

---

**L'inoculazione miceliare per la produzione di piantine micorrizzate con tartufo**

M. Iotti, A. Macrì e A. Zambonelli

*Dipartimento di Protezione e Valorizzazione Agroalimentare, via Fanin 46, 40127  
Bologna*

La coltivazione dei tartufi richiede la produzione di piante infettate in serra ed il loro successivo trapianto in ambienti idonei per lo sviluppo di tali funghi. Uno dei maggiori problemi della tartuficoltura si riscontra nella produzione di piantine che spesso risultano poco o per nulla infettate con la specie di *Tuber* inoculata od addirittura contaminate con altre specie fungine ectomicorriziche. Ciò è dovuto alle tecniche di micorrizzazione attualmente impiegate che si basano ancora sui metodi d'inoculazione sporale e per approssimazione radicale messi a punto negli anni 70-80. La germinazione delle spore di tartufo è estremamente aleatoria e dipende da molti fattori biotici ed abiotici ancora sconosciuti. Solo attraverso l'utilizzo di moderne biotecnologie, basate su metodi d'inoculazione miceliare, si possono notevolmente migliorare le tecniche di produzione di piantine micorrizzate con tartufo.

In un recente passato sono stati fatti numerosi tentativi di isolamento dei miceli di *Tuber* ma questi spesso crescevano troppo lentamente per poter ottenere delle fonti d'inoculo idonee per gli scopi di micorrizzazione. Inoltre questi spesso erano isolati da micorrize e non esistevano strumenti idonei per verificarne l'identità. Solo ultimamente sono state ottenute colture pure di *T. borchii*, di *T. macrosporum*, di *T. uncinatum*, di *T. melanosporum*, di *T. brumale* e di *T. rufum* (Iotti *et al.*, 2002) la cui identità è stata confermata con metodi molecolari e ne sono state descritte le relative caratteristiche morfologiche. Successivi studi sulle esigenze nutrizionali delle diverse specie di *Tuber* isolate hanno permesso di mettere a punto dei mezzi nutritivi particolarmente idonei alla loro crescita in coltura.

Oltre ai metodi già sviluppati per la sintesi *in vitro* delle micorrize di *Tuber* (Sisti *et al.*, 1998; Giomaro *et al.*, 2001), recentemente si stanno mettendo a punto tecniche per la produzione massale di piante tartufigene in serra. I primi risultati positivi sono stati ottenuti con *T. rufum* e con *T. melanosporum*. L'inoculazione miceliare oltre che a garantire la produzione su larga scala di piante micorrizzate "sicure", potrà permettere la selezione genetica dei ceppi fungini più adatti alle diverse combinazioni ospite-simbionte, alle diverse condizioni ecologiche delle stazioni d'impianto e caratterizzati da produzioni di ascocarpi quali e quantitativamente superiori.

Iotti M, Amicucci A, Stocchi V, Zambonelli A (2002) Morphological and molecular characterization of mycelia of some *Tuber* species in pure culture. *New Phytologist* 155: 499-505.

Giomaro G, Sisti D, Zambonelli A, Amicucci A, Cecchini M, Comandini O, Stocchi V (2002) Comparative and molecular characterization in *Tilia americana* and *Quercus pubescens* with *Tuber brumale*. *FEMS Microbiology Letters* 216: 9-14.

Sisti D, Giomaro G, Zambonelli A, Rossi I, Ceccaroli P, Citterio B, Benedetti PA (1998) *In vitro* mycorrhizal synthesis of micropropagated *Tilia platyphyllos* Scop. plantlets with *Tuber borchii* Vittad. mycelium in pure culture. *Acta Horticulture* 457: 379-387.

*Ricerca finanziata dalla Regione Emilia-Romagna e dal CNR (Progetto Strategico "Biotecnologia dei funghi eduli ectomicorrizici '9).*

Risposte molecolari alla deprivazione di azoto nell'ascomicete ectomicorrizico *Tuber borchii*: implicazioni ecofisiologiche e agroindustriali

S. Ottonello<sup>1</sup>, B. Montanini<sup>1</sup>, A. Bolchi<sup>1</sup>, P. Bonfante<sup>2</sup>, M. Chalot<sup>3</sup>, F. Martin<sup>3</sup>  
<sup>1</sup>Dipartimento di Biochimica e Biologia Molecolare, Università di Parma

<sup>2</sup>Dipartimento di Biologia Vegetale, Università di Torino  
Unité Mixte de Recherche INRA-Université Henri Poincaré~ Nancy

Nei funghi, la deprivazione di azoto è uno degli stimoli più generali e conservati che porta a compensazioni metaboliche e/o a modificazioni morfogenetiche volte ad indurre una migliorata capacità di acquisizione dei precursori di nutrienti azotati. La maggior parte di questi eventi sono accompagnati (e probabilmente determinati) dalla sovraespressione di proteine di superficie, associate alla parete o secrete. La deprivazione di azoto ha altre importanti implicazioni ecofisiologiche legate allo scambio azoto/carbonio con la pianta ospite e all'instaurarsi della simbiosi micorrizica. Abbiamo esaminato le risposte alla deprivazione di azoto nell'ascomicete simbiotico *Tuber borchii* utilizzando sia un approccio mirato, volto all'isolamento ed alla caratterizzazione funzionale di alcuni componenti chiave dell'assimilazione dell'azoto (e.g., trasportatori dell'ammonio e del nitrato, glutammina sintetasi; Montanini et al., 2002, Montanini et al., 2003), sia un approccio "non mirato" basato sull'impiego di macroarray contenenti 2100 cDNA (EST) di *T. borchii*. I dati ottenuti mostrano chiaramente che le risposte più precoci alla deprivazione di azoto riguardano soprattutto l'induzione di mRNA codificanti per proteine di superficie o secrete, coinvolte nella modificazione della superficie ifale, piuttosto che l'induzione di specifici componenti della via di assimilazione dell'azoto. L'unico mRNA "precoce" finora identificato funzionalmente codifica per un fosfolipasi A<sub>2</sub> Ca<sup>2+</sup>-dipendente (ThSP 1), appartenente ad un nuovo gruppo di enzimi (gruppo XIII), unico dei microorganismi filamentosi (Soragni et al., 2001).

Sembrano dunque esistere due risposte radicalmente diverse alla deprivazione di azoto in *T. borchii*: una risposta "precoce", che determina, presumibilmente, una modificazione della superficie cellulare; ed una risposta "tardiva" volta a migliorare la capacità di assimilazione dell'azoto. Dal momento che la deprivazione di azoto è uno degli stimoli che favoriscono la micorrizzazione, i dati emersi da questa analisi potrebbero anche fornire nuove informazioni sugli eventi che precedono la fase simbiotica e che potrebbero predisporre il fungo, sia dal punto di vista metabolico che morfologico, ad una interazione produttiva con il proprio partner simbiotico.

Montanini, B., Moretto, N., Soragni, E., Percudani, R., Ottonello, S., A high-affinity ammonium transporter from the mycorrhizal ascomycete *Tuber borchii*. *Fungal Genetics and Biology* (2002), 36: 22-34.

Montanini, B., Betti, M., Marquez, A. J., Balestrini, R., Bonfante, P., Ottonello, S., Distinctive properties and expression profiles of glutamine synthetase from a plant symbiotic fungus. *Biochem. J.* (2003) 373: 357-68.

Soragni, E., Bolchi, A., Balestrini, R., Gambaretto, C., Percudani, R., Bonfante, P., Ottonello, S. (2001). A nutrient-regulated, dual localization phospholipase A<sub>2</sub> in the symbiotic fungus *Tuber borchii*. *EMBO J.* 20 5079-5090.

Ricerca finanziata dalla Regione Emilia-Romagna e dal CNR (Progetto Strategico "Biotecnologia dei funghi eduli ectomicorrizici").

## Metodi molecolari per l'identificazione dei tartufi

**L. Bertini** ~, I. Rossi ~, E. Barbieri ~, A. Zambonelli<sup>2</sup> e V. Stocchi

<sup>1</sup>*Istituto di Chimica Biologica Giorgio Fornaini, Università degli Studi di Urbino, Via Saffi 2, 61029 Urbino (PU), Italy.*

<sup>2</sup>*D4partimento di Protezione e Valorizzazione Agroalimentare, via Fan in 46, 40127 Bologna*

I tartufi vengono solitamente classificati sulla base delle caratteristiche morfologiche dei corpi fruttiferi, quali la forma e dimensioni dell'asco, il numero, la forma, le dimensioni e le ornamentazioni delle spore, la struttura del pendio e della gleba. La loro identificazione risulta, tuttavia, molto difficile, durante la fase miceliare e simbiotica (ectomicorriza) in cui sono spesso assenti caratteri morfologici distintivi.

Negli ultimi anni sono stati sviluppati metodi molecolari capaci di identificare diverse specie di tartufo in tutte le fasi del ciclo biologico. In particolare questi metodi sono stati messi a punto per le specie di tartufi, sia bianchi che neri, più importanti dal punto di vista commerciale e più utilizzate nella produzione di piante micorrizate.

Per l'identificazione delle specie sono state utilizzate tecniche che sfruttano diverse applicazioni della reazione a catena della polimerasi (PCR) che rende questi metodi altamente sensibili e riproducibili. La maggior parte dei marcatori molecolari sono stati selezionati grazie allo studio di particolari regioni del genoma: i geni ribosomiali. Le caratteristiche peculiari di questi geni è che sono presenti in copie multiple nel genoma, permettendo l'identificazione anche quando le quantità di DNA isolato sono limitate, inoltre presentano regioni (ITS: Internal Transcribed Spacers) con un'elevata variabilità di lunghezza e di sequenza tra specie filogeneticamente vicine, consentendo di effettuare studi di variabilità interspecifica.

I metodi molecolari rappresentano dei mezzi importanti per un'identificazione certa di tartufi freschi e conservati, infatti queste tecniche possono essere impiegate anche per identificare la specie di tartufo contenuta in prodotti alimentari anche molto trattati ed elaborati. Inoltre, rappresentano l'unico strumento sicuro per l'identificazione dei miceli, sempre più utilizzati in processi biotecnologici che portano alla produzione di piante micorrizate da impiegare per la coltivazione. Queste tecniche hanno trovato applicazione anche per l'identificazione di ectomicorrize ottenute *in vitro* e in condizioni di semisterilità, consentendo di validare sistemi produttivi, nonché di identificare per la prima volta micorrize di *T. magnatum* Pico in siti naturali. Infatti, l'approccio molecolare rappresenta un valido strumento operativo in studi ecologici, in quanto le micorrize che si ritrovano nel terreno sono generalmente a diversi stadi di sviluppo e raramente sono presenti tutte le caratteristiche per una corretta identificazione morfologica

I metodi molecolari quindi, proprio per la loro versatilità ed efficienza nell'identificazione delle diverse specie di tartufo, hanno trovato applicazione in diversi campi sia ecologico, alimentare e biotecnologico proponendosi anche come strumenti di supporto e verifica nella coltivazione di piante micorrizate e nella comprensione delle complesse interazioni pianta — fungo - batteri.

## Approcci biomolecolari per lo studio della maturazione del corpo fruttifero del tartufo

S. Zeppa<sup>1</sup>, C. Guidi<sup>1</sup>, R. Pierleoni<sup>1</sup>, A. Zambonelli<sup>2</sup>, M. Guescini<sup>1</sup>, L. Potenza<sup>1</sup> and V. Stocchi<sup>1</sup>

*Istituto di Chimica Biologica "Giorgio Fornaini", Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo" Via Saffi 2, 61029 Urbino (PU), Italy; 'Istituto di Ricerca sull'Attività Motoria, Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo" ~ Via Sasso, 61029 Urbino (PU), Italy;*  
<sup>2</sup>*Dipartimento di Protezione e Valorizzazione Agroalimentare, Università degli Studi di Bologna, Via Fanin 46, 40127 Bologna*

I funghi appartenenti al genere *Tuber* sono ascomiceti che producono corpi fruttiferi ipogei, generalmente chiamati tartufi, fra i quali i più noti sono certamente quelli prodotti dalle specie *T. magnatum* (tartufo bianco pregiato) e *T. melanosporum* (tartufo nero pregiato), che possiedono apprezzate qualità organolettiche.

I cambiamenti morfologici che avvengono durante la maturazione dell'ascocarpo dei tartufi sono stati caratterizzati mentre gli eventi molecolari responsabili della differenziazione delle ife in corpo fruttifero sono ancora praticamente sconosciuti.

Durante la maturazione dell'ascocarpo ife specializzate si differenziano in aschi all'interno dei quali si formano le ascospore. Questi processi morfogenetici sono accompagnati dalla sintesi di nuove membrane e pareti cellulari.

