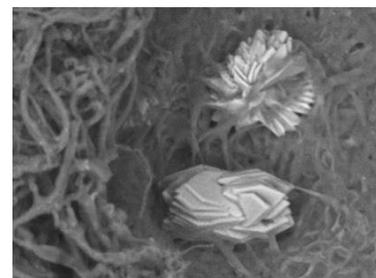


Fig. 3 Ossalati di calcio osservati nella biomassa di *Aspergillus niger*

Studio preliminare su adesione e formazione di micofilm in bioreattori a membrane

areate Ester Rosa^{1,2}, Antonio Comite², Mirca Zotti¹

¹ Dipartimento di Scienze della Terra, dell'Ambiente e della Vita, Università degli Studi di Genova, C.so Europa 26, 16136 Genova; ² Dipartimento di Chimica e Chimica Industriale, Università degli Studi di Genova, Via Dodecaneso 31, 16146 Genova.

Tra le tecnologie *green*, grande importanza sta assumendo la *mycoremediation*, ovvero l'utilizzo dei funghi nel trattamento di matrici inquinate (1). Per quanto riguarda l'applicazione di protocolli di risanamento su matrici di tipo liquido utilizzando organismi aerobi è necessario un adeguato apporto di ossigeno, che può essere raggiunto aumentando la superficie di scambio nell'impianto e immettendo con diverse modalità aria/ossigeno (2). Una nuova tecnologia di bioreattori, definiti bioreattori a membrane aerate (MABR), permette l'aerazione degli impianti utilizzando membrane porose, che fungono sia da superficie di scambio per i gas, sia da base per la crescita del biofilm (Fig.1), consentendo il trasferimento di ossigeno, metano, anidride carbonica o aria in base alle necessità del processo e al metabolismo dei microorganismi utilizzati (3). Per la realizzazione di un MABR non esistono in commercio membrane apposite, pertanto la prima fase della ricerca ha riguardato la selezione di membrane capaci di trasferire ossigeno. Sono state scelte, in base ai risultati ottenuti da prove di ossigenazione dell'acqua, le membrane idrofobiche Accurel PP S6/02, utilizzate normalmente per la microfiltrazione, che permettono lo scambio di ossigeno sulla superficie esterna di polipropilene, ma impediscono l'ingresso di propaguli fungini grazie alla porosità nominale di 0,2 μm (Fig.2). Per quanto riguarda i ceppi fungini, si è scelto fra quelli cosmopoliti, comuni, non patogeni e già utilizzati in tecniche di biorisanamento (4). È stata verificata l'adesione di *Penicillium expansum* Link e *Trichoderma harzianum* Rifai group su Accurel PP S6/02 in una matrice liquida sterile e contaminata. In una provetta contenente acqua bidistillata sterile è stata fatta alloggiare la membrana, precedentemente trattata, attraverso l'immersione in un terreno di coltura generico con una percentuale bassa di agar già inoculato, per favorire l'adesione del fungo alla membrana stessa. La formazione di mycofilm di entrambi i ceppi è stata confermata da immagini allo stereo-microscopio e dallo sviluppo in piastra di campioni prelevati dalla membrana stessa. (Fig.3). Per saggiare come *T. harzianum* e *P. expansum* reagissero a contatto con un ambiente non sterile sono stati realizzati due moduli costituiti da diverse membrane e immersi in un terreno liquido molto diluito a base di glucosio, peptone e acqua corrente non sterilizzata. Il liquido non è stato agitato e le membrane erano attraversate da un flusso continuo di aria compressa che permetteva un adeguato apporto di ossigeno. Dopo 40 giorni solo il *P. expansum* (Fig.2) ha formato un mycofilm uniforme ma limitato alla parte inferiore della beuta, il *T. harzianum* si è sviluppato solo nella parte superiore, a contatto con l'atmosfera. Prelievi di acqua da entrambe le beute hanno dimostrato la presenza di entrambi i funghi dispersi, ma solo il *P. expansum* è riuscito a prevalere sui microrganismi presenti nell'ambiente e a formare mycofilm (Fig.1). Questo studio pone solo le basi per la costruzione di nuovi bioreattori potenzialmente capaci di depurare in maniera efficienti reflui industriali combinando l'attività degradativa dei microrganismi all'efficienza di contatto tra la biomassa e l'ossigeno negli dei MABR.

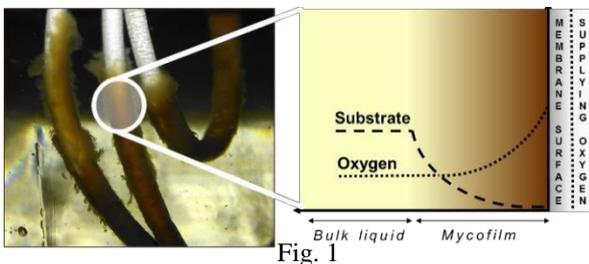


Fig. 1

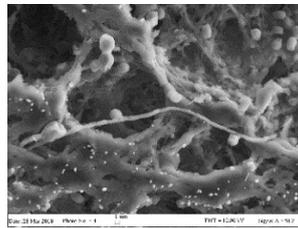


Fig. 2

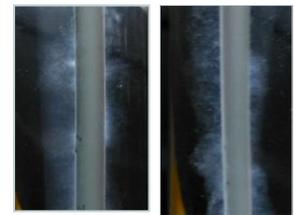


Fig. 3

- 1) Gadd G. M., *Fungi in bioremediation*, Cambridge University Press 23, 2001.
- 2) Basile A., *Handbook of membrane reactors*, I edition, Woodhead Publishing 2, 763-807, 2013.
- 3) Martin K.J., Nerenberg R., *The membrane biofilm reactor (MBfR) for water and wastewater treatment: Principles, applications, and recent developments*, Bioresource Technology 122, 83-94, 2012.
- 4) Leeuwen V., Hans J., et al. *Fungal treatment of crop processing wastewaters with value-added co-products*.
- 5) Sustainable Bioenergy and Bioproducts, 13-44, 2012.

Funghi per risanare sedimenti portuali contaminati

Grazia Cecchi¹, Simone Di Piazza¹, Giuseppe Greco¹, Laura Cutroneo², Marco Capello², Mirca Zotti¹

¹Laboratory of Mycology, Department of Earth, Life and Environmental Sciences, University of Genoa, Corso Europa 26, 16136 Genoa, Italy; ²Laboratory of Physical Oceanography, Department of Earth, Life and Environmental Sciences University of Genoa, Corso Europa 26, 16136 Genoa, Italy

La contaminazione dei sedimenti marini dovuta all'attività portuale è uno dei più gravi problemi ambientali a livello mondiale. La contaminazione è nella maggior parte dei casi dovuta sia a sostanze organiche sia inorganiche, ma i sedimenti marini rappresentano un problema anche a livello gestionale dal momento che periodicamente si accumulano rendendo necessarie delle attività di dragaggio per permettere la navigazione portuale (1,2,3). Proprio durante i dragaggi, ingenti quantitativi di sedimenti marini vengono rimossi dal fondale divenendo così rifiuti speciali che necessitano di smaltimento o bonifica. Numerosi studi dimostrano come il problema dei sedimenti portuali dragati e del loro risanamento sia sempre stato e sia tuttora irrisolto. Le tecnologie tradizionali, infatti, come, ad esempio, il lavaggio e i trattamenti termici, ormai non sono sufficienti e, inoltre, sono molto spesso invasivi e costosi. Ecco perché recentemente nuovi studi stanno saggiando le potenzialità dei microorganismi autoctoni, in particolare batteri e funghi, per il risanamento dei sedimenti portuali dragati sia da contaminanti organici che inorganici (1,4). In particolare, i funghi sembrano i migliori candidati, dal momento che in qualità di organismi pionieri si adattano molto facilmente a condizioni ambientali estreme e grazie al loro metabolismo sono capaci di reagire nei confronti di sostanze tossiche inattivandole (5,6). In questo contesto sono stati analizzati e caratterizzati dal punto di vista micologico i sedimenti del Porto di Genova. I ceppi fungini autoctoni isolati e identificati mediante approccio polibasico (morfologico, fisiologico e molecolare) appartengono prevalentemente ai generi *Penicillium*, *Aspergillus* e *Trichoderma*. Per quanto concerne le analisi chimico-fisiche dei sedimenti stessi, esse hanno evidenziato l'alta contaminazione di alcuni metalli come Cu, Ni e Zn. Grazie ai risultati di queste analisi è stato possibile progettare un'attività pilota di micorimedia dei sedimenti del Porto di Genova, in mesocosmo. Sono state allestite 5 cassette in plastica contenenti 5 Kg ciascuna di sedimento. La superficie è stata in seguito ricoperta con una membrana microporosa sterile, su cui sono state inoculate miscele di funghi autoctoni precedentemente isolati e selezionati. Campioni di membrana e sedimento sono stati raccolti a 15, 30 e 60 giorni dall'inoculo iniziale e analizzati. I risultati hanno evidenziato come il fungo, crescendo nelle trame della membrana, sia capace di bioaccumulare attivamente metalli tossici dai sedimenti, in particolare per Cu e Zn, aumentando così il potenziale assorbente della membrana stessa. Questa attività è stata svolta nell'ambito del Programma di cooperazione Interreg Italia-Francia Marittimo 2014-2020, Progetto SEDITERRA "Linee guida per il trattamento dei sedimenti dragati nell'area Marittimo" (CUP I42F17000010006).

- 1) Akcil, C. Erust, S. Ozdemiroglu, V. Fonti, F. Beolchini (2015) J Clean Prod, 86, 24-36
- 2) H. Fathollahzadeh, F. Kaczala, A. Bhatnagar, W. Hogland (2014) Environ Sci Pollut R, 21, 2455–2464
- 3) S.B. Tavakoly Sany, A. Salleh, M. Rezayi, N. Saadati, L. Narimany, G.M. Tehrani (2013) Water Air Soil Poll, 224, 1476
- 4) H.H. Tabak, P. Lens, E.D. Hullebusch, W. Dejonghe (2005) Rev Environ Sci Bio, 4, 115-156
- 5) G. Cecchi, P. Marescotti, S. Di Piazza, G. Lucchetti, M.G. Mariotti, M. Zotti (2017) Geomic J. <https://doi.org/10.1080/01490451.2017.1362077>
- 6) G.M. Gadd, Y.J. Rhee, K. Stephenson, Z. Wei (2012) Env Microbiol Rep, 4, 3, 270–296

Studio dell'attività di microfunghi su substrati lignocellulosici.

Daccò Chiara¹, Faè Matteo²

¹Dipartimento di Scienze della Terra e dell'Ambiente, laboratorio di Micologia, Università di Pavia, via S. Epifanio 14, Pavia Italia; ²Dipartimento di Biologia e Biotecnologie, Università di Pavia, via Ferrata 1, Pavia, Italia.

La lignina è il polimero più abbondante sulla Terra ed è ampiamente sfruttata in campo industriale per la lavorazione di molti prodotti, dal cemento ai pesticidi, dagli alimenti in pellet per animali agli inchiostri e coloranti¹. Per questo motivo i residui lignocellulosici, provenienti ad esempio dalla produzione di bioetanolo, rappresentano una fonte preziosa e riuscire a purificarli e a sfruttarli è cruciale per un approvvigionamento più sostenibile di lignina. Lo scopo di questo lavoro è stato quello di contribuire alle ricerche volte ad aumentare l'efficienza del trattamento biologico dei residui lignocellulosici nella prospettiva più ampia di ottenere una lignina più pura che possa essere utilizzata in applicazioni biotecnologiche. Lo studio ha previsto la valutazione dell'attività di due ceppi di microfunghi del *Phylum Ascomycota* su un substrato ricco di residui lignocellulosici. In particolare è stata valutata la loro capacità di purificazione misurando la degradazione degli zuccheri riducenti e l'attività del secretoma (xilanasi, cellulasi, pectinasi, proteasi, laccasi, β -glucosidasi, β -1,3-glucanasi). I funghi testati sono stati *Trichoderma asperellum* 1020, isolato da una coltura idroponica e *Paecilomyces variotii* 1030, isolato da un tronco marcescente della riserva Integrale Bosco Siro Negri (Pavia).