Al fine di valutare la variazione dell'espressione genica durante la maturazione del corpo fruttifero di *Tuber borchii* è stata messa a punto la tecnica dell'mRNA differential display su gel d'agarosio, utilizzando RINA totale estratto da corpi fruttiferi completamente immaturi (0% di aschi contenenti spore mature) e maturi (75-100% di aschi contenenti spore mature). Utilizzando 16 combinazioni di primers è stato possibile identificare, donare e sequenziare 25 cDNAs apparentemente differenzialmente espressi nei due stadi di maturazione. Sedici doni hanno mostrato una omologia con geni coinvolti in processi di fruttificazione, divisione cellulare, trasporto di membrana, divisione mitocondriale, metabolismo intermedio e biosintesi di isoprenoidi. Analisi Northern Blotting hanno evidenziato una maggior espressione di 6 cDNAs nel corpo fruttifero immaturo che appare un tessuto in attiva divisione cellulare e metabolicamente più attivo rispetto all'ascocarpo maturo.

Il clone VT16, che corrisponde ad una parte del gene codificante per la 3-idrossi-3-metilglutaril Coenzima A reductasi, mostra una maggiore espressione nel corpo fruttifero maturo suggerendo una elevata biosintesi di isoprenoidi negli ultimi stadi di maturazione dell'ascocarpo.

Analisi di Real-Time PCR hanno mostrato un aumento di espressione durante il processo di maturazione del clone VAI 1, che trova omologia con trasportatori del solfato. L'unico clone espresso solo in carpofori completamente immaturi è il VC 12, che mostra omologia con geni codificanti per il mating type I di alcuni funghi.

Gli studi futuri verranno focalizzati sulla completa caratterizzazione dei geni corrispondenti a questi cDNA al fine di comprendere i meccanismi molecolari alla base della formazione e maturazione del carpoforo di *Tuber*.

## Il censimento delle aree tartulicole della Provincia di Modena

A. Zambonelli<sup>1</sup>, V. Biagioni<sup>2</sup>, G. Carletti<sup>1</sup> e P. Vecchiati<sup>2</sup>

*<sup>1</sup>Dipartimento di Protezione e Valorizzazione Agroalimentare, via Fanin 46, 40127 Bologna, <sup>2</sup>Servizio Agricoltura e territorio, Amministrazione Provinciale di Modena, via Rainusso 144, 41100 Modena*

L'Amministrazione provinciale di Modena da numerosi anni promuove interventi per la coltivazione e la salvaguardia del tartufo. Già a partire dal 1989 in collaborazione con le Comunità Montane ha predisposto un Programma di Sperimentazione e Divulgazione nel settore della Tartuficoltura. Nell'ambito di questo programma di ricerca sono state realizzate sei tartufaie sperimentali utilizzando piantine inoculate con diverse specie di tartufo. In due di queste tartufaie si è studiata la dinamica della micorrizzazione al fine di fornire valutazioni agli agricoltori sulle scelte colturali effettuate (Capecchi *et al.*, 1999).

Nel 1997 nel Parco di Santa Giulia (Modena) sono state realizzate due tartufaie sperimentali: una costituita da ceni inoculati con *T. magnatum*, l'altra da querce, noccioli e camini inoculati con *T. uncinatum*, quest'ultima è stata oggetto di due pubblicazioni (lotti *et al.*, 2001, Dallavalle *et al.*, 2004).

Nel 2002 è stata stipulata una convenzione fra la Provincia di Modena ed il Dipartimento di Protezione e Valorizzazione Agroalimentare dell'Università di Bologna per la realizzazione di una cartografia delle zone di produzione delle diverse specie di tartufi presenti sul territorio provinciale. La prima fase di indagine ha riguardato la mappatura dei siti produttivi di *T. magnatum* e di *T. uncinatum* sulle Carte Tematiche Regionali (CTR) della Regione Emilia Romagna in scala 1:10.000. Le tartufaie naturali presenti nel territorio sono state indicate dai cercatori locali~ durante diversi sopralluoghi ed i dati cartografici relativi alle zone di produzione sono stati informatizzati tramite l'utilizzo dei Sistemi Informativi Geografici (GIS). Attraverso il programma Arcview sono state quindi analizzate le caratteristiche ecologiche di questi tartufi mediante la sovrapposizione informatizzata dei tematismi relativi alle zone di produzione, alla clivometria, alla tipologia forestale (Carta Forestale Regionale), alla pedologia (Carta dei Suoli Regionale) ed alla geologia (Carta Geologica Regionale). Nonostante che le superfici produttive censite siano state probabilmente sottostimate rispetto a quelle realmente presenti sul territorio, lo studio effettuato costituisce un valido strumento conoscitivo sulla distribuzione e sull'ecologia del tartufo.

La conoscenza delle aree di produzione del tartufo potrà permettere di effettuare interventi programmati per la tutela del territorio tartuficolo e per la diffusione della tartuficoltura, al fine di salvaguardare e incentivare la produzione di questo pregiato fungo ipogeo.

Capecchi M., Vecchiati P., Zambonelli A. (1999): Dinamica della micorrizzazione in due tartufaie sperimentali di *Tuber magnatum* Pico in provincia di Modena. *Micologia italiana* 28(1), 9-18.

lotti M., Zambonelli A., Macrì A., Vecchiati P (2001) Caratterizzazione delle micorrize in una tartufaia coltivata di *Tuber uncinatum* Chatin. *Micologia Italiana*, 30(3), 47-57.

Dallavalle E., Jotti M., Zinoni F., Zambonelli A. (2004) Effetti della pacciamatura sulle micorrize in una tartufaia di *Tuber uncinatum*. XV Convegno Nazionale di Micologia, Sassuolo e Fiorano 25-26 marzo 2004

§ Si rivolge un particolare ringraziamento all'associazione dei tartufai Modenesi ed in particolare al presidente Sig. Bruno Sabella, al dott. Walther Telleri e alla Sig.ra Angela Bonacini per la preziosa collaborazione.

## Effetti della pacciamatura sulle micorrize in una tartufaia di *Tuber uncinatum*

E. Dallavalle<sup>1</sup>-M. Iotti<sup>1</sup>, F. Zinoni<sup>2</sup> e A. Zambonelli<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Protezione e Valorizzazione Agroalimentare, via Fan in 46,  
40127 Bologna, Italy. <sup>2</sup>ARPA, Servizio Meteorologico regionale, V.le Silvani 6,  
40122 Bologna, Italy

Uno dei maggiori problemi legati alla tartuficoltura, si verifica nei primi anni dopo l'impianto, in cui le micorrize del tartufo possono subire un parziale o un totale processo di sostituzione con quelle di altri funghi naturalmente presenti nel suolo. Al fine di verificare gli effetti della pacciamatura sullo sviluppo delle micorrize di *Tuber uncinatum* Chatin e di altri funghi ectomicorrizici, nel 2000 sono stati sperimentati diversi materiali pacciamanti:

paglia, telo nero di polipropilene, schermo alluminizzato e tessuto per subirrigazione

Le prove sono state condotte in una tartufaia sperimentale di *T. uncinatum*, realizzata nel 1997 dal Servizio Agricoltura e Territorio della Provincia di Modena, situata nel Parco di Santa Giulia (Palagano, MO, 932 m. 1. m.) e costituita da 600 piante, appartenenti alle specie *Quercus pubescens* Willd., *Ostrya carpinifolia* Scop. e *Corylus avellana* L.

Il grado di micorrizzazione con *T. uncinatum* e con gli altri funghi ectomicorrizici presenti nel suolo, è stato verificato ogni anno in primavera, prelevando campioni di radici da ciascuna tesi sperimentale (3 piante ospiti, 4 materiali pacciamanti e 1 testimone). Il campionamento delle radici è stato effettuato prelevando da quattro piante per tesi, campioni di terreno, mediante un carotatore di 6 cm di diametro, a due distinte profondità:

0-15 e 15-30 cm.

I materiali pacciamanti utilizzati hanno manifestato effetti diversi sullo sviluppo delle micorrize di *T. uncinatum* e degli altri funghi ectomicorrizici contaminanti e, dopo tre anni dall'inizio della sperimentazione, sono state rilevate differenze statisticamente significative nel grado di micorrizzazione nelle diverse tesi sperimentali.

Gli effetti della pacciamatura sono stati più evidenti nei primi 0-15 cm di profondità del suolo. I migliori risultati sono stati forniti dallo schermo alluminizzato e dal tessuto per subirrigazione, che hanno stimolato lo sviluppo delle micorrize di *T. uncinatum* e ridotto la percentuale di infezione ectomicorrizica con specie inquinanti. Paglia e telo nero, al contrario, hanno dimostrato di favorire lo sviluppo dei funghi ectomicorrizici inquinanti presenti *in loco*. Questi risultati, molto probabilmente, sono in relazione con i diversi effetti che questi materiali provocano sulle temperature e sull'umidità del suolo, come da noi sperimentalmente rilevato.

## **Funghi ipogei, tartufi e tartufaie nel Friuli Venezia Giulia**

**Gregori G.(1), Biasizzo E (2) Menegon S. (2) Michelutti M. (2)**

*(1) Centro Sperimentale Tartuficoltura di Sant 'Angelo in Vado (PU)-Regione Marche*

*(2) ERSA-Agenzia Regionale per lo Sviluppo Rurale - Friuli Venezia Giulia*

Per tracciare un quadro abbastanza preciso della realtà tartuficola del Friuli Venezia Giulia, con lo scopo di fornire un prezioso supporto per il raggiungimento dei numerosi obiettivi che la legge regionale n°23 del Friuli Venezia Giulia, L'ERSA ha fatto condurre delle appropriate indagini conoscitive. Scopo della presente comunicazione è quello di illustrare i risultati conseguiti sia per quanto attiene le specie di *Tuber* e di funghi ipogei di altro genere raccolte, sia per l'ubicazione delle zone tartufigole riscontrate sia sui principali spetti pedologici climatici e forestali delle varie zone tartufigole con particolare riferimento alle tartufaie naturali delle specie di tartufo più importanti.

**Tartufoie naturali di *Tuber aestivum* Vittad. su *Castanea sativa* Miller in Umbria  
(Italia centrale)**

**Donnini Domizia, Baciarelli Falini Leonardo**

*Dip. Biologia Vegetale e Biotecnologie Agroambientali, Università di Perugia,  
Borgo XYgiugno 74, 06121 Perugia*

La combinazione di due fattori, quali la grande adattabilità del *Tuber aestivum* Vittad. a condizioni pedoclimatiche molto variabili e lo sviluppo di *Castanea sativa* Miller anche in condizioni non ottimali, ha determinato l'instaurarsi della simbiosi micorrizica fra queste due specie. Infatti, sono state localizzate alcune tartufoie naturali di *T. aestivum*, di cui non è nota l'attività produttiva, in un impianto di castagni situato in Umbria (Italia centrale). Si tratta di un castagneto di 1 ha di superficie, messo a dimora nei primi anni 80, su un terreno con pH 7.88 e discreto contenuto in carbonato di calcio, ad un'altitudine media di 450 m ed esposizione WSW. La piantagione è contornata da oliveti e in parte da un bosco misto termofilo di *Pinus halepensis* Miller e *Quercus ilex* L.. La maggior parte dei castagni si presenta in pessimo stato fitosanitario, con evidenti disseccamenti della chioma, tuttavia presenta pianelli (aree prive di vegetazione erbacea) abbastanza ben definiti. L'analisi della micorrizzazione di numerosi campioni di radici ha confermato la presenza di micorrize di *Tuber aestivum*, a volte anche in percentuali molto elevate (fino a 80%).

## Sostituzione delle micorrize di *Tuber melanosporum* Vittad. con altre specie di *Tuber* in una tartufaia coltivata

Leonardo Baciarelli Falini — Elena Giovagnotti<sup>2</sup>

1 - Dipartimento di Biologia Vegetale e Biotecnologie Agroambientali dell'Università di Perugia, Borgo XX giugno 74, 06121 Perugia

2- Regione dell 'Umbria, via Fontivegge, 06100 Perugia

Uno dei più frequenti fenomeni che si manifestano nella coltivazione delle tartufaie è la sostituzione della specie micorrizica inoculata con altre specie fungine. Per indagare le cause, nel 2003 è stato effettuato uno studio su una tartufaia coltivata a *Tuber melanosporum* Vittad. in simbiosi con *Ostrya carpinifolia* Scop. e *Quercus pubescens* Willd.

A sette anni dalla messa a dimora delle piante simbiotiche, nel periodo tardo invernale la tartufaia ha prodotto circa 3 Kg di *Tuber borchii* Vittad. specie di tartufo non coltivata.

Si è proceduto a verificare lo stato di micorrizzazione della tartufaia e delle sue caratteristiche pedologiche. L'analisi degli apparati radicali effettuata sul 20% delle piante simbiotiche evidenzia una elevata percentuale di *T. melanosporum* Vittad. (45% in media) riscontrata sul 50 % delle piante campionate. Negli apparati radicali del restante 50% delle piante è stata evidenziata la presenza di altre specie di *Tuber* e di altri funghi.

L'indagine pedologica ha mostrato che le caratteristiche fisico — chimiche del terreno non rientrano nei parametri convenzionali dell'ambiente di crescita del *T. melanosporum* Vittad.

**Degradazione di trans-resveratrolo ed acido tannico da parte di *Phaeomoniella chlamydospora*, *Phaeocremonium aleophilum* e *Fomitiporia mediterranea*, funghi associati al mal dell'esca della vite**

**G. Bruno e L. Sparapano**

*Dipartimento di Biologia e Patologia vegetale, via G. Amendola 165/A, 70126 Bari*

Numerose prove d'infezione hanno portato ad attribuire un ruolo di patogeni primari, nella sindrome del mal dell'esca, a tre funghi più comuni nelle condizioni dei nostri vigneti: *Phaeomon iella chlamydospora* (*Pch*) e *Phaeocremonium aleophilum* (telomorfo:

*Togninia minina*) (*Paf*) per le "venature brune" e *Fomitiporia mediterranea* (*Fme*) per la carie del legno.

E' noto che la vite è pianta ricca di polifenoli. Questi composti possono subire variazioni in seguito all'esposizione dei tessuti all'azione di agenti biotici o abiotici sfavorevoli od essere il prodotto (fitoalessine) di meccanismi di resistenza. Ad esempio, la concentrazione di flavanoli e stilbeni aumenta nelle viti che hanno subito infezioni di varia natura, rispetto alle viti sane. Non si conosce l'effetto che questi composti hanno sui funghi colonizzatori del legno, e tantomeno se gli stessi composti partecipino in qualche modo all'espressione dei sintomi. E' però probabile che questi ed altri prodotti di reazione della pianta, accumulandosi nel legno attorno alle zone invase o traslocati nelle foglie, formino barriere chimiche limitanti lo sviluppo di funghi ad essi sensibili.

I dati presentati in questa Nota riguardano le ricerche condotte sui tre più importanti funghi associati al mal dell'esca, al fine di verificare le loro capacità di degradare il *transresveratrolo* (RES) nei calli di vite, di utilizzare RES e acido tannico (AT) in colture liquide o agarizzate come unica fonte di carbonio organico ed infine di produrre fitotossine (isosclerone e scitalone) in colture liquide contenente RES o in associazione con glucosio.

E' stata determinata la concentrazione di RES nelle foglie di due varietà di viti 'Italia' e 'Matilde', in tre diversi stadi fenologici e si è constatato che la cv. Italia contiene più RES della cv. Matilde. Analogamente è stata calcolata la concentrazione di RES nei calli delle stesse varietà. Anche nei calli, la concentrazione di RES della cv. Italia è risultata maggiore di quella della cv. Matilde. Inoltre, il contenuto di RES nei calli di 'Italia' inoculati con *Pal*, *Pc/i* e *Fme* è risultato minore di quello dei relativi controlli; nel caso della 'Matilde', solo nei calli inoculati con *Palla* concentrazione di RES è stata maggiore del controllo.

*Pc/i*, *Pal* e *Fme* coltivati in coltura liquida o agarizzata contenente RES, nell'intervallo di concentrazioni 10—220 j.tg mL<sup>-1</sup>, hanno degradato lo stilbene. 11 RES (a concentrazioni >50 ig/ml) ha causato la riduzione del tasso di crescita dei tre funghi.

*Pch*, *Pa!* e *Fme* sono stati coltivati anche in colture liquide o agarizzate contenenti solo AT o AT e glucosio. E' stato osservato che l'AT come unica fonte carboniosa è sufficiente a sostenere la crescita dei tre funghi. In presenza di glucosio nel mezzo nutritivo, l'AT ha esercitato una riduzione del tasso di crescita delle tre specie fungine, a mano a mano crescente, a partire dalla concentrazione di 1 mg mL<sup>-1</sup>.

*Pal* e *Pc/i* hanno prodotto scitalone ed isosclerone in colture liquide contenenti solo RES o RES e glucosio come uniche fonti carboniose. La produzione dei due pentacetidi è iniziata a partire dal settimo giorno d'incubazione. *Pal* ha prodotto scitalone in quantità maggiori di quelle del *Pch*; il RES ha ridotto drasticamente la produzione di scitalone da parte di *Pa!* e *Pc/i*. 11 RES da solo o insieme al glucosio ha stimolato la produzione di isosclerone in entrambi i funghi. Sembra che la presenza di RES nel substrato riduca la produzione di scitalone ed incrementi quella di isosclerone. Questo dato conforta l'ipotesi che essendo inibita o rallentata la via biosintetica delle melanine, si formi strada facendo più isosclerone, prodotto di ossidazione dell'intermedio 1,<sup>3,8</sup>-triidrossinaftalene.

## Effetto di lipodepsipeptidi batterici su funghi agenti di marciumi della frutta o di deterioramento della carta

A. Misino, G. Bruno, A. Graniti e L. Sparapano

*Dipartimento di Biologia e Patologia Vegetale, via G. Amendola 165/A, 70126 Bari*

Marciumi della frutta di origine fungina, come quelli causati da *Botrytis*, *Penicillium*, *Monilia*, *Mucor* e *Rhizopus* determinano gravi perdite alla produzione di frutta, sia in campo, sia dopo la raccolta. I trattamenti con fungicidi sistemici, ove sono ammessi, rappresentano ancora oggi il sistema di difesa più comune. L'impiego di ceppi batterici per la lotta contro agenti di marciumi della frutta in post-raccolta è stato ampiamente studiato ed esistono già molti esempi di prove di lotta biologica che hanno dato risultati positivi.

Altri funghi capaci di agire in vario modo sulla cellulosa sono fattori importanti di biodegradabilità e di alterazione dei materiali cartacei. Le specie più comuni appartengono a generi di Ascomiceti e loro anamorfi (*Chaetomium*, *Pleospora*, *Alternaria*, *Acremonium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Geotrichum*, *Stemphylium*, *Stachybotris*, *Trichoderma*), e in minor numero a specie di altre classi (Zigomiceti: *Mucor* e *Rhizopus*).

E' noto che alcune specie e pathovar di batteri del genere *Pseudomonas* producono metaboliti secondari biologicamente attivi di natura lipodepsipeptidica, quali ad esempio siringomicine e siringopeptine, che hanno una notevole attività antibiotica, in particolare verso molte specie di funghi. In concentrazioni nanomolari, queste biomolecole determinano danni irreversibili alle membrane cellulari di organismi sensibili, causando la morte delle cellule. L'efficacia delle tossine dipende da molti fattori, tra i quali la natura di alcuni costituenti delle membrane.

Per le prove di cui si riferisce, i ceppi B-359 e B-426 della pv. *syringae* ed il ceppo NCPPB 2664 della pv. *aptata* di *P. syringae* sono stati utilizzati per la produzione di alcune siringomicine (SRE e SRG) e siringopeptine (SP25A e SP<sub>258</sub>). Il ceppo IPVTC 10.3 di *P. corrugata* è stato utilizzato per produrre liquidi colturali e loro estratti organici contenenti corpeptine e cormicine.

Sono stati preparati protoplasti delle seguenti specie fungine sottoposte a macerazione enzimatica: agenti di malattie (*Seiridium cardinale*, *S. cupressi*, *S. unicornae*, *Cryphonectria parasitica*, *B. cinerea*, *Phomopsis amygdali*, *Verticillium dahliae*, *Phaemon iella chlamydospora*, *Fomitiporia mediterranea*) o responsabili di deterioramento della carta (*Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus terreus* e *Chaetomium elatum*). È stata utilizzata una soluzione contenente cellulasi, laminarinasi e xilanasi; solo per due (*B. cinerea* e *V. dahliae*) delle dodici specie saggiate è stata necessaria l'aggiunta di proteasi e chitinasi alla soluzione macerante già menzionata. Nell'arco di tempo di 4-6 ore, la maggior parte (80-90%) delle ife miceliche disperse nella soluzione macerante è stata trasformata in protoplasti. I protoplasti appena formati, dispersi in tampone STC (sorbitolo-TrisIHC1-calcio cloruro), hanno mantenuto sufficientemente alta la loro vitalità per oltre 3 ore dopo la preparazione. Trattati con soluzioni acquose costituite da SRE e SRG (a concentrazioni comprese tra 0,3 e 28,5 g.LM) o da SP<sub>25A</sub> e SP<sub>258</sub> (a concentrazioni comprese tra **0,15 e 14,4** j.iM), i protoplasti della maggior parte delle specie fungine saggiate sono risultati molto sensibili all'azione delle tossine; in minor grado, quelli di *S. cardinale*, *P. amygdali*, *A. terreus* e *V. dahliae*.

Gli estratti butanolici del filtrato colturale del ceppo di *P. corrugata*, contenenti corpeptine e cormicine, ripresi in acqua distillata sterile, hanno inibito la crescita di *A. terreus*, *C. elatum*, *P. chrysogenum*, *S. atra* e *F. mediterranea*, in piastra e su carta.

I risultati delle prove indicano che i ceppi batterici o i lipodepsipeptidi da loro prodotti potrebbero avere un potenziale interesse per l'applicazione pratica.

*Fusaria* antagonisti isolati dalla rizosfera di *Mangifera indica*.

V. Mondello 5. Lo Piccolo, L. Torta, S. Burruano

Dipartimento S.En.FLMi.Zo.  
Sezione di Patologia vegetale e Microbiologia agraria,  
Viale delle Scienze 2, 90128 Palermo

Un precedente studio sullo stato sanitario del mango (*Mangifera indica* L), fruttifero tropicale da alcuni anni introdotto in Sicilia, ha evidenziato numerose alterazioni causate da comuni patogeni fungini di debolezza (*Alternaria* sp., *Rhizoctonia* sp. ecc.) Recentemente un'indagine mirata all'isolamento ed alla individuazione dei microrganismi associati ai tessuti radicali di piante apparentemente sane del fruttifero, ha messo in luce la ricorrente presenza di vari *Fusaria*. Accertata la non patogenicità degli stessi ed essendo nota la spiccata attività antagonista tipica di alcune entità del genere, si è ritenuto opportuno, quindi, valutarne in *vitro* l'eventuale attività di biocontrollo. L'antagonismo degli isolati di *Fusarium* spp (MF1, MF2, MF3, MF4, MF5) è stato quindi saggiato, con tecniche dirette ed indirette, nei confronti di patogeni fungini, tellurici e aerei, agenti di alterazioni su mango (*Alternaria* sp., *Botrytis cinerea*, *Helminthosporium* sp., *Peyronellaea* sp., *Phytophthora* sp., *Rhizoctonia* sp., *Verticillium* sp.). I saggi diretti, effettuati mediante il contemporaneo allevamento, sulla medesima piastra di substrato agarizzato, del patogeno e del potenziale antagonista, hanno accertato una riduzione di crescita dei patogeni e, nel contempo, la comparsa di aloni di inibizione fra i ceppi in coltura doppia.

I saggi indiretti, condotti facendo accrescere i fitopatogeni su substrati agarizzati addizionati con filtrati culturali dei *Fusaria*, hanno confermato tale capacità di biocontrollo.

I risultati ottenuti dimostrano l'antagonismo dei vari *Fusaria* ed, in particolare, evidenziano la notevole capacità antibiotica dell'isolato MF3, che ha inibito in maniera considerevole la crescita di tutti i patogeni saggiati.

## Ulteriori osservazioni sull'interazione tra

*Acremonium sp.*, *Vitis vinifera* e *Plasmopara viticola*

S. Burruano, S. Lo Piccolo, A. Alfonzo, L. Torta

Dipartimento S.En.Fi.Mi.Zo.,  
Sez. Patologia vegetale e Microbiologia agraria,  
Viale delle Scienze, 90128 Palermo

Precedenti indagini hanno dimostrato l'endofitismo di *Acremonium Sp.* in alcune cultivars di vite asintomatiche (Regina, Catarratto ed Insolia) e, nel contempo, l'antagonismo dello stesso nei riguardi di *Plasmopara viticola*, sebbene le strutture dell' ifoniicete siano state osservate solo occasionalmente.

Poiché di recente, l'impiego di una opportuna tecnica di decolorazione e duplice colorazione di contrasto, insieme all'utilizzo di un microscopio confocale laser, hanno consentito di visualizzare l'endofita allo stato latente, in foglie apparentemente sane, e di seguirne l'attivazione in altre, naturalmente danneggiate, si è ritenuto opportuno indagare sull'evoluzione di *Acremonium sp.* durante la patogenesi di *P. viticola*.

Alla ripresa vegetativa, foglie della cv Insolia, sono state raccolte periodicamente, inoculate con una sospensione di zoospore dell'ooniicete e mantenute in condizioni controllate di temperatura (20°C d: 1°C) ed umidità relativa (95-100%). Ad intervalli regolari, dall'inoculazione (2, 4 e 8 giorni) e negli ultimi saggi subito dopo la raccolta, sono stati prelevati dischetti ( $\phi = 9\text{mm}$ ) di tessuto fogliare che, sottoposti alla suddetta tecnica, sono stati osservati al microscopio confocale laser.

Nei primi saggi (gennaio-febbraio) l'endofita, già attivo nei 2 giorni successivi all'inoculo, passando dalle nervature primarie e secondarie tra le cellule dell'ospite, raggiungeva il patogeno (4-8 gg dopo l'inoculazione) e lo invadeva in parte, inducendone un'evasione rada e anomala.