Le capacità di degradazione del substrato lignocellulosico di questi funghi è stata verificata misurando il loro consumo di zuccheri riducenti nell'arco di 3 mesi. Il substrato utilizzato è stato un materiale di scarto dalla produzione di bioetanolo composto principalmente da lignina (per circa il 50%), cellulosa, emicellulosa, pectina e altre molecole polisaccaridiche. Una netta riduzione degli zuccheri riducenti presenti è stata ottenuta nei campioni trattati con *T. asperellum* 1020 (riduzione di circa il 70% nel primo mese). Successivamente lo stesso test è stato ripetuto monitorando i campioni nell'arco di 9 giorni e i risultati hanno mostrato che i due ceppi utilizzano quasi tutto il materiale disponibile del substrato nei primi 4 giorni dopo l'inoculo.

La quantificazione degli enzimi secreti durante l'attività dei funghi ha rilevato che *P. variotii* 1030 ha maggiore potenziale nella degradazione di cellulosa e pectina, mentre *T. asperellum* 1020 di pectina e residui glucidici. L'attività di un consorzio composto da questi due ceppi andrebbe valutata in esperimenti futuri e potrebbe risultare molto utile nei processi di biotattamento di residui lignocellulosici.

1. Zimbardi P., Cardinale G., De Michele M., Nanna F., Viggiano D., Bonini C., D'Alessio L., D'Auria M., Teghil R., Tofani D. (1998). La lignina: una risorsa da valorizzare. Enea.

The biodiversity and biotechnological potential of sponges derived fungi

Elena Bovio^{1,2}, Anna Poli¹, Laura Garzoli¹, Anna Lukanini³, Pietro Villa⁴, Rosario Musumeci⁴, Clementina Elvezia Cocuzza⁴, Giorgio Gribaudo³, Claire Hellio⁵, Mohamed Mehiri², Giovanna Cristina Varese¹

¹Department of Life Sciences and Systems Biology, University of Turin, Viale Mattioli 25, 10125 Torino, Italy; ²Institute of Chemistry, University Nice Côte d'Azur, Avenue Valrose 28, 06000 Nice, France; ³Department of Life Sciences and Systems Biology, University of Turin, Via Accademia Albertina 13, 10123 Torino, Italy; ⁴Department of Medicine, University of Milano-Bicocca, via Cadore 48, 20900 Monza, Italy; ⁵Biodimar, University of Western Brittany, Avenue Victor Le Gorgeu 6, 29238 Brest, France.

Although water covers almost 70% of our world, its biodiversity is largely unexplored. Marine fungi, with 1,500 recognised and 10,000 estimated species, represent one of the most understudied groups of microorganisms (1). Special attention deserves fungi associated with sponges: it is becoming more and more evident that they interact with sponges by producing secondary metabolites that could be involved in the host defence against predators, pathogens and fouling organisms (2). From a biotechnological point of view, the molecules isolated from these fungi showed interesting pharmaceutical properties and environmental applications. Thus, the aim of this work was i) to isolate and identify the fungal community associated with the Atlantic sponge *Grantia compressa*; ii) to study the fungal metabolites by applying the OSMAC approach, One Strain – Many Compounds (3); iii) to test fungal molecules for antimicrobial potential with human pathogens; iv) to evaluate the antifouling properties of the fungal metabolites.

Overall, 21 fungal strains (17 taxa) were isolated from *G. compressa*. Following the principle of the OSMAC approach, where small modifications of the growth parameters can induce the activation of different biosynthetic pathways, 12 conditions (including the co-culture with a marine bacterium) were tested. The chemical fingerprints revealed an astonishing metabolic diversity in *Eurotium chevalieri* MUT 2316, from which, ten pure molecules were isolated. These compounds were tested against viruses and bacteria: three molecules completely inhibited the replication of the selected viruses and 6 out of 10 molecules were active against Gram-positive bacteria, including multidrug resistant strains.

With the intent to find an environmental friendly alternative to the currently used paintings, seven molecules were investigated for antifouling properties. In general, the molecules produced by the marine fungus *E. chevalieri* MUT 2316 inhibited the biofilm development and the growth of several marine bacteria and microalgae. In some cases, the inhibition was up to 80% compared to the positive control.

In conclusion, these results confirm marine fungi as an outstanding source of metabolites that can have a direct impact on human life (novel antibacterial and antiviral molecules) or contribute to environmental preservation.

- 1) E.G. Jones, S. Suetrong, J. Sakayaroj, A.H. Bahkali, M.A. Abdel-Wahab, T. Boekhout, K.L. Pang (2015) Fungal Divers., 73, 1-72.
- 2) S. Rodríguez-Marconi, R. De la Iglesia, B. Díez, C.A. Fonseca, E. Hajdu, N. Trefault (2015) Plos one, 10, 1-19
- 3) H.B. Bode, B. Bethe, R. Höfs, A. Zeeck, (2002) ChemBioChem, 3, 619-627

Ultra-congelamento del micelio e coltivazione del fungo medicinale *Ganoderma lucidum*

Federico Puliga¹, Pamela Leonardi¹, Mirco Iotti², Federica Piattoni³, Alessandra Zambonelli¹

¹Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Università di Bologna, Viale Fanin 46, 40127 Bologna, Italia;

²Dipartimento di Medicina clinica, Sanità Pubblica, Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università dell'Aquila, Via Vetoio, 67100 Coppito, L'Aquila, Italia; ³Dipartimento di Scienze Biologiche, Geologiche e Ambientali, Università di Bologna, Sede di Ravenna Ambiente & Mare, Via S. Alberto, 163, 48123 Ravenna, Italia.

Ganoderma lucidum (Curtis) P. Karst. è un fungo medicinale impiegato da oltre 2000 anni nella medicina tradizionale cinese (1). In questi ultimi anni la ricerca scientifica non ha fatto altro che confermare le presunte proprietà attribuite a tale fungo dalla medicina tradizionale cinese, fornendo le prove dell'efficacia dei composti da esso estratti. Particolare interesse hanno suscitato le proprietà immunomodulanti, antitumorali, antiossidanti, antimicrobiche, antiallergiche, epatoprotettive ed antidiabetiche (2, 3). I composti attivi presenti nei funghi medicinali dipendono dalle condizioni in cui si sviluppano e dalle loro caratteristiche genetiche (4). Alla specie *G. lucidum*, sono state ascritte differenti specie europee ed asiatiche e recenti studi filogenetici hanno messo in evidenza come il *G. lucidum* usato nella medicina tradizionale cinese sia una specie differente rispetto a *G. lucidum* presente in Europa (5, 6). Le diverse specie di *Ganoderma*, ma anche i diversi ceppi di *G. lucidum*, mostrano differenze nell'attività antiossidante ed antiproliferativa (7). Al fine di preservarne la variabilità genetica, risulta necessario isolare e collezionare diverse specie e ceppi provenienti da diverse regioni geografiche e conservarle per lunghi periodi. Le tecniche di crioconservazione in azoto liquido e di ultra-congelamento sono considerate come i metodi più affidabili per la conservazione dei funghi filamentosi (8, 9). Tali tecniche possono consentire la conservazione di queste specie per lunghi periodi e prevenire variazioni genetiche, fisiologiche e fenotipiche (10). Lo scopo di questo lavoro è stato quello di verificare la possibilità di applicare la tecnica dell'ultra-congelamento a questa specie fungina e constatare la sua abilità di sopravvivenza e fruttificazione dopo la conservazione a -120°C. A tal fine, sono stati selezionati 3 ceppi italiani di *G. lucidum* e su di essi, sono stati saggiati per la prima volta in combinazione tra loro differenti crioprotettori: cariossidi di frumento o stick di legno, saccarosio (C₁₂H₂₂O₁₁), glicerolo (C₃H₈O₃), propan-2-olo (C₃H₈O) e cloruro di sodio (NaCl). Le prove di fruttificazione sono state condotte inoculando col micelio sacchi di segatura di *Quercus ilex* L. e paglia addizionati con carbonato di calcio (CaCO₃). I risultati ottenuti mostrano che il micelio di *G. lucidum* può essere conservato con successo a -120°C, senza alterazioni dello sviluppo miceliare. Inoltre, dopo il periodo di ultra-congelamento i ceppi mantengono inalterata la capacità di produrre corpi fruttiferi. Questa tecnica potrebbe essere applicata anche ad altre specie di funghi, aprendo la possibilità di creare una banca del germoplasma per contribuire al mantenimento della biodiversità fungina.

- 1) Matsomoto K., (1979). Santa Barbara: Woodbridge Press Publishing Company
- 2) Sánchez C., (2017). Springer International Publishing
- 3) Wasser S. P., (2014). Biomedical Journal, 37(6), 345-356
- 4) Psurtseva N. and Ozerskaya S., (2013). Abstracts IMMC 7, 22-24
- 5) Saltarelli R., Ceccaroli P., Iotti M., Zambonelli A., Buffalini M., Casadei L., (2009). Food Chemistry, 116, 143 – 151
- 6) Badalyan S. M., Shnyreva A. V., Iotti M., Zambonelli A., (2015). International Journal of Medicinal Mushrooms, 17(4): 371–384
- 7) Saltarelli R., Ceccaroli P., Buffalini M., Vallorani L., Casadei L., Zambonelli A., Iotti M., Badalyan S., Stocchi V., (2015). Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology 25:16-25
- 8) Obase K., Lee SJ., Chun KW., Lee JK., (2011). Mycobiology 39:133–136
- 9) Smith D. and Thomas VE., (1998). World Journal of Microbiology and Biotechnology 14, 49 - 57
- 10) Mazur P., (1984). American Journal of Physiology-Cell Physiology 247, C125 e C142

Caratterizzazione preliminare di specie di *Hericium* raccolte in Toscana

Valentina Cesaroni¹, Annarosa Bernicchia⁶, Maura Brusoni¹, Federica Corana³, Carlo Maria Cusaro¹, Carolina Girometta¹, Maria Lidia Guglielminetti¹, Barbara Mannucci³, Hirokazu Kawagishi⁵, Claudia Perini⁴, Annamaria Picco¹, Paola Rossi¹, Elena Salerni⁴, Elena Savino¹

¹Dipartimento di Scienze della Terra e dell'Ambiente, Università di Pavia, Italia; ²Dipartimento di Biologia e Biotecnologie "L. Spallanzani", Università di Pavia, Italy; ³Centro Grandi Strumenti, Università di Pavia, Italia; ⁴Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Siena, Italia; ⁵Research Institute of Green Science and Technology, Shizuoka University, Japan; ⁶Via A. Giudotti 39, 40134 Bologna, Italia.

I funghi del genere *Hericium* contengono vari composti con attività antibatterica, possiedono un effetto citotossico su particolari cellule tumorali e contengono inoltre delle molecole bioattive [1]; tra queste ultime, alcune stimolano la sintesi del fattore di crescita neuronale (NGF) [2]. Recentemente è stato pubblicato in un lavoro scientifico l'effetto funzionale di *Hericium* sulla memoria di riconoscimento e sulla neurotrasmissione delle fibre muscolari all'area CA3 dell'ippocampo [3].