Successivamente (marzo-maggio), nei tessuti fogliari non ancora inoculati si osservavano, al di sotto degli stomi, cordoni miceliari con fialidi e conidi in fase di evasione, attraverso le aperture stomatiche o gli spazi intercellulari. Intorno a 2-4 giorni dall'inoculazione, l'endofita colonizzava le ife e le anomali strutture del patogeno sia asessuate che sessuate, prodotte alquanto precocemente. Nelle zone di inoculo l'evasione di *P. viticola*, di contro, risultava limitata al bordo o del tutto assente; in quest'ultimo caso, inoltre, il micelio del patogeno era più o meno degenerato, mentre le cellule vegetali, completamente invase dall'endofita, necrotizzavano.

Tali risultati, inducono ad ipotizzare che l'attivazione di *Acremonium sp.* all'interno dei tessuti dell'ospite sia condizionata dallo stato vegetativo e sanitario dello stesso; inoltre, a conferma dell'ipotesi di Schultz, l'endofita dopo aver invaso le strutture di *P. viticola* tenderebbe ad aggredire l'ospite divenendo, quindi, patogeno.

Possibile induzione di resistenza sistemica in melone contro *Didymella bryoniae* per mezzo di *Trichoderma longibrachiatum* somministrato su seme e terreno

A. Veronesi, R. Roberti e A. Cesari

Dipartimento di Protezione e Valorizzazione Agroalimentare, Università di Bologna, via Fanin 46, 40127 Bologna

*Didymella bryoniae*, noto come agente del “cancro gommoso” delle cucurbitacee, è in grado di causare danni su cotiledoni, foglie vere, stelo e frutto e di conservarsi da una stagione all'altra nel terreno e nel seme. Premesso che non esistono varietà di cucurbitacee resistenti e accettabili commercialmente per questo patogeno, risulta importante, ai fini di un'agricoltura a basso impatto ambientale, valutare metodi alternativi di lotta quali l'impiego di microrganismi antagonisti. Lo scopo di questa ricerca è stato pertanto quello di verificare, su melone “Retato degli Ortolani”, l'effetto di trattamenti con *Trichoderma longibrachiatum*, sul contenimento dell'infezione di *D. bryoniae*, nonché l'effetto su parametri morfofisiologici delle piantine e sulla produzione di proteine PR della pianta. Sono stati allestiti due tipi di esperimenti: il primo, per verificare l'attività di contenimento della malattia da parte di trattamenti su seme, terreno e seme+terreno, il secondo, per determinare la produzione di proteine da parte di piantine nate da semi trattati. Nel primo esperimento i semi sono stati trattati con una sospensione di *T. longibrachiatum* o con acqua e posti a germinare in sabbia umida a 25°C in condizioni di luce/buio. Dopo 10 giorni le piantine sono state trapiantate su terriccio non trattato e trattato con l'antagonista e, dopo due giorni, inoculate con il patogeno su una foglia cotiledonare, con un cilindretto di colonia del patogeno. Sono quindi seguiti i rilievi della progressione dell'infezione, conteggiando sia il numero delle piante ammalate che la gravità della malattia, e degli effetti dei trattamenti sulla lunghezza di radici e coleptili e sul peso secco delle piantine. Nel secondo esperimento i semi, trattati come descritto precedentemente, sono stati posti a germinare su carta umida a 27°C al buio; dopo 7 giorni è stata effettuata l'inoculazione del patogeno deponendo sul coleoptile un cilindretto di agar acqua contenente in media 10 conidi in fase di germinazione. A 24, 48 e 72 ore dall'inoculazione, le proteine totali, di radici e coleptili separatamente, sono state estratte con un tampone sodio acetato, quantificate e sottoposte a separazioni elettroforetiche del tipo SDS-PAGE e IEF. All'IEF è poi seguita una colorazione specifica per evidenziare le proteine PR9 ad attività perossidasi. Per quanto riguarda i risultati ottenuti nel primo esperimento è stato osservato che il doppio trattamento seme+terreno, ha consentito di ridurre consistentemente la gravità della malattia in particolar modo al terzo rilievo (6 giorni dall'inoculazione), mentre il solo trattamento al seme ha ridotto maggiormente l'incidenza della malattia. Tutti i tre trattamenti hanno permesso la produzione di un numero di foglie vere sensibilmente maggiore del testimone, prima dell'inoculazione con il patogeno. Riguardo la lunghezza di coleptili e radici, i trattamenti non hanno influito positivamente nelle tesi inoculate con il patogeno, mentre nelle piantine non inoculate si è avuta una lunghezza maggiore delle radici per effetto dei trattamenti su terreno e seme+terreno. Il peso secco delle piantine è risultato più elevato in seguito al trattamento seme+terreno. Considerata la distanza spaziale e temporale dei trattamenti con l'antagonista rispetto all'inoculazione con il patogeno, si può asserire che l'effetto di contenimento della malattia sia dovuto alla stimolazione di una risposta sistemica di difesa della pianta, che può coinvolgere la produzione di alcune proteine. L'analisi delle proteine totali ha evidenziato alcune differenze tra i campioni. In particolare è stata riscontrata, nei coleptili, una banda (21,5 kDa) più intensa, in tutti i tempi di prelievo, sia nel trattato con l'antagonista che nel trattato e inoculato. L'analisi delle perossidasi ha evidenziato una stimolazione di una isoforma acidica, a 48 ore dall'inoculazione, da parte del trattamento con l'antagonista.

## **Ruolo del potenziale osmotico sul comportamento di *Phytophthora* spp.**

Turco E., Barzanti G. P.

*Dipartimento di Biotecnologie agrarie, Sezione di Patologia vegetale, Università di Firenze, P.le delle Cascine 28, 50144 Firenze, Italia, e-mail: elena.turco@un~fi.it*

Molteplici specie vegetali, spesso filogeneticamente lontane, vanno soggette ad infezioni da parte di specie afferenti al genere *Phytophthora*, entità la cui sopravvivenza è strettamente legata alla presenza di acqua sia nel terreno che nei tessuti dell'ospite. Da circa un decennio, una specie in particolare, *Phytophthora cinnamomi*, sta assumendo in certi paesi a clima continentale un ruolo nel Deperimento della Quercia, malattia ad eziologia complessa le cui cause sono ricondotte a condizioni stagionali particolarmente siccitose, alla presenza di insetti defogliatori e di alcuni microrganismi fitopatogeni.

Nonostante le caratteristiche ecologiche dell'oomicete, che predilige ambienti umidi, l'elevata frequenza di isolamento di *Phytophthora* sp., dalla rizosfera di querceti deperienti, è stata spesso associata a condizioni ambientali particolarmente siccitose.

Per cercare di comprendere la relazione *Phytophthora-quercia-stress* idrico, è stato valutato *in vitro* il ruolo del potenziale osmotico sull'accrescimento di *Phytophthora cambivora*, *P. cinnamomi*, *P. citricola* e *P. quercina*, su substrati artificiali, a diversa composizione nutritiva, arricchiti in polietilene glicole (PEG) 3350 e 6000.

A valori di potenziale osmotico compresi tra 0 e -1,18 MPa, le quattro specie di *Phytophthora* hanno presentato significativi accrescimenti del micelio; limitato o nullo sviluppo è stato osservato ai più bassi valori di potenziale. *P. cinnamomi* è apparsa la specie che meglio si adatta a condizioni di stress osmotico nel mezzo di coltura, mentre *P. citricola* e *P. cambivora* sono risultate le specie dotate di minore plasticità. *P. quercina* ha mostrato comportamenti diametralmente opposti, a seconda del peso molecolare del polietilene glicole.

I risultati conseguiti portano ad ipotizzare una capacità di *Phytophthora* spp. di sopravvivere in presenza di limitate disponibilità idriche, tale da giustificare la maggiore incidenza della malattia in soprassuoli forestali situati in zone a carattere siccitoso.

*Abortiporus biennis* (BuII.: Fr.) Sing. e *Oxyporus lateinarginatus* (Bur. & Mont. ex Mont.) Donk osservati sul ciliegio in Puglia

G. Sicoli, C. Colella, N. Luisi, M. Cirulli

Dipartimento di Biologia e Patologia vegetale, Università degli Studi di Bari,

Via G. Amendola, 165/A - 70126 Bari

La coltura del ciliegio in Puglia è principalmente diffusa in due comprensori della provincia di Bari, uno a nord e uno a sud-est del capoluogo. Essa è considerata, nel panorama agricolo regionale, tra le più tipiche e remunerative dell'arboricoltura da frutto. La coltura del ciliegio in Puglia è frequentemente soggetta a morie che talvolta interessano pochi individui, ma più spesso sono diffuse a più gruppi di piante in uno stesso ciliegeto. Spesso la gravità delle morie costringe gli agricoltori a continue sostituzioni con giovani piante che però inesorabilmente deperiscono anch'esse.

In questo lavoro viene segnalata la presenza di due basidiomiceti lignicoli colonizzatori di radici di **piante** arboree, *Abortiporus biennis* e *Oxyporus lateinarginatus*, in un ciliegeto che presentava una diffusa moria di piante adulte e che era stato interessato da episodici ristagni idrici. La identificazione specifica dei due basidiomiceti è stata fatta sulla base delle caratteristiche morfologiche degli sporofori prelevati in autunno dalla base del tronco e dalle radici delle piante morte. A tal fine, sono state considerate anche le caratteristiche del micelio e delle strutture riproduttive e moltiplicative in colture di agar-patata-destrosio. Successivamente al primo ritrovamento, queste due specie di basidiomiceti sono state ripetutamente isolate da radici di piante di ciliegio morte o in deperimento terminale provenienti da diverse località della provincia di Bari. La presenza di questi due funghi nei ciliegeti pugliesi rappresenta un ulteriore motivo di preoccupazione accanto alle note problematiche che altre specie di funghi radicicoli pongono alla cerasicoltura pugliese.

Selezione di ceppi eduli di *Pleurotus* spp. resistenti a *Trichoderma viride*:  
risultati preliminari

L. Torta, G. Zoida, G. Galizzi, S. Burruano

*D4i-artimento S.En.Fi.Mi.Zo.,  
Sezione di Patologia vegetale e Microbiologia agraria,  
Viale delle Scienze 2, 90128, Palermo*

Negli ultimi anni, la coltura di *Pleurotus* spp. è sempre più soggetta a seri attacchi da *Trichoderma viride*, noto agente di muffa verde e micoparassita di difficile controllo; tuttavia, recenti studi hanno consentito di selezionare e commercializzare isolati di *Pleurotus* spp. dotati di particolare resistenza al patogeno.

Si è, quindi, ritenuto opportuno valutare la suscettibilità a *T. viride* di alcuni isolati selvaggi, idonei alla coltivazione in ambienti controllati.

In particolare, sono stati saggiati 3 di *P. eryngii* var. *elaeoselinum* (P.e.e. 574, P.e.e. 835), 2 isolati di *P. nebrodensis* (P.n. 803, P.n. 826), 2 di *P. eryngii varferulae* (P.e.f. 520, P.e.f. 823) e i di *P. eryngii* (P.e. 824), allevati in sacchi di substrato artificiale in ambiente parzialmente protetto. Come inoculo è stato impiegato un ceppo di *T. viride*, isolato da sacchi commerciali di *P. ostreatus* infetti.

Sezioni longitudinali (spesse 1,5-2 cm) di basidiomi sani (tre per basidioma) sono state inoculate per puntura, sia alla base del gambo, che nella zona d'intersezione tra il gambo e il cappello; il testimone è stato inoculato con PDA. Tutte le sezioni così trattate sono state poste singolarmente in camera umida e incubate a  $21 \pm 1$  °C.

In corrispondenza dei punti d'inoculo, già dopo tre giorni, sono state rilevate lesioni infossate, circolari o ellittiche, più o meno estese, la cui entità è stata quantificata adottando un'opportuna scala di valutazione.

I risultati evidenziano una diversa suscettibilità al patogeno in funzione del ceppo considerato confermando, nel contempo, l'opportunità di selezionare i ceppi commerciali anche in funzione della resistenza all'antagonista.

## Endofiti fungini su querce caducifoglie nel centro Italia

**A. Mazzaglia I. Librandi e N. Anselmi**

*Dipartimento di Protezione delle Piante, Università degli Studi della Tuscia, via £  
Camillo de Lellis snc, 01100 Viterbo*

Il deperimento del bosco rappresenta una delle più inquietanti realtà fitopatologiche del nuovo millennio. Tra le piante forestali più intensamente colpite in Italia si annovera sicuramente il genere *Quercus*. Molti aspetti del fenomeno restano ancora da chiarire, in particolare la complessità e la variabilità geografica dei patogeni di debolezza determinanti il declino finale delle piante e la loro capacità di vivere nei tessuti allo stato endofitico.

Questa ricerca è stata suggerita dalla necessità di far luce sul ruolo svolto da vari endofiti patogeni di debolezza della chioma nel deperimento delle querce caducifoglie in aree geografiche differenti.