Lo scopo iniziale di questo studio è stato quello di ricercare specie del genere *Hericium* su territorio italiano, isolarne i ceppi, identificandoli anche attraverso l'analisi biomolecolare. Il primo passo è stato quello di campionare in Toscana sporofori di *Hericium*: sono stati rinvenuti *H. alpestre* Pers. (Badia Prataglia), *H. coralloides* (Scop.) Pers. e *H. erinaceus* (Bull.) Pers. (dintorni di Siena). I ceppi di *H. alpestre* (H.a.1), *H. coralloides* (H.c.1) e *H. erinaceus* (H.e.1 & H.e.2) sono stati isolati in cultura pura e vengono mantenuti nella collezione dell'Università di Pavia (MicUNIPV).

Le sequenze di DNA ottenute dai suddetti ceppi sono state confrontate con altre sequenze reperite nelle banche dati internazionali. E' stato così possibile costruire un albero filogenetico che evidenzia la netta separazione in cladi delle sequenze e l'identificazione molecolare dei nostri ceppi con le specie di *Hericium* considerate.

I composti bioattivi presenti nei miceli e negli sporofori di *H. erinaceus* sono stati analizzati chimicamente in collaborazione con il Centro Grandi Strumenti dell'Università di Pavia mediante HPLC/ESI-MS/MS. I materiali da analizzare sono stati precedentemente liofilizzati e poi estratti con una procedura alcolica [1]. L'analisi cromatografica preliminare ha evidenziato la presenza di metaboliti secondari potenzialmente bioattivi e strutturalmente differenti come polisaccaridi, erinacine, ericenoni, steroidi e altri terpenoidi. Gli ericenoni C e D (negli sporofori) e l'erinacina A (nel micelio) sono stati identificati grazie alla comparazione con i rispettivi standard. Tra le molte molecole bioattive prodotte da *H. erinaceus*, sono state selezionate queste 3 molecole che sono note per avere effetti sul Sistema Nervoso Centrale [4,5,6]. Lo studio sugli effetti di *Hericium* sul SNC è in realtà l'obiettivo principale della ricerca.

Grazie all'elevata sensibilità nel rilevamento dei composti bioattivi di *H. erinaceus*, sarà possibile utilizzare il metodo HPLC/ESI-MS/MS proposto come protocollo di screening analitico per determinare le condizioni ottimali di crescita del fungo e migliorare la catena produttiva di coltivazione di *H. erinaceus*. Come obiettivo finale di questo studio ci promettiamo di riuscire a reperire altri campioni del genere *Hericium* e di effettuare analisi chimiche anche su *H. alpestre* e *H. coralloides* per poter valutare la presenza di composti bioattivi anche in queste due specie.

Gli autori ringraziano il Parco Nazionale Foreste Casentinesi, Monte Falterona e Campigna e l'Arma dei Carabinieri (Raggruppamento Carabinieri Biodiversità) per aver concesso l'autorizzazione ad effettuare i campionamenti oltre ad aver fornito il supporto tecnico-logistico. Gli autori ringraziano anche la dr. Carla Barluzzi e Bruno Guerranti del Gruppo Micologico-Naturalistico "Terra di Siena" per il loro contributo al campionamento.

- 1) B. Gerbec, E. Tavčar, A. Gregori, S. Kreft and M. Berovic (2015) Bioproc. & Biotech., 5:3
- 2) K. Mori, Y. Obara, M. Hirota, Y. Azumi, S. Kinugasa, S. Inatomi and N. Nakahata (2008) Biol. Pharm. Bull., 31, 1727-1732
- 3) F. Brandalise, V. Cesaroni, A. Gregori, M. Repetti, C. Romano, G. Orrù, L. Botta, C. Girometta, M.L. Guglielminetti, E. Savino, P. Rossi (2017) Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2017, 1-13
- 4) Kawagishi H., Ando M., Sakamoto H., Yoshida S., Ojima F., Ishiguro Y., Ukai N., Furukawa S. (1991) Tetrahedron Letters 4561-4564.
- 5) Kawagishi H., Shimada A., Shirai R., Okamoto K., Ojima F., Sakamoto H., Ishiguro Y., Furukawa S. (1994) Tetrahedron Letters 1569-1572.
- 6) S. Kobayashi, H. Tamanoi, Y. Hasegawa, Y. Segawa and A. Masuyama (2014) J. Organic Chemistry 79, 5227-5238

I funghi nella micologia forense: il caso del cadavere mummificato

Simone Di Piazza¹, Grazia Cecchi¹, Giuseppe Greco¹, Francesco Ventura², Mirca Zotti¹

¹ Dipartimento di Scienze della Terra dell’Ambiente e della Vita, Università degli Studi di Genova, Corso Europa 26, 16134 Genova Italy; ² Dipartimento di Medicina Legale e Forense, Università degli Studi di Genova, Via De Toni 12, 16132 Genova.

Negli ultimi anni diversi autori hanno evidenziato il grande potenziale della micologia in ambito forense (1, 2, 3). Tuttavia, ad oggi, persistono criticità che ne ostacolano l’utilizzo in ambito strettamente applicativo a causa della mancanza di studi, di una casistica ampia e di conseguenza di una letteratura specifica, e per la penuria di personale effettivamente formato per lo studio dei funghi a fini forensi.

Il laboratorio di Micologia del DISTAV (UniGe) dal 2014 svolge, in collaborazione con alcuni istituti di medicina legale a livello nazionale, studi finalizzati alla caratterizzazione delle comunità micologiche presenti sui cadaveri. Tale attività ha permesso nel tempo dapprima di individuare alcune specie che apparentemente sembrano essere ricorrenti e poi di cominciare a studiare i *pattern* di colonizzazione dei cadaveri da parte di alcune specie fungine in condizioni semicontrollate (4).

Nel presente studio viene riportato un singolare caso di mummificazione parziale di un anziano rinvenuto all’interno della sua abitazione oltre sette anni dopo l’avvenuto decesso. Il corpo è stato trovato disteso in posizione prona sul pavimento della cucina parzialmente mummificato con segni di scheletrizzazione iniziale della faccia e degli arti superiori. Al momento del ritrovamento il cadavere, presentava apparente presenza di colonie fungine sia sulla pelle che sui vestiti. Un’accurata analisi multidisciplinare ha fornito informazioni importanti sulla modalità, sulla presunta causa della morte, e l’indagine necroscopica ha rivelato una frattura cranica e un vasto ematoma subdurale acuto quale causa di morte.

Per quanto riguarda le analisi micologiche condotte hanno riguardato isolamenti, esami diretti e analisi molecolari. Le specie rinvenute sul corpo in questo caso sono prevalentemente ascrivibili ai generi *Aspergillus*, *Penicillium*, e *Cladosporium*. La mummificazione, come è noto, è un processo che comporta la parziale conservazione dei tessuti dovuta alla loro disidratazione. L’arresto parziale della putrefazione può anche essere indotto da diversi fattori, tra questi non ultima sembra essere la colonizzazione da parte di organismi fungini che gioca sicuramente un ruolo importante.

L’intento di studi come questo è di fornire informazioni riguardo: i) le specie presenti su cadaveri rinvenuti in diversi ambienti; ii) lo stadio di sviluppo delle colonie fungine su cadaveri; iii) il ruolo dei funghi nei processi di mummificazione; iv) la loro possibile applicazione in ambito forense.

- 1) D.L. Hawksworth, P.E. Wiltshire, Forensic mycology: the use of fungi in criminal investigations, *Forensic Sci. Int.* 206 (2011) 1–11.
- 2) D.L. Hawksworth, P.E. Wiltshire, Forensic mycology: current perspectives, *Res. Rep. Forensic Med. Sci.* 5 (2015) 75–83.
- 3) E. Bellini, E. Ambrosio, M. Zotti, G. Nucci, M. Gabbrielli, P. Vanezis. The Usefulness of Cadaveric Fungi as an Investigation Tool. *Am J Forensic Med Pathol.* (2016) Mar;37(1):23.
- 4) S. Di Piazza, M. Zotti, R. Barranco, G. Cecchi, G. Greco, F. Ventura. Post-mortem fungal colonization pattern during 6 weeks: Two case studies. *Forensic Sci. Int.* 289 (2018) e18–e23.

Effetti della biofumigazione sulle comunità batteriche e fungine del suolo

Carolina Chiellini^a, Stefano Mocali^a, Silvia Landi^a, Giada d'Errico^b, Alessandro Infantino^c, Luca Lazzeri^d

^a Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'analisi dell'economia agraria - Centro Agricoltura e Ambiente (CREA-AA). Via di Lanciola 12/A, 50125 - Cascine del Riccio (FI), Italy; ^b Università degli Studi di Napoli Federico II. Via Università 100, 80055 - Portici, Napoli, Italy; ^c Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'analisi dell'economia agraria - Centro Difesa e Certificazione (CREA-DC). Via C. G. Bertero 22, 00156, Roma, Italy; ^d Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'analisi dell'economia agraria - Centro Colture Industriali (CREA-CI). Via di Corticella, 133. 40129 Bologna, Italy

A seguito della direttiva 2009/128/CE che incoraggia un uso più sostenibile dei pesticidi in agricoltura, la necessità di trovare strategie di controllo alternative per sostituire i prodotti chimici in agricoltura è aumentata. Tra i metodi alternativi per contrastare i fitoparassiti presenti nel suolo, in particolare i nematodi, la biofumigazione si è rivelata efficace. Questa tecnica si basa sull'incorporazione di residui di piante di Brassicaceae sotto forma di prodotti standardizzati freschi o derivati, come ad esempio le farine derivate dai semi disidratati (DSM). Tuttavia, gli effetti della biofumigazione sugli organismi non target rimangono ancora ad oggi poco conosciuti.

In questo lavoro, piante di pomodoro sono state trapiantate in terreni naturalmente infettati dal nematode *Meloidogyne incognita* a cui sono stati applicati quattro diversi trattamenti: i) DSM di *Brassica carinata* contenente glucosinolati (CAR); ii) DSM non contenente glucosinolati, derivato dal girasole (SUN); iii) fumigante chimico "metam sodium" (VAP); iv) un controllo non trattato.

A diversi intervalli di tempo (0, 10, 32 e 62 giorni dopo i trattamenti) i campioni di suolo sono stati prelevati al fine di controllare sia la presenza di parassiti e/o agenti patogeni, sia il vigore della pianta, ma soprattutto per controllare la risposta della comunità microbica sia batterica che fungina, ai diversi trattamenti. L'approccio utilizzato si è basato sull'analisi dei microbiomi utilizzando come target i geni ribosomiali 16S e 18S, rispettivamente per le comunità batteriche ed eucariotiche. Durante il corso dell'esperimento sono stati osservati cambiamenti significativi tra le comunità batteriche ed eucariotiche, ed anche fluttuazioni in termini di abbondanza della comunità fungina all'interno della comunità eucariotica.

Mentre la comunità batterica ha reagito già dopo 10 giorni al trattamento con CAR, per poi tornare alla fine dell'esperimento ad un nuovo equilibrio molto simile a quello iniziale, la comunità eucariotica complessivamente ha subito il cambiamento maggiore dopo 32 giorni col trattamento CAR, e dopo 62 giorni col trattamento VAP, discostandosi solo alla fine dell'esperimento dalla sua composizione iniziale. È stato osservato un drastico calo nella frazione fungina della comunità eucariotica con il trattamento CAR già dopo 10 giorni, e un drastico calo con VAP dopo 32 giorni. Contemporaneamente, si è osservato un incremento di microrganismi eucariotici affiliati al gruppo degli Alveolata (protozoi) soprattutto nel trattamento CAR; tra questi, il sottogruppo degli Apicomplexa era dominante nei campioni in esame.

Tuttavia, la diversità microbica complessiva non è diminuita in modo significativo dopo i trattamenti CAR o VAP, suggerendo una pronunciata resilienza delle comunità biologiche del suolo dopo la fumigazione. Il trattamento SUN ha aggiunto materia organica nel suolo, inducendo cambiamenti significativi nelle comunità microbiche, ma non è stato efficace contro l'infestazione da *M. incognita*. Questi risultati hanno confermato l'interessante potenziale dei trattamenti biofumiganti a base di DSM come alternativa ai fumiganti chimici per un controllo di alcune fitopatologie associate al suolo.

Assessing the variability of mycorrhization rate in relation to the number of sampled plants in five *T. melanosporum* truffle orchards of Central Italy

Leonardo Baciarelli Falini¹, Giorgio Marozzi¹, Andrea Onofri¹, Gian Maria Niccolò Benucci², Emidio Albertini¹, Domizia Donnini¹

¹Department of Agricultural, Food and Environmental Science, University of Perugia, 06121 Perugia, Italy;

²Department of Plant, Soil and Microbial Sciences, Michigan State University, 48824 East Lansing, Michigan, USA

The cultivation of the black truffle, *Tuber melanosporum*, has expanded all over the world. Successful cultivation efforts have brought the black truffle from its native range in Europe to America, Australia, and most recently, South Africa (1; 2). For successful truffle production, different factors must be considered before the orchard plantation and during its cultivation. An important factor is the mycorrhization level of planted seedlings with the inoculated *Tuber* spp. (3; 4; 5). The presence of Ectomycorrhizae (ECMs) is required for the truffle to complete the life-cycle and produce ascocarps (6). To assess the mycorrhization level of a truffle orchard, it is necessary to develop a sampling strategy that takes into account the characteristics of the site from which the root-samples are taken. Root sampling is delicate and time-consuming because it is easy to disturb the ECMs community in the soil (7). A standardized and reproducible methodology for sampling mycorrhized roots in truffle orchards has not yet been developed. In this study, we sampled 5 *T. melanosporum* truffle orchards located in Central Italy to determine the following: i) the relationship between the number of sampled plants and the estimated mycorrhization rate, and ii) the Minimum Number of Samples (MNS) needed to achieve a reliable mycorrhization estimate.

- 1) D. Donnini, M.L. Gargano, C. Perini, E. Savino, C. Murat, S. Di Piazza, M. Bencivenga (2013) *Plant Biosystems*, 147(1), 226-236.
- 2) Zambonelli, D. Donnini, G.L. Rana, S. Fascetti, G.M.N. Benucci, M. Iotti, A. Morte, L. Khabar, A. Bawadekji, F. Piattoni, R. Compagno, G. Venturella (2014) *Plant Biosystems*, 148(2), 392-401
- 3) M. Bencivenga, L. Baciarelli Falini (2012) *Assessorato Regionale Agricoltura e Foreste*. Perugia, Italy, ISBN 978- 88-96277-12-6
- 4) C. Murat (2015) *Mycorrhiza*, 25(1), pp.77–81.
- 5) Andrés-Alpuente, S. Sánchez, M. Martín, Á.J. Aguirre, J.J. Barriuso (2014) *Mycorrhiza*, 24(1), S29-S37
- 6) G.M.N. Benucci, L. Raggi, E. Albertini, T. Grebenc, M. Bencivenga, M. Falcinelli, G. Di Massimo (2011) *FEMS microbiology ecology*, 76(1), pp.170–184
- 7) G. Berhongaray, J.S. King, I.A. Janssens, R. Ceulemans (2012) *Plant and soil*, 366(1-2), pp.351–361

***Tuber aestivum* Vittad. and *Tuber mesentericum* Vittad.: new insights based on morphological and phylogenetic analyses**

Giorgio Marozzi¹, Gian Maria Niccolò Benucci², Edoardo Suriano³, Nicola Sitta⁴, Lorenzo Raggi¹, Hovirag Lancioni⁵, Leonardo Baciarelli Falini¹, Emidio Albertini¹, Domizia Donnini¹

¹Department of Agricultural, Food and Environmental Science, University of Perugia, 06121 Perugia, Italy; ²Department of Plant, Soil and Microbial Sciences, Michigan State University, 48824 East Lansing, Michigan, USA; ³Via F.lli Mazzocchi 23, 00133 Rome, Italy; ⁴Loc. Farne´ 32, 40042 Lizzano in Belvedere, Bologna, Italy; ⁵Department of Chemistry, Biology and Biotechnology, University of Perugia, 06123 Perugia, Italy

Tuber aestivum Vittad. (syn. *Tuber uncinatum* Chatin) is one of the most sought out, marketed, and cultivated truffle species all over the world (1; 2). It is morphologically similar to *Tuber mesentericum* Vittad. (black truffle of Bagnoli Irpino), a truffle appreciated only locally in southern Italy and north eastern France (3; 4). Because *T. aestivum* and *T. mesentericum* have very similar ascocarp features and *T. aestivum* var. *uncinatum* is collected in similar environments and periods of *T. mesentericum*, they are frequently mistaken with one another (5). Forty-three *Tuber aestivum* and *T. mesentericum* ascocarps were collected all over Italy and included in this study for a morphological and molecular characterization. Among these truffles, the samples T7, T8 and T12 coming from mediterranean sites, were classified as *T. mesentericum* according their morphological features, although the aromatic characteristics of the fresh specimens showed the complete and constant absence of the phenolic note. A further analysis of ascocarps' spore morphology confirmed the belonging of those specimens to *T. mesentericum*. The main morphological features of all the samples were described, and spore morphology was deeply investigated. Successively, we extracted DNA from 27 truffle samples and the elongation factor 1- α (EF1 α) locus was sequenced (6). Obtained sequences confirmed the taxonomic association to *T. aestivum* or *T. mesentericum*, and a ML phylogenetic tree was built. The phylogenetic tree showed that *T. aestivum* and *T. mesentericum* sequences cluster into different clades, and that *T. mesentericum* sequences divide into three different sub-clades. The samples T7, T8 and T12, are included into the sub-clade III that has the lowest genetic distance from the *T. aestivum* clade. This study reveals a high genetic variability of *T. mesentericum* in the EF1 α locus, confirming it represents a complex of species rather than a single species. We identified a well-defined *T. mesentericum* sub-clade for the specimens characterized by a pleasant aroma similar to that of *T. aestivum*. Moreover, this study confirms the existence of difficulties in discriminating *T. aestivum* from *T. mesentericum* ascocarps in the commercial field and points out that the existence of *T. mesentericum* ecomorphs with pleasant aroma can represent an opportunity to improve the market of this truffle species.

- 1) U. Stobbe, S. Egli, W. Tegel, M. Peter, L. Sproll, U. Buntgen (2013) Applied microbiology and biotechnology, 97(12), 5215-5224
- 2) C. Wedén, L. Pettersson, E. Danell (2009) Scandinavian Journal of Forest Research, 24(1), 37-53
- 3) G.M.N. Benucci, A.G. Csorbai, L. Baciarelli Falini, G. Marozzi, E. Suriano, N. Sitta, D. Donnini (2016) In True Truffle (*Tuber* spp.) in the World, Springer International Publishing, 69-86
- 4) G. Marozzi, G.M.N. Benucci, L. Baciarelli Falini, E. Albertini, D. Donnini (2018) Sydowia, 70, 81
- 5) M. Sica, L. Gaudio, S. Aceto (2007) Mycorrhiza, 17, 405-14
- 6) G. Bonito, M.E. Smith, M. Nowak, R.A. Healy, G. Guevara, E. Cázares, A. Kinoshita, E.R. Nouhra, L.S. Domínguez, L. Tedersoo, C. Murat, Y. Wang, B.A. Moreno, D.H. Pfister, K. Nara, A. Zambonelli, J.M. Trappe (2013) PloS one, 8(1), e52765

Indagini su fattori condizionanti diffusione e produzione di *Tuber* in terreni agricoli riconvertiti in impianto forestale.

Anna Maria Meoni¹, Giuseppe Fabrini², Paola Imola¹, Naldo Anselmi³

¹Forestry farm Pagnini Pina, Regione Umbria, Strada Conventaccio, 00100 Ficulle (TR), Italy, ²Department of Environmental Biology Sapienza University of Rome, Piazza Aldo Moro, 500185 – Rome, Italy, ³Department of Innovation in Biological, Agro-food and Forest systems (DIBAF) University of Tuscia, Via S. Camillo De Lelli, 01100 Viterbo.

E' noto che le produzioni naturali di *Tuber* dipendono notevolmente dalle condizioni ambientali. Sono tuttavia rare le sicure conoscenze sui fattori micro edafico-climatici (1-2-3) che influenzano lo sviluppo dei carpofori fungini, soprattutto per la difficoltà di registrare le reali produzioni fungine. Gli A.A. presentano un contributo sulla diffusione di *Tuber* in impianto forestale di 10.81.00 ha realizzato su terreno agrario nel 1988 in Umbria, comune di Ficulle (Terni), m. 545-490 s.l.m., comprendente diverse parcelle monospecifiche, distribuite "a macchia di leopardo", di *Pinus halepensis*, *Cedrus spp*, *Quercus spp*, *Alnus cordata* e *Sorbus torminalis*. Per il rimboschimento venne utilizzato materiale di due-tre anni in vaso, allevato su terriccio di scarto presumibilmente contenente miceli di *Tuber*. Tanto è che nel 2002 l'impianto fu riconosciuto dalla Regione Umbria come Tartufaia controllata. Dal 2004 a oggi, con un'interruzione del periodo 2010-2014 a causa di una indesiderata concentrazione di raccoglitori, la produzione di *Tuber* nelle parcelle, secondo omogenei nuclei di piante contrassegnati, è stata continuamente registrata, a scopi scientifici, in maniera via via sempre più specifica, dalla raccolta con cani condotti da raccoglitori all'uopo addestrati. Il controllo di questi è stato garantito dalla Dr.ssa Anna Maria Meoni, applicando tecniche psico-analitiche di conduzione di gruppo di lavoro interdisciplinare (4). Per tutto il periodo abbiamo potuto analizzare i dati termo-pluviometrici della zona gentilmente messe a disposizione dal Servizio Tecnico del Consorzio di Bonifica Val di Chiana Romana-Val di Paglia. Nell'ultimo triennio gli sudi sono stati integrati da rilievi floristici e pedologici, che hanno permesso di poter correlare le produzioni di *Tuber* con lo sviluppo ed evoluzione dell'impianto forestale e con i relativi indici ecologici e di aridità. Dal punto di vista floristico, l'impianto sarebbe ancora in evoluzione, ricco di biodiversità, in particolare di specie tendenzialmente xerofile. Tra le specie commestibili di *Tuber*, sono state evidenziate, con i riscontri offerti dal Prof. Marco Morara e dalla Prof.ssa Elena Salerni, *T. aestivum* e *T. aestivum* var. *uncinatum*, *T. borchii* e *T. oligospermum*, *T. brumale*, *T. mesentericum*, e, tra le specie non commestibili, *T. rufum* e *T. excavatum*, nonché, assai raramente, *T. panniferum*. I primi risultati sulla diffusione e sulla produttività dell'impianto in tartufi, limitatamente a *Tuber aestivum*, sono stati presentati e pubblicati nel 2011 (5) e 2012 (6). Il risultato più significativo dell'ultimo periodo emerge nella caduta della produzione nel 2017 di pressoché tutte le specie di *Tuber* e in tutte le specie forestali, soprattutto da luglio. Ciò si accompagna a una drastica riduzione del numero di nuclei di piante interessato alla produzione, che da oltre 300 nel 2016 scende a 146 nel mese di marzo 2017, per crollare a 14, solo pini, nel mese di luglio e ad appena 2-6 nel periodo autunnale. Questo indubbiamente è da imputare alla forte siccità del 2017, anno in cui da dicembre ad agosto piovvero solo 227 mm, con lunghi periodi primaverili estivi (8 marzo-17 aprile, 9 maggio-14 giugno, 1 luglio - 10 agosto) senza pioggia alcuna, intervallati da modeste pioggerelle che non riuscirono mai a penetrare in profondità. Una lievissima ripresa della produzione in *Tuber* si è verificata dal giugno 2018, con nuclei di piante produttive saliti da n. 5 in marzo a n. 69 in luglio, probabilmente in coerenza con le precipitazioni ricorrenti in tutto il primo semestre dell'anno. I condizionamenti sulle produzioni in *Tuber* da parte delle caratteristiche del suolo, dello stato di salute delle piante forestali e della relativa situazione floristica sono altresì commentati. Alcune verifiche esplorative sviluppate con ulteriori analisi chimico fisiche del terreno (2014) realizzate a cura della Università della Tuscia e relative correlazioni con il supporto del Prof. Francesco Biondi (7) hanno evidenziato aspetti tali da suggerire la predisposizione di un uno studio finalizzato vero e proprio sui terreni oggetto di studio.