Sono state prese in considerazione cinque regioni dell'Italia Centrale: Abruzzo, Molise, Lazio, Umbria e Marche, scegliendo 24 stazioni con presenza di boschi di *Q. cerris* e/o *Q. pubescens*, rappresentativi di differenti situazioni latitudinali ed altimetriche dell'areale considerato.

Nelle annate 2002 e 2003, sono stati raccolti campioni di gemme e corteccia utilizzati per gli isolamenti *in vitro*. Gli organismi fungini endofiti sviluppatisi sono stati catalogati ed identificati, valutandone quantitativamente la frequenza di isolamento.

L'andamento climatico molto piovoso del biennio considerato, piuttosto simile in tutte le regioni considerate, ha sicuramente condizionato i risultati ottenuti.

Nei vari boschi esaminati è stata riscontrata una grande diversità tra gli endofiti presenti. I più rappresentativi appartengono a circa 18 taxa fungini che comprendono sia organismi potenzialmente patogeni, molti dei quali agenti di necrosi corticali, sia indifferenti o probabili antagonisti.

Tra i primi si conferma importante *Biscogniauxia mediterranea*, che è risultata correlata al grado di deperimento del bosco. Essa è risultata assente in Abruzzo, dove i boschi mostravano pressoché tutto buono stato fisiologico.

*Discula quercina* è stato l'unico endofita presente in tutte le stazioni e sempre con frequenze rilevanti. Tra gli altri agenti di necrosi corticale sono stati rinvenuti *Coryneum*, *Cytospora*, *Diplodia mutua*, *Fusarium*, *Monochaetia*, *Phoma* e *Phomopsis*. Tra i taxa fungini potenzialmente antagonisti meritano menzione *Acremonium*, *Aureobasidium*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Gliocladium*, *Penicillium* e *Trichoderma*.

La distribuzione e l'associazione dei vari endofiti riscontrati è apparsa molto variabile nelle varie zone, così come è risultata assai variabile la percentuale di isolamenti muti, senza sviluppo di miceli.

## Isolamento di funghi endofiti da *Picea abies* (L.) Karsten con diversi approcci metodologici.

E. Lorenzi e A.M. Picco

Dipartimento di Ecologia del Territorio e degli Ambienti Terrestri — Sezione di Micologia,

Università degli Studi di Pavia, via San Epifanio 14, 27100, Pavia

I tessuti delle piante superiori ospitano una ricca e complessa popolazione di microrganismi, tra cui quella endofitica. Per lo studio di questa ci si avvale dell'isolamento colturale diretto da vegetale, della ricerca del micelio fungino nei tessuti attraverso tecniche di microscopia, di indagini biochimiche e di studi biomolecolari. Pur essendo numerosi, in letteratura, i dati relativi ai metodi di isolamento della popolazione endofitica in *Picea abies*, un'ulteriore valutazione dell'efficacia metodologica può risultare utile ai fini della determinazione di tale popolazione in Italia in cui poco ancora è noto sull'argomento. Infatti, le modalità di trasporto e conservazione del campione, il tipo di sterilizzazione e di terreno colturale adottato variano in base allo spessore del campione, alla sua permeabilità e struttura. Vengono, in questo contesto, valutati diversi approcci metodologici al fine di definire il più idoneo per un approfondito studio della comunità endofitica in *P. abies* nel Nord Italia variando: la modalità di conservazione del campione (fresco o essiccato, 6°C o 20°C), il protocollo di sterilizzazione (facendo riferimento a quello di Petrini e Carroll, 1981, si sono variati i tempi di esposizione dell'ago all'ipoclorito di sodio e si è saggiata un'ulteriore esposizione all'etanolo dopo la frammentazione dell'ago in tre segmenti) ed il substrato colturale (MEA 2%, AA, OA, DRB, CMA). I risultati hanno evidenziato, in accordo con i protocolli suggeriti in letteratura, quanto segue: il maggior numero di isolati si ottiene da campione fresco, indipendentemente dalla temperatura di conservazione, l'esposizione per 5 minuti ad ipoclorito di sodio è risultato il miglior metodo di sterilizzazione e l'ulteriore passaggio dell'ago frammentato in etanolo non si è dimostrato utile; il CMA è il substrato che ha permesso l'isolamento del maggior numero di *taxa*. Le metodologie utilizzate hanno permesso l'isolamento di diversi *taxa* fungini, tra cui possiamo citare, per la loro abbondanza *Zythyostroma* sp. (4%), potenziale produttore di terpenoidi e antagonista di altri *taxa* fungini (Ayer and Khan, 1996), *Tiarosporella parca* (3%) noto colonizzatore degli aghi di *P. abies*, che risulta particolarmente frequente nelle peccete svizzere e austriache (Muller and Hantula, 1998) e *Sirococcus* sp. (1%). A quest'ultimo genere appartiene la specie *S. conigenus*, conosciuta quale agente causale dello "shoot blight disease" (Hansen and Lewis, 1997). Si segnala infine l'abbondante presenza di "Micelia without fructifications" (7%) sui quali sarà interessante effettuare ulteriori approfondimenti.

Ayer W.A. and Khan A.Q. 1996. Zythyostromic acids, diterpenoids from an antifungal *Zythyostroma* species associated with aspen. *Phytochemistry*, 42(6): 1647-1652.

Hansen E.M. and Lewis K.J. 1997. *Compendium of conifer disease*. APS PRESS, The American Phytopathological Society, St Paul, MN, USA.

Muller M.M. and Hantula J. 1998. Diversity of *Tiarosporella parca* in Finland, Norway and Switzerland. *Mycol. Res.*, 102(10): 1163-1168.

Petrini O. and Carroll G. 1981. Endophytic fungi in foliage of some Cupressaceae in Oregon. *Can. J. Bot.*, 59:629-636.

## ***Discula quercina*: diffuso endoflta delle querce in Italia meridionale**

R. Ubaldo, F. Mannerucci, M. Mavelli, A. Bellizzi, N. Luisi

*Dipartimento di Biologia e Patologia vegetale*  
*Università degli Studi, via Amendola 165/A — 70126— Bari*

*Discula quercina* (Westd.) v. Arx [teleomorfo: *Apiognomonina quercina* (Kleb.) v. Höhn] è noto come agente di antracnosi su piante del genere *Quercus* in Canada, Stati Uniti e Europa. Nel corso di un'indagine effettuata in venti querceti misti dell'Italia meridionale è emersa la dominanza di *D. quercina* nell'ambito delle comunità endofitiche fungine degli organi aerei, sia di piante sane che deperienti di *Quercus cerris* L. e di *Q. pubescens* Willd. In ciascun sito indagato il prelievo di campioni dalla chioma è stato eseguito nella primavera e nell'autunno 2002 e nella primavera 2003. Frammenti di gemme, rami di un anno e di tre anni sono stati seminati in piastre Petri contenenti agar-patata-destrosio addizionato con streptomicina. Dopo un periodo di incubazione di circa un mese le colonie ottenute sono state identificate. Per ogni specie fungina è stata calcolata la frequenza di isolamento.

Le entità fiingine ottenute appartenevano a oltre venti generi, con una frequenza di isolamento complessiva (media dei tre periodi e delle due specie quercine) dell'82%. Sia in primavera che in autunno *D. quercina* ha prevalso sulle altre entità fungine in entrambe le specie quercine e in tutti gli organi saggiati, benché con percentuali più basse nel legno (6,7%). Detto fungo è stato riscontrato con una frequenza del 15,6% sul totale dei frammenti seminati e con percentuali superiori al 10% in quasi tutti i boschi indagati.

Oltre a *D. quercina* sono state isolate altre specie endofitiche con noto comportamento patogenetico, peraltro associate specificamente al genere *Quercus*: *Biscogniauxia mediterranea* (de Not.) O. Kuntze, *Diplodia mutua* (Fr.) Mont. e *Phomopsis quercina* (Sacc.) v. Höhn, benché quest'ultima sia apparsa con frequenze molto basse. Fra le specie saprofito o antagoniste *Aureobasidium pullulans* (De Bary) Arn. è risultata la più frequente.

L'elevato numero di isolati di *D. quercina* ottenuti fa pensare ad un'abbondante presenza di inoculo nei boschi studiati, come già riscontrato da altri Autori in numerose stazioni italiane. Ulteriori ricerche potrebbero essere finalizzate ad approfondire l'aspetto epidemiologico dell'antracnosi per chiarire quale sia il ruolo svolto da *D. quercina* nella sindrome del deperimento delle querce e quali fattori biotici e abiotici possano indurre l'endoflta ad assumere comportamento patogenetico.

## Funghi endofiti isolati in boschi di roverella con fenomeni di deperimento in Sardegna

B.T. Linaldeddu, A. Franceschini e P. Corda

*Dipartimento di Protezione delle Piante, Sez. Patologia vegetale, Università degli Studi,*

*via E. De Nicola 9, 07100 Sassari*

Nell'eziologia dei fenomeni di deperimento, che da tempo si osservano in popolamenti quercini dell'ambiente mediterraneo, molta importanza viene attribuita ai funghi ad *ha bit us* endofitico capaci di esprimere caratteri di patogenicità quando i loro ospiti attraversano periodi di sofferenza vegetativa, soprattutto a seguito di stress idrici prolungati. Infatti, la progressiva colonizzazione di tessuti ed organi da parte di questi funghi può aggravare lo stato sanitario delle piante fino a indurre un declino vegetativo irreversibile con esito letale. Recenti ricerche effettuate in Sardegna in boschi di quercia da sughero e di roverella interessati da questi fenomeni, hanno consentito di accertare la presenza di *Biscogniauxia mediterranea*, *Diplodia mutila* e *Discula quercina*, tutti e tre endofiti con capacità patogenetiche.

Pertanto, con l'intento di definire meglio il ruolo svolto da ciascuno di questi funghi, sono state avviate ulteriori indagini per chiarire: i) la loro incidenza nel tempo e nello spazio in ospiti differenti e in condizioni stagionali diverse; ii) ~ meccanismi che regolano l'espressione della loro patogenicità; iii) la natura dei rapporti che essi instaurano con gli altri endofiti.

In questa nota si riferisce sulle indagini effettuate per caratterizzare la componente fungina endofitica presente nei rami e nelle gemme di piante di roverella, sia sane che deperenti, durante l'autunno e la primavera in tre boschi con caratteristiche stagionali differenti, situati nella Sardegna centro-settentrionale.

Complessivamente sono state isolate 30 specie fungine, la maggior parte delle quali ricorrenti saltuariamente e con bassi valori di frequenza d'isolamento. Fanno eccezione perché molto diffuse e con frequenze elevate *B. mediterranea* e *Discula quercina*, specie patogene, e *Aureobasidium pullulans*, dotata di capacità antagonistiche. *B. mediterranea* ~ risultata la specie dominante nei tre siti: i suoi valori di frequenza non variavano sostanzialmente in rapporto allo stato sanitario delle piante, alla stagione e all'organo esaminato; solo in una stazione, nella stagione autunnale e nei rami, sono risultati statisticamente più elevati. *D. quercina* è stata isolata con frequenze superiori in autunno dalle piante deperenti, mentre *A. pullulans* in primavera, dalle gemme, indifferentemente sia di piante sane che deperenti.

Infine, tra i *taxa* occasionali appare degno di menzione *Diplodia mutua* (agente di cancri e disseccamenti di specie quercine diverse) isolato, in primavera, dalle gemme di piante sane.

**La microscopia elettronica a scansione a pressione variabile nello studio delle  
strutture riproduttive di basidiomiceti.**

**S. Quaroni, M. Saracchi**

*Istituto di Patologia Vegetale, via Celoria 2, 20133 Milano*

L'evoluzione della microscopia elettronica a scansione (SEM) ha sempre avuto tra le sue finalità anche la messa a punto di tecniche e apparecchiature atte a consentire l'osservazione dei campioni biologici nelle loro condizioni naturali. L'acqua contenuta in questi campioni, che come nel caso dei funghi è il maggior componente cellulare, rappresenta il fattore operativo limitante in quanto, dovendo operare sotto vuoto, la sua rimozione è causa di pesanti modifiche strutturali e artefatti. Questo limite è ora superabile dai microscopi di ultima generazione, che consentono di mantenere un basso vuoto nella camera del campione e di generare immagini utilizzando gli elettroni retrodiffusi (microscopia elettronica a pressione variabile - VPSEM). Pertanto, questi nuovi strumenti offrono la possibilità di condurre indagini attraverso l'esame diretto dei campioni sia tal quali sia in modalità convenzionale, fornendo risultati complementari che facilitano la comprensione dei fenomeni indagati.

Vengono riportati i risultati conseguiti in campo micologico adottando la VPSEM nello studio micromorfologico delle strutture riproduttive dei basidiomiceti, esemplificati attraverso immagini ottenute su funghi laniellati e tubuliformi. Tra i primi, a rappresentare le basidiospore a parete priva di ornamentazioni, vengono illustrati i risultati relativi a *Coprinus micaceus* mentre specie diverse di *Russula* vengono riportate come esempi di funghi con spore a parete intensamente ornamentata. Con imenio tubuliforme sono stati considerati carpofori di *Fistulina hepatica* e di diverse specie afferenti alle Boletacee, sottolineandone in particolare modo la sostanziale differenza esistente tra le strutture tubuliformi.