- 1) N. Anselmi, R. Pirazzi, G. Deandrea (1990) Micol. Veg. Medit., 5 (1), 1-23.
- 2) E. Salerni, C. Perini and Gardin, L. (2014) Natural Resources5, 408-418. <http://dx.doi.org/10.4236/nr.2014.58038>
- 3) E. Salerni, A. Laganà, C. Perini, S. Loppi and V. De Dominicis (2002). Israel Journal of Plant Science, 50, 189-198
- 4) A.M. Meoni (2016) CSPL "Cibo" (Roma) n.22: 91-99, Alpes ISSN 18285)
- 5) A.M. Meoni, M. Parrini (2011) RomaForest2011 Congress Proceedings, June 2011, Rome
- 6) A.M. Meoni, P. Imola, F. Biondi (2012) L'Italia Forestale e Montana, 67 (3): 263-272.
- 7) F. Biondi (2016) Atto interno DBAF Università della Tuscia.

Effetto delle nanoparticelle esopolisaccaridiche di ferro su *Tuber borchii*

Pamela Leonardi¹, Franco Baldi², Laura Chiarantini³, Antonella Amicucci³, Livia Vittori Antisari¹, Mirco Iotti⁴, Filippo Piana¹, Alessandra Zambonelli¹

¹Department of Department of Agricultural and Food Sciences, University of Bologna, viale Fanin 44, 40127 Bologna, Italy; ²Department of Molecular Sciences and Nanosystems, Cà Foscari University, via Torino 155, 30172 Mestre Venice, Italy; ³Department of Biomolecular Sciences, University of Urbino Carlo Bo, via Saffi 2, 61029 Urbino, Italy; ⁴Department of Life, Health and Environmental Sciences, University of L'Aquila, via Vetoio (Coppito), 1, 67100 L'Aquila, Italy

I tartufi sono funghi ipogei appartenenti al genere *Tuber* (Pezizales, Ascomycetes), che vivono in associazione ectomicorrizica con le radici di piante ospiti. La coltivazione del tartufo comporta la produzione di piantine micorrizzate con *Tuber* spp. in serra che devono essere poi trapiantate in specifici terreni calcarei. La richiesta sempre maggiore di tartufi e l'elevato valore economico di questi funghi ha suscitato grande interesse riguardo la loro coltivazione, infatti oggi è diventata un'importante attività agricola in Europa e nel mondo. Recentemente Paesi come la Nuova Zelanda, l'Australia, il Sud Africa e il Cile hanno avviato con successo la coltivazione di *Tuber* spp.. Questi Paesi hanno terreni in prevalenza con pH acido e la coltivazione del tartufo è stata possibile solo grazie all'aggiunta di carbonato di calcio (90-120 tonnellate per ettaro per cambiare il pH da 5.9 a 7.9) (1).

Queste massicce calcitazioni creano problemi di carenze minerali per la minore disponibilità di microelementi quali ferro, boro, manganese, zinco e rame che vengono immobilizzati nel suolo. In particolare è frequente la clorosi ferrica nelle piante tartufigene.

In questo studio abbiamo saggiato gli effetti delle nanoparticelle esopolisaccaridiche di Fe (III) (Fe-EPS), biogenerate da *Klebsiella oxytoca* DSM 29614 in condizioni anaerobiche, come integratore di ferro, sullo sviluppo di *Tuber borchii* *in vitro* ed in serra. Usando queste nanoparticelle, i miceli hanno mostrato un'assunzione di ferro estremamente efficiente, superiore di oltre 300 volte a quella ottenuta somministrando sequestrene ed un maggiore sviluppo di biomassa. Da analisi effettuate mediante microscopia elettronica a trasmissione le Fe-EPS si fissano alla parete cellulare, quindi la penetrano in modo non distruttivo senza danneggiare la membrana cellulare (2).

Le Fe-EPS somministrate nel substrato di sviluppo di piantine di *Quercus robur* inoculate con *T. borchii* in serra sono state in grado di limitare la clorosi causata dall'elevato contenuto di CaCO₃ aggiunto al terreno. Questo effetto è stato particolarmente evidente durante i primi mesi di crescita delle piantine. Le Fe-EPS hanno inoltre aumentato la colonizzazione micorrizza da parte di *T. borchii*. Le micorrize in presenza di Fe-EPS si dimostravano particolarmente ingrossate e con macchie superficiali rossastre.

Grazie a questa indagine è possibile affermare che le Fe-EPS possono essere utilizzate come fonte di Ferro nei terreni di coltura di *T. borchii* permettendone un maggiore sviluppo miceliare. Inoltre esse possono essere utilizzate nella produzione di piantine micorrizzate in serra per aumentarne il grado di micorrizzazione. Questo studio apre infine la possibilità di un loro utilizzo anche in pieno campo nelle piantagioni di tartufo dove spesso riesce difficile risolvere il problema della clorosi ferrica mediante le tradizionali fertilizzazioni minerali.

- 1) Zambonelli A., Hall I., Fitzpatrick N. (2010) Lecture de l'approche de la trufficulture dans l'hémisphère austral à la lumière de l'expérience italienne. In: Savignac JC (ed) Actes du colloque, Les nouvelles techniques de culture de la truffe. M.G.D, Sarlat, pp 68–77.
- 2) Picceri G. G., Leonardi P., Iotti M., Gallo M., Baldi F., Zambonelli A., Amicucci A, Vallorani L., Piccoli G., Ciccimarra G., Arshakyan M., Burattini S., Falcieri E., Chiarantini L. (2018). Bacteria-produced ferric exopolysaccharide nanoparticles as iron delivery system for truffles (*Tuber borchii*). Applied Microbiology and Biotechnology, 102(3), 1429-1441.

Il caso del bosso, della piralide e del fungo

Mirca Zotti, Grazia Cecchi, Simone Di Piazza, Davide Badano, Mauro Mariotti,

Department of DISTAV, University of Genoa, Corso Europa 26, 16134 Genova Italy;

In Liguria le formazioni stabili xerotermofile a *Buxus sempervirens* sui pendii rocciosi (habitat 5110, protetto ai sensi della Direttiva Natura 2000 92/43) e il verde ornamentale a bosso (parchi, giardini, cimiteri) hanno subito un forte declino a causa dell'introduzione accidentale in Europa della piralide asiatica *Cydalima perspectalis* (Walker, 1859). La larva di questa piralide è monofaga e si nutre di specie del genere *Buxus* (1). Le specie invasive possono costituire una grave minaccia alla biodiversità alterando l'equilibrio di interi habitat. Possono, inoltre, avere un impatto diretto sulle specie native attraverso la competizione, la predazione e in particolare come vettore di agenti patogeni (2).

Le ricerche in ambito micologico da noi condotte, ad oggi, ci hanno portato ad individuare segni di deperimento sulle foglie rimaste o sugli eventuali giovani germogli di individui già fortemente compromessi e defogliati dalla larva della piralide del bosso. Abbiamo eseguito esami diretti, isolato ripetutamente e identificato, attraverso un approccio polibacico che prevede analisi di tipo sia morfologico, sia molecolare, il fungo, di recente descrizione, *Neofusicoccum buxi* Crous ascritto alla famiglia delle *Botryosphaeriaceae* (3).

L'intento futuro è di cercare di stabilire: i) il ruolo di questo fungo; ii) se e quali altri funghi patogeni potrebbero essere implicati nella moria dei bossi in Liguria iii) se *Cydalima perspectalis* può essere vettore di agenti patogeni fungini.



Fig.1 Habitat 5110



Fig. 2. *Cydalima perspectalis*:
larva



Fig. 3 Stato di
deperimento del bosso



Fig.4 Segni sulle foglie

- 1) F.L.G Leuthardt., B. Baur (2013) Journal Applied Entomology, 137(6), 437-444.
- 2) T.R., New, (2016) Springer International Publishing, Switzerland, 221 pp.
- 3) T. Yang et al., (2016) Fungal Biology 121, 322-346.

Specie fungine associate agli attacchi di *Coraebus florentinus* (Herbst): xilofago emergente nei boschi di querce mediterranee

Claudia Pinna¹, Vitale Deiana¹, Andrea Lentini¹, Lucia Maddau¹, Lucio Montecchio², Benedetto T. Linaldeddu²

¹Dipartimento di Agraria, Università degli Studi di Sassari, Viale Italia 39, 07100 Sassari, Italia; ²Dipartimento Territorio e Sistemi Agro-Forestali, Università degli Studi di Padova, Viale dell'Università 16, 35020 Legnaro (PD) Italia.

In Europa nel corso degli ultimi decenni si è assistito, con sempre maggiore frequenza, alla diffusione di una malattia ad eziologia complessa denominata “oak decline” dovuta all’azione spesso sinergica di molteplici fattori avversi, tra i quali rivestono un ruolo chiave vari funghi patogeni e alcuni insetti fitofagi che con i loro attacchi, spesso esiziali, causano il progressivo declino vegetativo delle piante¹. Le specie quercine sempreverdi dell’area mediterranea sono senza dubbio quelle maggiormente interessate da questo fenomeno. Nei querceti della Sardegna, nel corso degli ultimi anni, oltre alle periodiche defogliazioni causate dai lepidotteri, sono stati riscontrati con sempre maggiore intensità attacchi del coleottero xilofago *Coraebus florentinus* (Herbst)². Le larve di questo buprestide, endemico dell’Europa centro-meridionale, scavano nelle branche gallerie discendenti a sezione ellittica che determinano l’interruzione del flusso linfatico con il conseguente disseccamento delle branche di 6-8 anni. In corrispondenza delle gallerie scavate dalle larve spesso è possibile osservare la presenza di ampie lesioni necrotiche dei tessuti legnosi causate da patogeni fungini che contribuiscono ad accelerare il disseccamento delle branche. Vista l’allarmante espansione dei fenomeni di deperimento nei boschi della Sardegna, la recrudescenza degli attacchi del *C. florentinus* e l’assenza di informazioni sui microrganismi fungini associati e/o veicolati da questo insetto, a partire dal 2016 è stata intrapresa una ricerca volta a studiare la componente fungina associata agli attacchi di *C. florentinus*. Le indagini sono state condotte in 6 formazioni boschive del centro nord Sardegna. Nello specifico da ciascun sito stati raccolti *at random* porzioni di branche sintomatiche da querce sia sempreverdi (leccio e sughera) sia caducifoglie (roverella) verificando la presenza degli stadi giovanili (larve e/o pupe) dell’insetto. Complessivamente sono stati prelevati 133 campioni vegetali, 12 larve, 5 pupe e 37 adulti (26 maschi e 11 femmine) ed utilizzati per l’isolamento dei microrganismi fungini su un substrato a base di patata-destrosio-agar (PDA). Le colonie fungine così ottenute sono state identificate su base sia morfologica sia genetica attraverso l’analisi delle sequenze nucleotidiche dell’intera regione degli spaziatori interni trascritti (ITS1 e ITS2) incluso il gene 5.8S del rDNA. Dagli isolamenti sono stati ottenuti complessivamente 149 isolati fungini appartenenti a 20 famiglie, 26 generi e 28 specie. In particolare, quattro specie fungine *Cryphonectria naterciae*, *Diplodia corticola*, *Dothiorella iberica* e *Gnomoniopsis paraclavulata* sono state isolate sia dai tessuti legnosi sia dall’insetto. *Dothiorella iberica* è stata isolata dalle gallerie di tutte e tre le specie quercine esaminate mentre *C. naterciae*, *D. corticola* e *G. paraclavulata* solo dalla quercia da sughero. Dai maschi adulti sono state isolate le specie *D. iberica* e *C. naterciae* mentre dalle femmine *D. corticola*. Nel complesso le ricerche effettuate hanno permesso di caratterizzare per la prima volta le comunità fungine associate agli attacchi *C. florentinus*, contribuendo ad ampliare le conoscenze sulla bio- ecologia di questo insetto emergente. Allo stesso tempo è emerso un possibile ruolo di *C. florentinus* nella diffusione di *D. corticola*, il principale patogeno fungino coinvolto nell’eziologia del deperimento delle querce in ambiente mediterraneo.