Le osservazioni condotte hanno inoltre valutato sia i fenomeni che avvengono durante la maturazione dell'imenio sia le modalità di differenziazione delle basidiospore. Quest'ultimo aspetto assume un interesse particolare in quanto viene segnalato nelle Boletacee, per la prima volta, il particolare comportamento inerente la differenziazione delle basidiospore. La loro formazione non sembrerebbe preceduta dalla comparsa degli sterigmi all'apice del basidio ma tali strutture comparirebbero alla fine del processo. Inoltre il basidio non assume l'aspetto rigonfio ma al contrario si affossa formando un ricettacolo per le basidiospore tipicamente allungate mantenendole in tal modo strettamente aderenti tra loro.

Il confronto tra immagini ottenute su preparati allestiti in modo convenzionale e ottenute in VPSEM evidenzia le profonde modifiche causate dalla rimozione dell'acqua dai campioni. Vengono inoltre discusse le difficoltà che si sono incontrate in questo studio connesse principalmente alla disponibilità del materiale, al ridotto periodo utile alla sua osservazione e alla difficoltà di disporre di campioni presentanti momenti intermedi del fenomeno studiato.

- Quaroni S., Saracchi M. - Applicazione della microscopia elettronica a scansione a pressione variabile in micologia: morfologia delle strutture riproduttive di funghi lamellati. *Micologia Italiana*, **30, 2, 3** 1-40, 2001.
- Quaroni S., Saracchi M. - Applicazione della microscopia elettronica a scansione a pressione variabile in micologia: morfologia e dinamica di sviluppo delle strutture riproduttive nei boleti. *Micologia Italiana*, **32,2**, 9-27, 2003.

## Frequenza di funghi meristemati in monumenti della Valle d'Aosta

S. Florio, C. Buratti, E. Savino

Dipartimento di Ecologia del Territorio e degli Ambienti Terrestri, via S. Eufanio 14,  
27100 Pavia

Il gruppo dei funghi meristemati comprende funghi aventi diversa ecologia (per esempio epifiti o agenti eziologici di micosi umane e animali). In generale questa modalità di crescita è ritenuta un adattamento alla sopravvivenza in condizioni estreme o stressanti. Perciò tali funghi sono stati isolati anche da pozze ipersaline costiere e da materiale inorganico tra cui materiale lapideo (Sterfingler *et al.*, 1999).

I funghi meristemati presenti sulla roccia rappresentano un campo di indagine non completamente esplorato e ricco di problematiche non ancora risolte. Inoltre questo particolare gruppo fungino sembra essere coinvolto nei processi di biodeterioramento. Opinione corrente è che la presenza dei funghi meristemati su materiali litici sia stata finora sottostimata per problemi metodologici riguardanti sia l'isolamento che l'identificazione di tale gruppo (Urzi *et al.*, 2000).

Considerato che la ricerca di funghi meristemati è in generale effettuata con campionamenti mirati su monumenti e manufatti di interesse storico-artistico, caratterizzati da evidenti segni di biodeterioramento, si è ritenuto utile valutare l'incidenza casuale di questi funghi su substrato roccioso. Si è quindi deciso di condurre un campionamento su ruderi del Castello di Graines (Brusson - Valle d'Aosta).

È stato quindi condotto un campionamento di 10 pietre per ogni lato dell'edificio, per un totale di 40 pietre.

Queste sono state scelte in maniera puramente casuale. Il campionamento è stato effettuato mediante la tecnica degli aghi sterili e i campioni sono stati processati come descritto in letteratura (Wollenzien *et al.*, 1995).

Dall'indagine risulta che i funghi meristemati sono presenti nel 30% delle pietre campionate e i lieviti neri (gruppo affine a quello dei meristemati) nel 10%, con una distribuzione, in ciascun lato del monumento, pressochè uniforme. Il dato, perciò, suggerirebbe che l'esposizione cardinale non influenzi la distribuzione dei meristemati. Per quanto riguarda i funghi filamentosi, i generi più frequenti sono *Alternaria*, *Cladosporium* e *Epicoccum*, taxa comuni e isolati da una moltitudine di substrati tra cui materiale litico (Sterfingler, 2000).

I dati relativi al suddetto campionamento, per quanto preliminari, confermano che i funghi meristemati sono effettivamente sottostimati; al contempo lo studio effettuato getta le basi per ulteriori indagini e approfondimenti.

- Sterfingler K. (2000). *Fungi as geological agents*. Geomicrobiology Journal 17: 97-124. Sterfingler K., de Hoog G. S., Haase G. (1999). *Phylogeny and ecology of meristematic ascomycetes*. Studies in Mycology, 43: 5-22.
- Urzi C., De Leo F., de Hoog G. S., Sterfingler K. (2000). *Recent advances in the molecular biology and ecophysiology of meristematic stone-inhabiting fungi*. In O. Cifem, P. Tiano, G. Mastromei: Of microbes and art. The Role of Microbial Communities in the Degradation and Protection of Cultural Heritage. Ed Plenum, New York, pp. 3-19.
- Wollenzien U., Hoog G. S. de, Krumbein E. W., Urzi C. (1995). *On the isolation of microcolonial fungi occurring on and in marble and other calcareous rocks*. The Science of the Total Environment 167: 287-294.

## **Monitoraggio di ifomiceti acquatici nel Parco del Ticino: primi dati.**

D. Rodino, S. Tosi, G. Del Frate

*Sezione di Micologia, Dipartimento di Ecologia del Territorio e degli Ambienti  
Terrestri, Università degli Studi di Pavia, Via 5. Ep-fanio 14, 27100 Pavia*

I funghi sono tra gli organismi più abbondanti negli ambienti terrestri, ove svolgono il fondamentale riciclo della materia organica. Tuttavia essi sono comunemente presenti ed attivi anche nelle acque, sia salate che dolci. La scoperta dei funghi nei corsi d'acqua è relativamente recente: C. T. Ingold nel 1942 rileva la loro presenza nelle acque di un torrente in Inghilterra; tuttora è rimasta la consuetudine di chiamarli "funghi ingoldiani". Gli studi su questa particolare comunità fungina, dalle caratteristiche spore tetraediche e sigmoidi, atte al galleggiamento ed all'attacco al substrato necessario per la germinazione, sono piuttosto scarsi. In Italia in particolare sono stati effettuati solamente tre lavoni, condotti esclusivamente nelle regioni settentrionali. Allo scopo di colmare la lacuna sulle conoscenze di questo interessante gruppo fungino, che preferisce acque ben ossigenate e non interessate da attività antropiche, è stato iniziato il monitoraggio di un canale che scorre all'interno del Parco del Ticino, in località Parasacco (Pavia). I campionamenti hanno avuto inizio nel mese di dicembre del 2002 e sono tuttora in corso. La metodica utilizzata risulta estremamente semplice e non dispendiosa. Volumi noti di campioni di acqua raccolti dal centro del canale, vengono filtrati con l'ausilio di una pompa a vuoto, su filtri in acetato di cellulosa con porosità 8 µm. I filtri sono immediatamente colorati con lattofucsina acida che oltre ad avere la funzione di mezzo di contrasto, impedisce la germinazione delle spore raccolte. Frammenti di filtri così colorati vengono montati su vetrino per l'osservazione al microscopio ottico, a 400 ingrandimenti. Dal conteggio su una superficie nota di filtro si può facilmente risalire al numero di conidi presenti per litro di acqua. Sono stati così finora identificati 34 *taxa*, di cui 14 risultano nuove segnalazioni per l'Italia. I risultati quantitativi confermano quanto riportato da altri autori in altre zone temperate, con picchi tardo autunnali e diminuzione nel periodo primaverile, indice di un'altra peculiarità di questo gruppo fungino, ossia la loro estrema sensibilità alle variazioni di temperatura. In conclusione il basso costo di questo tipo di indagine, le caratteristiche ecologiche degli ifomiceti acquatici, la loro rapida e semplice identificazione, consentono di ipotizzare un loro eventuale inserimento tra gli indicatori biologici di qualità delle acque e non escludono un'utilità anche in ricerche sull'influenza delle variazioni climatiche sulla biodiversità. I *taxa* identificati e le numerose nuove segnalazioni confermano inoltre che la zona scelta per effettuare questo studio è particolarmente interessante e adatta alle pratiche di monitoraggio.

## Endofiti fungini su leccio

M. Nasini, A. Mazzaglia

*Dipartimento di Protezione delle Piante, Università degli Studi della Tuscia,  
Via S. Camillo de Lellis snc, 01100, Viterbo, Italy. Fax +39.0761.3574 73.*

Tra le specie quercine, il leccio è una delle meno studiate sotto il profilo delle comunità fungine residenti allo stato endofitico nei tessuti. Scopo di queste ricerche era quello di indagare sull'incidenza di endofiti fungini, patogeni e no, in gemme e rametti di uno e di tre anni di piante di leccio presenti nella città di Viterbo e dintorni. All'uopo sono stati considerati tre nuclei di 4 piante, apparentemente sane, dislocati rispettivamente lungo una strada molto trafficata vicina ad un cimitero, in un parco cittadino e nelle vicinanze di un bosco molto colpito da deperimento. Per confronto sono stati considerati anche due nuclei di roverella, molto più studiata sull'argomento, uno in città ed uno inserito nel bosco deperiente.

Dai campionamenti effettuati sono stati isolati sia taxa potenzialmente patogeni, sia antagonisti, sia indifferenti. Nel primo gruppo rientrano, in ordine decrescente di incidenza, *Discula umbrinella* (Berk & Broome) Sutton, *Alternaria* sp., *Botrytis* sp., *Fusarium lateritium* Nees, *Biscogniauxia mediterranea* (De Not.) O. Kuntze, *Verticillium* sp., *Phoma cava* Schultzer, e *Phomopsis quercina* County; nel secondo *Cladosporium* sp., *Epicoccum nigrum* Link, *Gliocladium* sp. e *Acremonium* sp.; mentre del terzo fa parte *Penicillium* sp.. Molto marcata è risultata l'influenza del singolo individuo ospite sulla composizione della comunità endofitica. Alcuni taxa noti agenti di necrosi corticali, quali *B. mediterranea* e *D. umbrinella*, mostrano una certa preferenza per i tessuti legnosi; rametti di uno o più anni, mentre per contro patogeni come *Alternaria* sembrerebbero prediligere le gemme.

Comparando i due nuclei di lecci cresciuti in città, non sembrerebbero emergere grosse differenze, ad eccezione di un più alto numero globale di isolati sulle piante cresciute lungo il margine stradale, che si traduce in un aumento di alcuni taxa come *Alternaria*, *Epicoccum*, *Cladosporium* e, soprattutto, *Botrytis*. Di questi, *Alternaria*, *Epicoccum* e *Cladosporium* sono presumibilmente da collegare alla fumaggine, piuttosto intensa sulle piante della zona, mentre *Botrytis* è probabile che provenga dagli attacchi sui fiori recisi del limitrofo cimitero. Un importante ruolo sulle associazioni endofitiche appare quindi svolto dalla vicinanza di fonti di inoculo.

L'influenza della pressione di inoculo è apparsa notevole anche sui patogeni corticali di debolezza implicati nel deperimento del bosco, come mostra la più elevata incidenza di *B. mediterranea* e *Diplodia mutila* (Fr.) Mont., sulle piante limitrofe al bosco deperiente. Dal confronto fra roverella e leccio, spiccano le differenze su alcuni gravi agenti di necrosi corticali: su leccio è assai meno frequente *B. mediterranea* e sono addirittura assenti *D. mutila*, *Cytospora*, *Coryneum* ed una seconda specie di *Phoma*. È probabile che ciò rappresenti uno dei fattori che rendono quest'ultima specie più resistente al deperimento. Restano da verificare i rapporti fra gli endofiti patogeni e quelli a carattere antagonistico.

## **Effetto repressivo del compost nei confronti di *Fusarium oxysporum* f.s. *melonis***

Maurizio Ventura, Matteo Montanari, Gloria Innocenti

*Dipartimento di Protezione Valorizzazione Agroalimentare, Alma Mater Studiorum  
Università degli Studi di Bologna, viale Fanin, 4640127 Bologna*

Il riciclaggio della frazione organica dei rifiuti rappresenta, per le società moderne, un'alternativa assai valida allo smaltimento tramite discarica o incenerimento. Il riciclaggio, infatti, oltre ad avere un basso impatto ambientale, permette il riutilizzo della sostanza organica in diversi settori agricoli. Il compostaggio è il principale processo biologico per mezzo del quale i rifiuti organici biodegradabili sono trasformati, attraverso digestione aerobica, in un prodotto igienico e ricco di humus, detto compost. Il compost di qualità, ottenuto dalla degradazione microbica di rifiuti organici selezionati di origine vegetale, è utilizzato in agricoltura come ammendante per migliorare la struttura del suolo e favorire lo sviluppo delle piante.