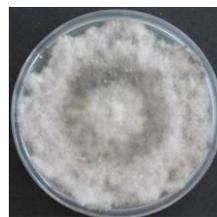


Fig. 1 Leccio con branche disseccate in seguito all’attacco di *C. florentinus*; Fig. 2. Adulto di *C. florentinus*; Fig. 3. Colonia di *D. corticola* su PDA; Fig. 4. Conidi di *D. corticola*.

- 1) B.T. Linaldeddu, B. Scanu, L. Maddau, A. Franceschini (2014) Forest Pathology 44(3): 191-200.
- 2) P. Luciano, A. Lentini, O.V. Cao (2007) Notiziario sulla protezione delle piante 21: 215-217.

Patogeni fungini associati al disseccamento del frassino maggiore nell'Italia nord-orientale

Benedetto T. Linaldeddu¹, Genny Fanchin¹, Francesco Bottecchia¹, Lucia Maddau², Lucio Montecchio¹

¹Dipartimento Territorio e Sistemi Agro-Forestali, Università degli Studi di Padova, Viale dell'Università 16, 35020 Legnaro (PD) Italia; ²Dipartimento di Agraria, Università degli Studi di Sassari, Viale Italia 39, 07100 Sassari, Italia.

Il disseccamento del frassino (*Ash dieback*) rappresenta attualmente la più grave malattia delle specie afferenti al genere *Fraxinus* in Europa¹. Le piante colpite mostrano un progressivo imbrunimento e appassimento delle foglie, il disseccamento dei getti apicali, lo sviluppo di rami epicormici e cancri sul fusto². La malattia è stata osservata per la prima volta agli inizi degli anni '90 del secolo scorso su frassino maggiore nella Polonia nord-orientale e da allora ha avuto una diffusione epidemica nei boschi, nelle aree verdi urbane e nei vivai di oltre 20 stati dell'Europa centro-settentrionale. In Italia, dopo la prima segnalazione avvenuta in Friuli-Venezia Giulia lungo il confine con la Slovenia nel 2009³, la malattia si è diffusa rapidamente in Veneto e Trentino-Alto Adige⁴. Pertanto, vista la sua allarmante espansione soprattutto nelle formazioni a prevalenza di frassino maggiore lungo la fascia submontana dell'Italia nord-orientale e le limitate informazioni sui microrganismi fungini associati, a partire dal 2017 è stata avviata una ricerca volta a isolare e caratterizzare sotto il profilo morfologico, patogenetico e biomolecolare le specie fungine coinvolte nell'eziologia della malattia. Le indagini sono state condotte in 6 formazioni boschive (aceri-frassineti) lungo la fascia submontana veneto-friulana. In ciascun sito è stata allestita un'area di saggio circolare di 10 m di diametro, valutato lo stato fitosanitario di tutti i frassini e da 10 giovani piante, individuate *at random*, è stato prelevato un campione (fusto o branca) con i sintomi tipici della malattia. I campioni prelevati sono stati utilizzati in laboratorio per l'isolamento diretto dei microrganismi fungini su un substrato a base di patata-destrosio-agar (PDA). Le colonie fungine sviluppatesi sono state identificate su base sia morfologica sia genetica attraverso l'analisi delle sequenze nucleotidiche dell'intera regione degli spaziatori interni trascritti (ITS1 e ITS2) incluso il gene 5.8S del rDNA. Dai 60 campioni analizzati sono stati ottenuti complessivamente 109 isolati fungini appartenenti a 9 famiglie: *Botryosphaeriaceae* (62 isolati), *Diaporthaceae* (18), *Nectriaceae* (10), *Didymellaceae* (9), *Helotiaceae* (5), *Diatrypaceae* (2), *Didymosphaeriaceae* (1), *Phaeosphaeriaceae* (1) e *Valsaceae* (1). In particolare, tre specie *Diplodia subglobosa*, *Diplodia fraxini* e *Diaporthe eres* sono state isolate con una frequenza elevata, mentre *Hymenoscyphus fraxineus*, la specie riportata più frequentemente come agente causale della malattia nei boschi dell'Europa centro-settentrionale è stata isolata in 4 siti e da 5 piante in totale. Dai saggi di patogenicità, effettuati inoculando un isolato rappresentativo delle specie fungine rinvenute con maggiore frequenza su semenzali di tre anni di età, astoni recisi del diametro 3-4 cm e foglie di frassino maggiore, è risultato che *Diplodia fraxini* è la specie più virulenta e l'unica in grado di riprodurre i sintomi della malattia osservati in natura. Nel complesso, le ricerche effettuate hanno permesso di individuare l'esistenza di nuove associazioni ospite-patogeno e di accertare che, a differenza di quanto finora riportato in letteratura, nell'eziologia della malattia sono coinvolti numerosi organismi fungini, molti dei quali afferenti alla famiglia delle *Botryosphaeriaceae*.



Figg. 1-3. Piante di frassino maggiore con lesioni necrotiche, cancri depressi e rami epicormici lungo il fusto; Fig. 4. Colonia di *Diplodia fraxini* su PDA; Fig. 5. Conidi di *D. fraxini*.

- 1) M. Pautasso, G. Aas, V. Queloz, O. Holdenrieder (2013) *Biol. Conserv.* 158, 37-49.
- 2) J. A. Downie (2017) *PLoS Pathog* 13(7): e1006381.
- 3) N. Ogris, T. Hauptman, D. Jurc, V. Floreancig, F. Marsich, L. Montecchio (2010) *Plant Disease* 94(1): 133.
- 4) S. Giongo, C.M. Oliveira Longa, E. Dal Maso, L. Montecchio, G. Maresi (2017) *iForest* 10: 871-878.

The nematode trapping fungi of tomato plant rhizosphere from Cameroon

Marie Daniele Ngongang¹, Paola Staffiere², Solveig Tosi², Fabrice Fekam Boyom¹

¹ Department of Biochemistry, Antimicrobial and Biocontrol agents unit. Laboratory for phytobiochemistry and medicinal plants studies, University of Yaoundé I (Cameroon)

² Department of Earth and Environmental Sciences, University of Pavia, Laboratory of Mycology, via S. Epifanio 14, 27100 Pavia, Italy

More than 80% of the global tomato area is in Africa and Asia ensuring about 70% of world output (FAO, 2012). One of the most important constraints for quality and quantity of tomato production are plant parasitic nematodes that can cause a damage estimated at US\$ 80 billion per year (Nicol et al., 2011). In Cameroon, tomato is reported to be the most cultivated fruit after sweet banana (Agri-stat, 2012). To control nematodes infection of tomato crops, several approaches are currently used among which, chemical nematicides are widely implemented. However, their toxicity on human being, animal and environment has emphasized the need for alternative approaches for nematodes control. Soil beneficial microorganisms could be used to reduce the effect of nematodes on tomato plants since they can be efficient and non-polluting (Goswami, 2008; Luambano et al., 2015). Among them, the fascinating nematophagous fungi able to capture nematodes by adhesive nets, rings, and knobs can be a promising resource. Data of their natural presence in African soil are completely lacking. The present research aimed at evaluating the presence of nematode trapping fungi in the rhizosphere of tomato plants from a wide cultivated area near Yaoundé in Cameroon. Three species were abundantly found in each rhizosphere sample: *Arthrobotrys oligospora* Fresen, *Arthrobotrys musiformis* Drechsler and *Monacrosporium lysipagum* (Drechsler) Subram. These species represent the first record for Africa. Their nematode trapping ability was tested in relation to the various larval stages of the model nematode *Caenorhabditis elegans*. For this purpose we proceeded with the synchronization of the larval stages of the nematodes, with the aim of obtaining the whole population of nematodes at a single larval stage (L1, L2, L3, L4). The results showed that *A. oligospora* and *A. musiformis* were more active compared to *M. lysipagum*. Trapping activity was stronger on larval stages from L2 to L4. The initial larval stage (L1) is little and more active, and hardly to be trapped. Instead the fungus can easily capture the more advanced larval stages.

Agri-stat (2012). Annuaire des statistiques du secteur agricole. Campagnes 2009 et 2010. MINADER / DESA: 19p.

Nicol, J.M., Turner, S.J., Coyne, D.L., Den Nijs, L., Hockland, S. & Maafi, Z.T. (2011). Current nematode threats to world agriculture. In: Jones, J.T., Gheysen, G. & Fenoll, C. (Eds). Genomics and molecular genetics of plant-nematode interactions. Heidelberg, Germany, Springer, pp. 21-44.

Goswami J., Pandey R., Tewari J. and Goswami B., (2008). Management of root knot nematode on tomato through application of fungal antagonists, *Acremonium strictum* and *Trichoderma harzianum*. *Journal of Environmental Science and Health*. Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes, 43(3), 237-240

Luambano N., Narla R., Wanjohi w., Kimenju J. and Kerry B., (2015). Integrated management of root-knot nematodes in a tomato-maize crop system using the biocontrol fungus *Pochonia clamydosporea*. *Crop Protection*, 71: 45-50.