Il compost ha evidenziato, inoltre, anche un effetto di contenimento nei confronti di alcune malattie delle piante determinate da patogeni ad habitat terricolo. L'effetto repressivo del compost sembra essere legato alla componente biotica del compost stesso. Tuttavia l'effetto di biocontrollo sembra variare in funzione delle caratteristiche del compost, in particolare sembra essere correlato all'origine e al grado di maturazione della sua componente organica, oltre che al patosistema considerato. La modificazione delle caratteristiche chimico-fisiche mediante l'introduzione di sostanze correttive (come agenti chelanti, modificatori di acidità ecc.) o l'arricchimento artificiale con microrganismi antagonisti della massa compostata, sembra rendere più stabile ed efficace l'effetto repressivo del compost.

In prove svolte in ambiente controllato, è stato studiato l'effetto di compost esausto derivato dal processo di coltivazione di *Agaricus bisporus* (champost) raccolto in due diverse fasi del processo di maturazione (champost giovane e champost maturo) arricchito con l'isolato *Trichoderma atroviride* TA 312 B2 e di compost di qualità derivato dalla raccolta differenziata di materiale vegetale (compost verde) arricchito anch'esso con lo stesso isolato di *Trichoderma*, sulla malattia determinata da *Fusarium oxysporum* f.s. *melonis* su piante di melone in ambiente controllato. È stato, inoltre, valutato anche l'effetto dell'aggiunta di lignosulfonato di calcio (1%) nel champost maturo arricchito o non con *T. atroviride* TA 312 B2 sulla malattia causata da *E. oxysporum* f.s. *melonis*

L'effetto repressivo dell'antagonista nei confronti *E. oxysporum* f.s. *melonis* è stato osservato solo nel champost maturo arricchito con lignosulfonato. Ciò conferma che l'attività di *Trichoderma* dipende sia dalle caratteristiche chimico-fisiche del substrato, sia dal grado di maturazione della materia organica.

## Composizione della micoflora di torba non lavorata

**S. Sarrocco** M. Forti e G. Vannacci

*Dzpartimento di Coltivazione e D~fesa delle Specie Legnose “G. Scaramuzzi ‘~ Sez.  
Patologia Vegetale, Università di Pisa, Via del Borghetto, 80—56124 — Pisa. E-mail  
gyann@agr. unipi. it*

In previsione di preparare substrati di allevamento a base di torba repressivi per patogeni di origine tellurica mediante l'aggiunta di microrganismi antagonisti, abbiamo intrapreso uno studio per definire la composizione della micoflora di torba naturale proveniente da torbiera.

La torba saggata (112 — H4 secondo von Post) è stata raccolta nei dintorni di Kaliningrad (Russia) e appariva sotto forma di pani di circa 20 cm x 15 cm x 30 cm del peso di circa 3 kg. Per le analisi sono stati utilizzati tre pani. Ciascun pane è stato aperto a metà e dal suo interno, in condizioni aseptiche, sono state prelevate 10 carote (di 10 cm) la cui parte superiore è stata eliminata. Cinque carote per ciascun pane (totale 15 carote) sono state riunite ottenendo così due sottocampioni che sono stati analizzati diversamente.

Il primo sottocampione è stato setacciato direttamente su piastre Petri di 10 cm di diametro, contenenti tre mezzi (P190, semiselettivo per *Trichoderma*; PDA+Streptomicina; Water Agar), tutte le colonie presenti in tre piastre per ciascun terreno di crescita sono state isolate e, laddove possibile, identificate almeno a livello di genere.

Il materiale del secondo sottocampione è stato trasferito in 700 ml di H<sub>2</sub>O distillata sterile e mantenuta in agitazione per 10'. Il tutto è stato passato attraverso tre setacci con dimensioni delle aperture decrescenti (9, 14, 28 mesh) e il materiale che passava attraverso il setaccio più fine è stato raccolto su garza. Il materiale recuperato da ciascun setaccio e dalla garza è stato seminato in piastre Petri contenenti i tre mezzi sopra citati, effettuando 8 punti di semina ciascuna. I microfunghi che avevano origine dai punti di semina, sono stati isolati e, quando possibile, identificati almeno a livello di genere.

Dalla torba setacciata a secco sono stati isolati pochi generi largamente dominanti (*Umbelopsis*, *Penicillium*, *Trichoderma*) sia su PDA+Streptomicina che su WA. Il mezzo semiselettivo ha sostanzialmente eliminato *Umbelopsis* con un corrispondente incremento, come atteso, di *Trichoderma*.

I dati raccolti dopo setacciatura in acqua sono risultati più interessanti potendosi osservare un sostanziale incremento nel numero di isolati diversi, con la comparsa di specie a lento accrescimento, una parzialmente diversa composizione della micoflora in dipendenza della granulometria delle particelle piastrate e la scomparsa pressoché totale di due generi (*Umbelopsis* e *Trichoderma*) dominanti nella torba setacciata a secco. Quest'ultima osservazione sembra in linea con il carattere ruderale dei funghi citati che, dopo un rapido sviluppo e riproduzione, permangono nell'ambiente sotto forma di conidi che possono essere eliminati con il flusso d'acqua durante la setacciatura.

**Valutazione di un metodo rapido per la determinazione della sensibilità al difenoconazole in popolazioni di *Cercospora beticola* Sacc.**

**M. Moretti, M. Saracchi e G. Farina**

*Istituto di Patologia Vegetale, Università degli Studi di Milano, via Celoria 2, 20133  
Milano*

La cercosporiosi causata da *Cercospora beticola* è una delle principali malattie fogliari della barbabietola. Nonostante l'introduzione sul mercato di cultivar tolleranti, il controllo della malattia si basa essenzialmente sull'impiego di fungicidi, in particolare dei triazoli, prodotti sistemici dotati di meccanismo d'azione specifico e pertanto esposti al rischio di insorgenza di resistenza.

Il fenomeno si è già manifestato in passato in alcuni patogeni, mentre riduzione del livello di sensibilità ai triazoli in *C. beticola* è stata segnalata solo recentemente in Grecia, Giappone e Italia. E' importante quindi realizzare un monitoraggio della sensibilità a questi fungicidi nella popolazione del patogeno, per elaborare strategie destinate ad impedire che il fenomeno raggiunga livelli tali da determinarne la perdita di efficacia in campo.

Le metodologie generalmente impiegate a questo scopo per le popolazioni di patogeni fungini non obbligati prevedono la determinazione della EC<sub>50</sub> o della MIC del fungicida, sulla base delle percentuali di inibizione di crescita del micelio a diverse dosi di composto, su un notevole numero di ceppi. Questo metodo richiede l'impiego di grandi quantità di materiale, spazio e tempo e limita il numero dei ceppi che possono essere esaminati. Inoltre il mantenimento *in vitro* degli isolati di *C. beticola* interferisce con le loro caratteristiche. D'altra parte l'inibizione della germinazione dei conidi non è un parametro utilizzabile, essendo questa fase insensibile all'azione dei triazoli.

Scopo del presente lavoro è stato quello di valutare l'efficacia di un metodo rapido per la determinazione delle variazioni di sensibilità di *C. beticola* ai triazoli, in particolare al difenoconazole. Questo metodo, analogo a quello impiegato in passato su *Cercosporidium personatum* e *Venturia inaequalis*, prevede l'utilizzo di sospensioni di conidi ottenute direttamente dalle foglie con sintomi. Queste sospensioni vengono immediatamente inoculate su terreno colturale non trattato e trattato con il fungicida. I parametri presi in esame per la valutazione della sensibilità sono la crescita ifale a 24 ore e il numero di colonie sviluppate a 48 ore dall'inoculazione. I risultati di prove effettuate con il metodo tradizionale sulla sensibilità di tre popolazioni di *C. beticola* prelevate a fine campagna bieticola in provincia di Pavia, da 2 parcelle trattate con il fungicida secondo due differenti protocolli e da una non trattata, sono stati confrontati con quelli ottenuti sulle stesse tre popolazioni con il nuovo metodo in esame. Sono stati determinati i valori di EC<sub>50</sub> del difenoconazole nei confronti di 30 isolati, 10 per tesi. Il test di Duncan sulle EC<sub>50</sub> non ha rivelato differenze di sensibilità al fungicida tra i tre gruppi, e in una sola delle due popolazioni proveniente da campi trattati è stato individuato un ceppo resistente. L'analisi statistica dei dati sulla crescita ifale a 24 ore e sul numero di colonie a 48 ha indicato invece una significativa riduzione di sensibilità nelle popolazioni provenienti dai campi trattati.

I dati ottenuti, seppure preliminari, sottolineano le potenzialità del metodo sperimentato, che oltre a permettere un notevole risparmio di tempo e materiali, consente l'analisi di campioni più rappresentativi di popolazioni di *C. beticola*, evidenziando variazioni di sensibilità al fungicida non rilevabili con il metodo tradizionalmente impiegato.

## Uso della Scorpion-PCR nella diagnosi di *Pheiius torulosus* agente di carie bianca del legno.

G. Campanile. (\*) L. Schena (\*\*) e N. Luisi (\*)

(\*)Dli~\$jrtimento di Biologia e Patologia vegetale, via G. Amendola, 165/A, 70126

Bari, Dipartimento di Protezione delle Piante e Microbiologia Applicata, Via G.  
Amendola 165/A, 70126 Bari.

*Phellinus torulosus* Bourd et Galz, è un pericoloso agente di carie bianca che attacca soprattutto le radici e il colletto di alberi e arbusti di numerose specie vegetali appartenenti a entità sistematiche diverse. La diagnosi della malattia è lunga e laboriosa poichè basata essenzialmente sull'isolamento dell'agente patogeno e sulla sua identificazione mediante analisi morfologica e microscopica. Per la diagnosi di questo basidiomicete lignivoro le tecniche molecolari basate sulla reazione a catena della polimerasi (PCR) potrebbero rappresentare una valida alternativa ai metodi tradizionali. Scopo del presente lavoro è stato quello di sviluppare una tecnica di diagnosi molecolare basata sulla PCR in tempo reale ed in particolare sulla Scorpion PCR. A tal fine sono state amplificate e sequenziate le regioni "Internal Transcribed Spacers" (ITS 1 e FF52) di dieci isolati di *P. torulosus*. La comparazione delle regioni ITS di *P. torulosus* con quelle di altri funghi affini ha consentito il disegno di due coppie di primers specifiche (Pt1,2 e Pt6,4). Il primer Pt1 è stato modificato per ottenere un primer-Scorpion (Pt1-Scorpion) che in coppia con Pt2 ha consentito l'identificazione "in tempo reale" di *P. torulosus*. Un significativo incremento di fluorescenza è stato infatti osservato solo in presenza di DNA di *P. torulosus*, e non per altre specie fungine. E' stata inoltre, riscontrata una elevata correlazione lineare ( $r^2=0,995$ ) fra la concentrazione iniziale del DNA di *P. torulosus* e i corrispondenti cicli soglia (Ct). Ciò evidenzia la possibilità di utilizzare il metodo sviluppato sia per analisi qualitative che quantitative.

## Colonizzazione da *Bipolaris* spp. su seme di varietà italiane di *Oryza sativa* L.

M. Rodolfi, M.A. Brandolini, E. Lorenzi, D. Rodino e A.M. Picco

Dipartimento di Ecologia del Territorio e degli Ambienti Terrestri, Sezione di Micologia,  
via San Epifanio 14, 27100 Pavia

In una delle ultime revisioni dell'elenco ufficiale ISTA dei patogeni associati alle sementi (Richardson, 1990). si riconoscono in quanto patogeni del seme e con esso trasmissibili circa 1300 organismi. la maggior parte dei quali (ben il 72%) sono funghi. Alta è la pericolosità dell'uso di semente infetta o contaminata: essa può generare piante altrettanto infette e può aumentare l'inoculo patogenico del suolo, con conseguenze negative per l'intera coltura. Nello specifico caso del riso, diviene particolarmente importante la proporzionalità diretta generalmente osservabile tra quantità di inoculo fungino, che si trasmette in campo tramite l'uso di seme infetto, e tasso di semina, solitamente molto elevato per ovviare i ben noti problemi di scarsa germinabilità della semente. In aggiunta alle attività di sperimentazione condotte in campo dall'Ente Nazionale Risi, che mirano a fornire precise ed essenziali informazioni sulle caratteristiche agronomiche, merceologiche e vocazionali delle cultivars di riso italiane, si ritiene oltremodo importante indagare anche i potenziali patogeni associati al seme. Nell'ambito di un progetto finalizzato al miglioramento genetico ed al monitoraggio della biodiversità del riso coltivato in Italia, ci stiamo occupando di valutare la biodiversità fungina del seme di *Oryza sativa* L.. Per ciascuna cultivar italiana iscritta al Registro Nazionale Varietale (fornitaci dall'Ente Nazionale Risi), si stanno indagando cento semi con e senza glume secondo il protocollo raccomandato dalle Regole Internazionali per Prove su Semi (Agarwal *et al.*, 1989) e cento semi sia interi che frantumati secondo un protocollo per la ricerca di funghi endofiti del riso (Fisher and Petrini, 1992).