Osservazioni preliminari sull'interazione fra *Fusarium solani*, *Neofusicoccum batangarum* ed *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., 1768

Santella Burruano¹, Selene Giambra¹, Giorgio Gusella¹, Gaetano Conigliaro¹, Giuseppe Surico²

¹Department of Agricultural, Food and Forest Sciences, University of Palermo, Viale delle Scienze, 90128 Palermo, Italy; ² Dipartimento di Scienze Produzioni Agroalimentari e dell'Ambiente (DISPAA), University of Florence, Piazzale delle Cascine, 28, 50144 Firenze, Italy

Il fico d'India (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., 1768.), pianta xerofila della famiglia delle Cactacee, ha origini messicane. Introdotto in Europa dopo la scoperta del Nuovo Continente si è diffuso rapidamente in tutto il bacino del Mediterraneo, dove si è naturalizzato divenendone una peculiarità paesaggistica. Colture di *O. ficus-indica* si trovano in molti paesi di quasi tutti i continenti (Africa, Brasile, Cile, Italia, Medio Oriente, Stati Uniti, Tunisia, Turchia). In Italia, il primato produttivo (90% circa) spetta alla Sicilia, dove la coltivazione delle 3 varietà, Muscaredda, Sanguigna e Sulfarina, è concentrata nelle aree collinari di San Cono e di Belpasso (CT), Santa Margherita Belice (AG), Roccapalumba (PA) e nelle isole minori (1). Il fico d'India, sebbene rustico e adattabile a diverse condizioni pedologiche, può essere soggetto ad avversità di natura abiotica e biotica (numerosi insetti, alcuni fitoplasmi e batteri e diversi funghi). Fra le specie fungine osservate in campo, e presenti in Italia, si annovera *Lasiodiplodia theobromae* (Syn.: *Botryodiplodia theobromae*) causa del marciume dei cladodi e dei frutti, riportata come "Cladode and fruit rot" (2), la stessa malattia, presumibilmente, rinvenuta negli anni '70 a Linosa, attribuita a *Botryosphaeria ribis* (Syn.: *Dothiorella ribis*) e denominata "cancro gommoso" dei cladodi (3). Studi recenti segnalano sia una intensa recrudescenza della malattia a Linosa sia la nuova comparsa a Lampedusa, Favignana ed Ustica e indicano la specie *Neofusicoccum batangarum* quale agente eziologico (4). Inoltre, colonie di *Fusarium solani* sono state isolate frequentemente da cladodi sintomatici provenienti dalle isole pelagie. Si è quindi ritenuto opportuno indagare sull'interazione fra le due specie fungine e l'ospite, *in vitro* e *in planta*. A tal proposito, isolati di *F. solani* e di *N. batangarum* sono stati inoculati su cladodi sani, singolarmente e in aggregazione (contemporanea e a distanza di 30 giorni). L'evoluzione delle infezioni artificiali è stata valutata rilevando, dopo 5 e 15 giorni, le dimensioni delle lesioni. In entrambi i rilievi i cladodi inoculati con *F. solani*, singolarmente e in associazione con *N. batangarum* dopo 30 giorni, non hanno mai mostrato lesioni imputabili al cancro gommoso, evidenti invece, già al primo rilievo, sui cladodi inoculati con le suddette specie fungine, singolarmente e in contemporanea combinazione. Le colture duali, inoltre, mostravano una netta interazione competitiva. Questi risultati, sebbene preliminari, sembrano escludere *F. solani* dall'eziologia del cancro gommoso dei cladodi e inducono ad ipotizzare una competizione fra le due specie fungine, per spazio e/o risorse nutritive (5). Ulteriori studi sono attualmente *in itinere* allo scopo di confermare il fenomeno e anche per accertare il tipo di interazione fra i bionti.



Fig.1. Controllo



Fig.2. Lesione da *F.solani*



Fig.3-4. Lesioni da *N. batangarum* dopo 5 e 15 giorni

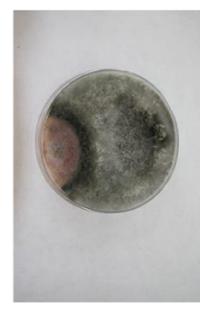


Fig.5. Competizione

- 1) Giuseppe Surico (2017) <http://www.georgofili.info/detail.aspx?id=4281>
- 2) P. Inglese, C. Mondragon, A. Nefzaoui, & C. Saenz, (2017) Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).
- 3) V. Somma, B. Rosciglione, G. Martelli, (1973). *Tecnica Agricola* 25: 437
- 4) L. Schena, S. Burruano, S. Giambra, G. Surico A. Pane, M. Evoli, G. Magnano di San Lio, & S.O. Cacciola, (2018). *Plant Disease*, 102(2), 445-445.
- 5) L. A. Castrillo, M. H. Griggs, & J. D. Vandenberg, (2016). *Biological control*, 103, 138-146.

Ruolo di *Gnomoniopsis castaneae* nei castagneti della Sardegna

Salvatore Seddaiu¹, Anna Cerboneschi¹, Clizia Sechi¹, Antonietta Mello²

¹Servizio della Ricerca per la Sughericoltura e la Selvicoltura, Agris Sardegna, Via Limbara 9, 07029 Tempio Pausania (Italia); ²Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante (IPSP), SS Torino - CNR, V.le Mattioli 25, 10125 Torino (Italia)

In Sardegna il castagno è coltivato principalmente per la produzione di castagne e per la produzione di legname da opera ed ha sempre costituito un importante fonte di reddito per numerose aree rurali. Nel 2014, durante un'indagine sullo stato di salute delle foreste di castagni in Sardegna, sono state osservate, in agro dei comuni di Aritzo e Belvì (NU), galle del Cinipide del Castagno, *Dryocosmus kuriphilus*, con lesioni visibili, nerastre e leggermente depresse. Al fine di individuare l'agente patogeno responsabile delle necrosi delle galle sono stati condotti dei campionamenti e, successivamente, gli isolamenti in laboratorio. Le specie isolate sono state identificate sotto il profilo morfologico e molecolare. La specie isolata più frequentemente è stata identificata come *Gnomoniopsis castaneae* [1], che era già stata segnalata in Sardegna come agente di cancri sul nocciolo [2].

G. castaneae, attualmente viene riscontrato nell'ecosistema castanicolo sia come endofita e, dove le condizioni climatiche lo permettono, in particolare la temperatura, come agente di cancri sulla parte vegetativa del castagno o come principale agente di marciume delle castagne [3,4]. Nelle castagne, la malattia è spesso non visibile esternamente, in quanto i sintomi si manifestano come lesioni brune nella parte interna del frutto e questo può comportare la presenza sul mercato di un prodotto di scarsa qualità. In Sardegna negli anni recenti, dopo l'efficacia della lotta biologica contro il cinipide galligeno che ha portato ad un incremento della produzione delle castagne, sia i produttori che i consumatori segnalano grosse perdite a causa del marciume.

Date queste premesse, nel 2016, si è voluto approfondire sulla presenza di danni alle produzioni di castagne nelle stesse aree castanicole indagate precedentemente e testare dei metodi di controllo della diffusione degli stessi nella fase di conservazione del prodotto. Allo scopo sono state raccolte 1200 castagne da cui sono stati isolati dei miceli. L'identificazione degli isolati si è basata sulle analisi dei loro principali caratteri morfologici e sulle analisi molecolari delle sequenze del gene ITS dell' rDNA fungino. *G. castaneae* si è confermato il principale agente di marciume delle castagne.

- 1) Seddaiu S., Cerboneschi A., Sechi C., Mello A. (2017). *Gnomoniopsis castaneae* associated with *Dryocosmus kuriphilus* galls in chestnut stands in Sardinia (Italy). *iForest* 10: 440-445.
- 2) Linaldeddu B.T., Deidda A., Scanu B., Franceschini A., Alves A., Abdollahzadeh J., Phillips A.J.L. (2016). Phylogeny, morphology and pathogenicity of *Botryosphaeriaceae*, *Diatrypaceae* and *Gnomoniaceae* associated with branch diseases of hazelnut in Sardinia (Italy). *European Journal of Plant Pathology* 146: 259-279.
- 3) Lione G., Giordano L., Ferracini C., Alma A., Gonthier P. (2016). Testing ecological interactions between
- 4) *Gnomoniopsis castaneae* and *Dryocosmus kuriphilus*. *Acta Oecologica* 77: 10-17.
- 5) Maresi G., Oliveira Longa C.M., Turchetti T. (2013). Brown rot on nuts of *Castanea sativa* Mill: an emerging disease and its causal agent. *iForest* 6: 294-301.

Effetto di *Aureobasidium pullulans* sugli agenti di muffa verde di *Pleurotus ostreatus*

Roberta Roberti, Alessandra Di Francesco, Gloria Innocenti

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-alimentari, *Alma Mater Studiorum*, Università degli Studi di Bologna, Viale G. Fanin, 46, 40127 Bologna

La produzione di *Pleurotus ostreatus*, uno dei funghi maggiormente coltivati in Europa, è ridotta significativamente dalla “muffa verde”, una malattia fungina causata da ascomiceti appartenenti al genere *Hypocrea* (anamorfo *Trichoderma*) ed in particolare da *T. pleuroti* e *T. pleuroticola*. La malattia si manifesta in momenti diversi del ciclo colturale, a partire dal momento successivo alla semina fino a tutta la fase di produzione, ostacolando l'accrescimento del micelio di *P. ostreatus*. La difesa dalla “muffa verde” viene attuata attraverso misure di tipo preventivo e con l'impiego di prochloraz, l'unico fungicida attualmente ammesso in fungaia nei confronti delle malattie dei funghi coltivati. Tuttavia, nonostante l'impiego costante di prochloraz nelle aziende di coltivazione di *P. ostreatus*, la muffa verde è in aumento. Considerata l'attuale normativa, Direttiva CE 128/2009, che prevede l'impiego prioritario di mezzi di lotta alle malattie sostenibili per l'ambiente e per l'uomo, con questa ricerca si è inteso studiare la possibilità d'impiego di lieviti ad azione antagonistica nei confronti dei patogeni agenti di “muffa verde” di *P. ostreatus*. A tale scopo, sono stati impiegati due ceppi del lievito *Aureobasidium pullulans* (L1 e L8) provenienti dalla collezione del DISTAL-CRIOF di UNIBO. L'attività dei due microrganismi è stata analizzata: i) nei confronti di *T. pleuroti* e di *T. pleuroticola*, *in vitro*; ii) nei confronti della crescita di *P. ostreatus*, *in vivo*, in presenza di inoculazione artificiale dei due patogeni a due diverse concentrazioni (1×10^2 e 1×10^5 spore/mL). Le prove effettuate *in vitro* hanno dimostrato che i due ceppi di *A. pullulans*, hanno inibito lo sviluppo e la sporulazione di *T. pleuroti* e di *T. pleuroticola* attraverso la produzione di metaboliti volatili e non volatili. Inoltre, i due lieviti hanno stimolato la crescita di *P. ostreatus* probabilmente per l'aumentato il pH del substrato di crescita (in media da 5.49 a 6,5). *In vivo*, i due lieviti, ed in particolare il ceppo L8, hanno contenuto significativamente la muffa verde causata da *T. pleuroti* e da *T. pleuroticola* inoculati separatamente alle due concentrazioni, determinando un incremento della colonizzazione del substrato da parte di *P. ostreatus*.

Effetto di prochloraz sulla muffa verde di *Pleurotus ostreatus*: prova *in vivo*

Gloria Innocenti, Matteo Montanari, Hillary Righini, Roberta Roberti

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-alimentari, Università degli Studi di Bologna, viale Fanin, 46 Bologna

La muffa verde è una delle malattie fungine più pericolose per la coltivazione di *Pleurotus ostreatus*, è diffusa in tutte le aree di produzione del fungo, Italia compresa. Gli agenti della malattia sono *Trichoderma pleuroti* (ex *T. pleurotum*), *T. pleuroticola* e *T. harzianum*, il cui ruolo non è chiaro. I sintomi tipici della malattia consistono nella presenza di aree di colore verde e di aspetto polverulento, per la presenza molto abbondante di spore, sulla superficie del substrato di crescita del fungo costituito da paglia di frumento. In un prova svolta in camera di crescita in condizioni simili a quelle della fungaia, è stato studiato l'effetto del prochloraz sulla malattia. Il fungicida è stato utilizzato a tre dosi (0,05, 0,025 e 1,25 $\mu\text{L L}^{-1}$, quest'ultima corrispondente alla dose di campo). Sono state utilizzate vaschette di plastica (15x10x8 cm), poste all'interno di sacchetti, contenenti il substrato pastorizzato ed inoculato con il "seme" commerciale di *P. ostreatus* Spoppo, trattato con prochloraz ed inoculato separatamente con i ceppi di *Trichoderma*. I ceppi utilizzati provengono dalla collezione del dipartimento, sono stati isolati dal substrato di crescita di *P. ostreatus* di una fungaia in cui si era verificato un grave attacco della malattia. I funghi patogeni sono stati utilizzati a due concentrazioni (1×10^2 e $1 \times 10^5 \mu\text{L}^{-1}$). L'isolato di *T. harzianum* utilizzato nella prova è stato re-identificato secondo Chaverri et al.(2015) come *T. guizhouense*. Infine è stato studiato *in vitro* anche il meccanismo di patogenicità di *Trichoderma* vs *P. ostreatus*. Dalla prova è emerso che nelle condizioni sperimentali in cui si è operato i) *T. guizhouense* non è agente di muffa verde, anche quando inoculato alla densità più alta; ii) la dose di campo di prochloraz è stata efficace contro la malattia causata sia da *T. pleuroti*, sia da *T. pleuroticola*; iii) *T. pleuroti* è più aggressivo di *T. pleuroticola*; iv) il meccanismo di patogenicità si basa sulla competizione per lo spazio e i nutrienti, non è stata rilevata antibiosi o attività di metaboliti volatili e non.

Caratterizzazione morfo-molecolare di basidiocarpi di *Myriostoma coliforma* (Dicks.) Corda (*Geasteraceae*, *Basidiomycota*) provenienti dall'Umbria e dalla Toscana

Paola Angelini¹, Andrea Arcangeli¹, Daniele Antonini⁴, Massimo Antonini⁴, Giancarlo Bistocchi¹, Emma Bricchi¹, Diego Cantini², Rosalba Padula³, Roberto Venanzoni¹, Elena Salerni², Claudia Perini²

¹ Department of Chemistry, Biology and Biotechnology, University of Perugia, Perugia, Italy; ² Department of Life Sciences, BIOCONNET, Biodiversity and CONservation NETwork, University of Siena, Siena, Italy; ³ Arpa Umbria, via Pievaiola str. San Sisto, 06132 Perugia, Italy. ⁴ Associazione Micologica Agaricwatching, Via Ferrucci 626, 51036 Larciano (PT), Italia

Di recente la tassonomia fungina è stata rivoluzionata dall'uso di tecniche molecolari, che sono state particolarmente preziose nel rivelare taxa criptici o semi-criptici all'interno di specie complex (1). Il genere *Myriostoma* Desv., è stato considerato fino a poco tempo fa come monotipico (2), comprendente la singola specie *Myriostoma coliforme* (Dicks.) Corda, ampiamente diffusa in Asia, nel Nordamerica e in Europa, in particolar modo nel bacino mediterraneo. In Italia, fino a poco tempo fa, erano note solo poche osservazioni relative ad alcune raccolte provenienti dal nord e sud Italia, mentre mancavano dati per il centro. Grazie al recente lavoro di Angelini et al. (3) è emerso che la specie risulta presente anche in Umbria ed è conservata nell'erbario delle exsiccatae Peru-Mic (Dip.to di Chimica, Biologia e Biotecnologia, UNIPG) come campioni provenienti da due località della provincia di Perugia (Collestrada e Isola Polvese).

M. coliforme è considerata una specie rara sia a livello nazionale che europeo, proposta per la sua valutazione del rischio di estinzione nella "Lista Rossa Fungina Globale IUCN" (4).

Sulla base di uno studio dei caratteri morfologici e molecolari, il genere *Myriostoma* è oggi considerato come politipico, all'interno del quale sono state distinte quattro specie: *M. areolatum* comb. & stat. nov., *M. calongei* sp. nov., *M. capillisporum* comb. & stat. nov. e *M. coliforme* (5).

Tutto questo ha spinto a cercare nuove informazioni anche per la Toscana dove *M. coliforme* risulta presente in varie Province e diversi campioni sono ora conservati nell'Herbarium Universitatis Senensis.

L'obiettivo principale del presente studio è quello di applicare un'analisi morfologica combinata a un'analisi molecolare a quei campioni identificati come *M. coliforme* provenienti dall'Umbria e dalla Toscana, per indagare se il nome specifico è stato ben attribuito, o applicato a specie criptiche presenti all'interno del genere *Myriostoma*.

- 1) Vizzini, M. Della Magiora, F. Tolaini, E. Ercole (2013) Mycol Progress., 12, 375-381
- 2) M. Sarasini (2005) A.M.B. Fondazione Centro Studi Micologici, Trento
- 3) P. Angelini, A. Arcangeli, G. Bistocchi, A. Rubini, R. Venanzoni, C. Perini (2017) Plant Biosyst., 151, 915-923
- 4) Ivancevic (2014) The Global Fungal Red List Initiative (http://iucn.ekoo.se/iucn/species_view/122233)
- 5) J.O. Sousa, L.M. Suz, M.A. García, D.S. Alfredo, L.M. Conrado, P. Marinho, A.M. Ainsworth, I.G. Baseia, M.P. Martín (2017) PLoS ONE, 12, e0177873

Specie fungine rare o poco comuni della Cascata delle Marmore (TR, Umbria)

Roberto Venanzoni, Enrico Bini, Paola Angelini

Department of Chemistry, Biology and Biotechnology, University of Perugia, Perugia, Italy

La Cascata delle Marmore, per la grande ricchezza biologica di specie e di habitat prioritari concentrati in circa 86 ettari, è compresa all'interno dell'area naturale protetta regionale Parco Fluviale del Nera e riconosciuta a livello europeo come Zona Speciale di Conservazione (ZSC) e Zona di Protezione Speciale (ZPS) della Rete Ecologica Europea Natura 2000 (Direttiva "Habitat" 92/43/CEE).

Da circa dieci anni è stata avviata un'attività di ricerca, in particolare nell'area escursionistica della Cascata delle Marmore, che ha portato al censimento di ben oltre cento specie di funghi epigei, alcune delle quali piuttosto rare o poco comuni.

Il presente studio riporta nuovi dati corologici di due rari basidiomiceti appartenenti alla famiglia delle *Psathyrellaceae*, fino ad ora mai segnalati per l'Umbria (1): *Coprinopsis strossmayeri* (Schulzer) Redhead, Vilgalys & Moncalvo e *Parasola conopilus* (Fr.) Örstadius & E. Larss.

Alcuni campioni delle specie sopra menzionate, provenienti dalla Cascata delle Marmore, sono conservati nell'erbario delle exsiccatae Peru-Mic (Dip.to di Chimica, Biologia e Biotecnologia, UNIPG).

Le specie sono state identificate grazie alla consultazione di libri e articoli scientifici specialistici per l'identificazione dei funghi, tra cui: Boccardo et al. (2), Badalyan et al. (3), Uljé (4).

I nomi delle specie e le abbreviazioni dell'autore seguono l'indice Fungorum (<http://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp>) e il dizionario dei funghi (5). I rari o poco comuni esemplari delle specie, sono supportati da appropriate note di campo e da una minuziosa descrizione delle loro caratteristiche macro e micromorfologiche, al fine di consentire ulteriori revisioni.

C. strossmayeri e *P. conopilus* sono specie poco comuni, in Umbria ma anche in Italia, e necessitano della conservazione dei loro habitat affinché possano continuare a sopravvivere a lungo.

- 1) P. Angelini, A. Arcangeli, G. Bistocchi, A. Rubini, R. Venanzoni, C. Perini (2017) *Plant Biosyst.*, 151, 915-923
- 2) F. Boccardo, M. Traverso, A. Vizzini, M. Zotti (2008) Bologna, Italy: Zanichelli, p. 622
- 3) S.M. Badalyan, K. Szafranski, P.J. Hoegger, M. Navarro-González, A. Majcherczyk, U. Kües (2011) *Diversity* 3,136-154
- 4) C.B. Uljé (<http://www.grzyby.pl/coprinus-site-Kees-Uljee/species/Coprinus.htm>).
- 5) P.M. Kirk, P.F. Cannon, J.A. Stalper (2008) Wallingford CAB International, pp. 784

Lista degli autori

	pg
Albertini E.	19, 20
Amicucci A.	1, 22
Angelini P.	31, 32
Anselmi A.	3
Anselmi N.	3, 21
Antonini D.	5, 31
Antonini M.	5, 31
Arcangeli A.	31
Baciarelli Falini L.	19, 20
Badano D.	23
Baiguera R.M.	4
Baldi F.	22
Barbato D.	7
Belcuore F.	1
Bellari C.	5
Benucci G.M.N.	19, 20
Bernicchia A.	16
Bini E.	32
Bistocchi G.	31
Blieux A-L.	9
Bottecchia F.	25
Bovio E.	14
Boyom F. F.	26
Brescia F.	4
Bricchi E.	31
Brusoni M.	16
Bucchini A.	1
Burruano S.	27
Cantini D.	6, 31
Capello M.	12
Cecchi G.	12, 17, 23
Ceci A.	8, 10
Carboneschi A.	28
Černík M.	8
Cesaroni V.	16
Chiarantini L.	22
Chiellini C.	18
Clericuzio M.	6
Cocuzza C.E.	14
Comite A.	11
Conigliaro G.	27
Corana F.	16
Cusaro C.M.	16
Cutroneo L.	12
D'Aguzzo M.N.	7
Daccò C.	13

De Negri I.	4
Deiana V.	24
d'Errico G.	18
Di Francesco A.	29
Di Piazza S.	12, 17, 23
Dima B.	1
Donnini D.	19, 20
Echairi A.	9
Fabrini G.	21
Faè M.	13
Fanchin G.	25
Felici B.	10
Garzoli L.	14
Giambra S.	27
Giampieri L.	1
Gianchino C.	2
Girometta C.	4, 16
Greco G.	12, 17
Gribaudo G.	14
Guglielminetti M.L.	16
Guida M.	8
Guidori U.	2
Gusella G.	27
Hellio C.	14
Imola P.	21
Infantino A.	18
Innocenti G.	29, 30
Iotti M.	2, 15, 22
Kawagishi H.	16
Lancioni H.	20
Landi M.	7
Landi S.	18
Lazzeri L.	18
Lentini A.	24
Leonardi M.	2
Leonardi P.	2, 15, 22
Linaldeddu B.T.	24, 25
Lombi V.	3
Luganini A.	14
Maddau L.	24, 25
Maggi O.	10
Malusà E.	8
Mannucci B.	16
Mariotti M.	23
Marozzi G.	19, 20
Mehiri M.	14
Mello A.	28

Meoni A.M.	21
Mocali S.	18
Montanari M.	30
Montecchio L.	24, 25
Musumeci R.	14
Ngongang M.D.	26
Onofri A.	19
Ortega-Calvo J.J.	9
Pacioni G.	2
Padula R.	31
Perini C.	5, 6, 7, 16, 31
Persiani A.M.	8, 10
Piana F.	22
Piattoni F.	15
Picco A.M.	4, 16
Pinna C.	24
Pinzari F.	10
Poli A.	9, 14
Ponce Á.	7
Prigione V.	9
Puglisi E.	9
Puliga F.	15
Raggi L.	20
Regnier T.	9
Righini H.	30
Roberti R.	29, 30
Romagnolo A.	9
Ronconi L.M.	4
Rosa E.	11
Rossi C.	1
Rossi P.	16
Rovelli L.	4
Russo F.	8, 10
Salerni E.	5, 6, 7, 16, 31
Saraceni A.	3
Saveri C.	7
Savino E.	4, 16
Sechi C.	28
Seddaiu S.	28
Siciliano A.	8
Sitta N.	20
Snabl M.	2
Spina F.	9
Spinelli V.	10
Spini G.	9
Staffiere P.	26
Suriano E.	20

Surico G.	27
Tartanus M.	8
Tosi S.	26
Varese G.C.	9, 14
Venanzoni R.	31, 32
Ventura F.	17
Villa P.	14
Vittori Antisari L.	22
Zambonelli A.	2, 15, 22
Zanellati A.	9
Zotti M.	11, 12, 17, 23