Fra le diverse segnalazioni preliminari finora effettuate, riferibili all'indagine di 70 cultivars, è degna di nota la colonizzazione da *Bipolaris* spp.. Sui semi vestiti, normalmente utilizzati come semente, sono state riscontrate *Bipolaris cynodontis* (su 45 cv, frequenza 2-22%), *B. oryzae* (46 cv, 2-20%), *B. sorokiniana* (10 cv, 2-6%) e *B. spicifera* (14 cv, 2-4%). Dai semi sbramati è stato possibile isolare *B. australiensis* (1 cv, 2%), *B. ausfralis* (1 cv, 4%), *B. cynodontis* (21 cv, 2-10%), *B. hawaiiensis* (2 cv, 2%), *B. oryzae* (14 cv, 2-36%), *B. sorokiniana* (1 cv, 8%) e *B. spicifera* (3 cv, 2%). Nessuna specie di *Bipolaris* è stata rinvenuta quale endofita del seme delle cultivars analizzate.

Nonostante sia ben nota l'elmintosporiosi, patologia causata da *B. oryzae*, l'effettiva ricaduta della colonizzazione da parte di altre specie di *Bipolaris* sulla coltivazione del riso non è ancora del tutto definita. A conferma del possibile, e da tempo discusso, disturbo causato da *Bipolaris* spp., si segnala come *in vitro* sia stata osservata una ridotta o assente germinabilità del seme da queste specie colonizzate.

Si sottolinea l'importanza di tali osservazioni ai fini della massima produttività e qualità delle cultivars di riso sia tradizionali che di nuova introduzione nel territorio nazionale.

### Bibliografia citata:

- Agarwal P.C., Mortensen C.N. and Mathur S.B. (1989). Seed-borne diseases and seed health testing office. Phytopathological Papers n. 30, Technical Bulletin n. 3. CAB International Mycological Institute.
- Fisher P.J. and Petrini O. (1992). Fungal saprobes and pathogens as endophytes of rice (*Oryza sativa* L.). *New Phytol.* 120, 137-143.
- Richardson M.J. (1990). An annotated list of seed-borne diseases. 4<sup>th</sup> ed. International Seed Testing Association, Zurich, Switzerland.

## ***Valsa ceratosperma*, nuovo patogeno fungino del pero**

Carla Montuschi<sup>(1)</sup> Marina Collina<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Servizio Fitosanitario - Regione Emilia Romagna, Via Corticella, 133, 40129 Bologna

<sup>(2)</sup> D4p. di Protezione e Valorizzazione Agroalimentare, Viale Fanin 46, 40127 Bologna

Un nuovo agente di cancri rameali è stato recentemente riscontrato su pero in Emilia-Romagna. Si tratta del fungo Ascomicete *Valsa ceratosperma* (Tode:Fr.) Maire, la cui forma asessuata è stata classificata dal CBS di Utrecht (Olanda) come *Cytospora vitis* Mont. (sinonimo *Cytospora sacculus* (Schwein.) Gvritschvili), responsabile della malattia denominata, nella dizione anglosassone, Valsa Canker.

I primi campioni di pero con sintomi di “Cancro da Valsa” sono pervenuti al laboratorio di Micologia del Servizio Fitosanitario Regionale nel 2001, provenienti da tre aziende (una in provincia di Modena e due di Ferrara). Le piante colpite erano di età compresa tra i 30 e i 40 anni. Nel 2002 la malattia si è diffusa ad un elevato numero di aziende localizzate nelle province di Modena, Ferrara e Bologna colpendo non solo piante a fine ciclo produttivo ma anche piante giovani a partire da 8 anni di età. Nel 2003, la malattia si è ripresentata a livelli preoccupanti, confermando la gravità della situazione. E' questa la prima segnalazione di *Valsa ceratosperma* su pero in Europa; al contrario, il “cancro da Valsa” sulle pomacee è una malattia conosciuta in Cina, Giappone e Corea. In questi paesi il patogeno è in grado di causare gravi danni prevalentemente su melo, mentre su pero e cotogno è segnalato solo occasionalmente.

I cancri da Valsa riscontrati su pero si manifestano sui rami, branche e tronco e sono facilmente confondibili, a pruna vista, con quelli causati da altri patogeni fungini come *Nectria galligena*, *Sphaeropsis malorum*, *Phomopsis mali* ed anche con *Erwinia amylovora*, responsabile del colpo di fuoco batterico. I sintomi della malattia sono osservabili già all'inizio della primavera con essiccanenti più o meno estesi della chioma. Alla base dell'organo colpito è osservabile un cancro caratterizzato da un margine profondamente fessurato. Scortecciando è sempre visibile una netta zona di contatto fra la parte sana e quella ammalata. La corteccia, in corrispondenza del cancro, tende a rigonfiarsi ed a sollevarsi. Già a partire dal mese di febbraio, sui cancri formati l'autunno precedente, compaiono le fruttificazioni picnidiche di *Cytospora vitis*, ben visibili anche ad occhio nudo come fitte punteggiature nere in rilievo. Dai picnidi, in presenza di umidità, le spore fuoriescono sottoforma di lunghi cirri gialli e, diffuse nell'ambiente con le piogge e il vento, sono responsabili delle nuove infezioni. Un'altra fonte di infezione è data dalle ascospore di *Valsa ceratosperma*, anche se il loro ruolo sembra essere secondario rispetto a quello dei conidi liberati dai picnidi. Punto preferenziale di penetrazione del fungo sembra essere la zona tra il tronco ed il primo palco di rami, posizione in cui, molto probabilmente, il fungo riesce ad insinuarsi nelle anfrattuosità della corteccia ed a penetrare nel tessuto sottocorticale attraverso microferte. I danni maggiori si hanno quando è il tronco ad essere colpito per cui il cancro tende ad estendersi all'intera circonferenza portando la pianta ad un rapido avvizzimento fino alla morte. Il fungo si conserva come micelio nei tessuti vegetali infetti e, a partire dalla fine dell'inverno, in presenza di umidità ambientale, inizia a formare i corpi fruttiferi. Il rilascio delle spore sembra possa verificarsi nell'ambito di un ampio intervallo termico in quanto i cirri sono stati osservati da febbraio fino a dicembre, ad esclusione dei mesi estivi in cui l'attività del fungo tende a rallentare. I nuovi cancri si possono osservare in primavera, causati dalle infezioni avvenute l'autunno precedente, e in autunno, in seguito alle infezioni primaverili.

**Valutazione della biodiversità morfologica e genetica come criterio di classificazione del genere *Neofabrea*.**

E. Chierici, E. Baraldi, P. Bertolini

*CRJOF, Dipartimento di Protezione e Valorizzazione Agroalimentare, Università di Bologna, via Fanin 46, 40127 Bologna*

I funghi responsabili del marciume Ienticellare dei frutti e di cancri sulle piante di pomacee sono stati a lungo considerate appartenenti al genere *Pezicula*, ma studi recenti hanno permesso una ri-classificazione includendoli nel genere *Neofabrea*. La nuova classificazione tassonomica ha dato luogo ad accessi e lunghi dibattiti soprattutto per quanto riguarda *N. malicorticis* e *N. perennans*; queste vengono, infatti, considerate specie distinte nel Nord America mentre in Europa sono classificate entrambe come *N. malicorticis*. Nella presente ricerca si è cercato di chiarire la filogenesi delle popolazioni di *Neofabrea*, presenti su pere e mele in Emilia Romagna, tramite uno studio morfologico-molecolare. In particolar modo la caratterizzazione molecolare è stata effettuata tramite l'analisi di tre sequenze (ITS del rDNA nucleare, parte della piccola subunità del rDNA mitocondriale e parte del gene per la r3-tubulina). I risultati finora ottenuti consentono una preliminare caratterizzazione filogenetica del genere *Neofabrea*.

**Utilizzazione di sorgenti di azoto inorganiche e organiche da parte del micelio in coltura pura di *Boletus aereus* Bull.: Fr., *Boletus aestivalis* (Paulet) Fr., *Boletus edulis* Buli.: Fr. e *Boletus pinophilus* Pilat et Dermek**

Angelini P., Granetti B., Bellim M.

Dipartimento di Biologia Vegetale e Biotecnologie agroambientali, Borgo XX Giugno, 74  
06121 Perugia

E' stata esaminata la capacità del micelio di *Boletus aereus*, *B. aestivalis*, *B. edulis* e *B. pinophilus* a utilizzare differenti sorgenti di azoto. La crescita del micelio è stata esaminata su substrati solidi e liquidi contenenti singole fonti di azoto inorganico (fosfato di ammonio bibasico, nitrato di ammonio, nitrato di calcio e nitrato di potassio) ed organico (amminoacidi, BSA e chitina) a differenti concentrazioni. Dopo 40 giorni di coltura l'accrescimento miceliare è stato valutato in base al diametro e al peso secco delle colonie. Le specie fungine esaminate hanno manifestato una diversa capacità a utilizzare le singole fonti di Azoto.

L'analisi della vananza ha evidenziato che l'incremento del diametro delle colonie e del peso secco del micelio è dovuto ad un effetto della singola fonte di N, o della concentrazione o ad un'interazione dei due fattori.

Il micelio di *Boletus aereus*, *B. aestivalis* e *B. edulis* cresce abbastanza bene in substrati contenenti composti ammomacali o nitrati come singole fonti di N; il micelio di *Boletus pinophilus*, invece, non è stimolato da sostanze azotate inorganiche.

Tra gli amminoacidi, la glicina, l'alanina, l'argiina, l'acido aspartico, l'acido glutammico, l'asparagina, la glutammina e la senna sono risultati ottime sorgenti di azoto per tutte le specie sia pure con accrescimenti differenziati tra loro.

L'assimilazione di BSA e chitina da parte del micelio delle quattro specie di *Boletus* è piuttosto esigua.

In conclusione si può affermare che le specie fungine esaminate hanno mostrato forti differenze di comportamento e questo fatto dovrà essere tenuto presente quando si vorrà produrre micelio da utilizzare come inoculo per la produzione di piante micornizzate.

**Le regioni ITS e IGS del rDNA come strumenti per la classificazione di alcune specie di *Aspergillus* spp.**

A. Zanzotto<sup>1</sup>, S. Odorizzi<sup>2</sup> e P. Marciano<sup>2</sup>

*Istituto Sperimentale per la Viticoltura, Viale XXVIII aprile, 26, 31015 Conegliano (TV)*  
*<sup>2</sup>Dz-p. Territorio e Sistemi Agro-forestali (TESAF) - Università di Padova, Agripolis, Legnaro (PD)*

RIASSUNTO

L'analisi degli spazi trascritti interni (ITS) e degli spazi intergenici (IGS) del rDNA (DNA ribosomale) si è dimostrata un utile strumento per la classificazione di *Aspergillus* spp. Le regioni ITS e IGS di ceppi di *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus awamori* e *Aspergillus aculeatus* isolati da campioni di uva provenienti da varie regioni italiane, sono state amplificate tramite PCR (Carbone e Kohn, 1999; Appel e Gordon, 1996) ottenendo per tutti un amplicone di 600 pb e 400 pb, rispettivamente. Sulla base delle sequenze ottenute da questi ceppi e da altri ottenuti da collezioni pubbliche, sono stati generati degli alberi filogenetici. Per la regione ITS questi sono stati, successivamente, integrati con sequenze presenti nel sito dell'NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Gli isolati si sono riuniti in cluster sulla base dell'appartenenza alla medesima specie, o a specie affini, indipendentemente dalle zone geografiche e dei substrati di provenienza. L'analisi delle regioni ITS e IGS del rDNA non solo ha confermato la collocazione tassonomica dei ceppi, eseguita precedentemente col metodo tradizionale, ma ha permesso anche di valutare la variabilità intraspecifica di questo genere.

Bibliografia

1. Appel D.J. e Gordon T.R. (1996) *Molecular Plant-Microbe Interaction*, 9, 125.
2. Carbone I. e Kohn L. (1999) *Mycologia*, 91(5), 553.

## Terreni selettivi di coltura per ceppi dei generi *Aspergillus* e *Penicillium* isolati da uve

G. Lucchetta, M. Borgo

*Istituto Sperimentale per la Viticoltura, Sezione Biologia e Difesa, viale XXVIII Aprile, 31015 Conegliano (TJ-9)*

Lo studio della contaminazione micotica condotta nelle annate 2001-2002 su uve di diversa provenienza e a differente livello di maturazione, ha messo in evidenza problematiche di carattere metodologico nei riguardi della scelta dei substrati selettivi impiegati nelle analisi micologiche. L'obiettivo delle analisi da noi effettuate è stata la valutazione della presenza di specie dei generi *Aspergillus* e *Penicillium*, in particolare di specie potenzialmente tossigene, la cui valutazione, su uve mature o surmature è stata spesso reso difficile dalla presenza di una cospicua componente di lieviti nella microflora. Per ridurre tale interferenza negativa, sono stati valutati dei substrati alternativi che, sopprimendo o riducendo la crescita delle specie di lievito presenti, permettano al contempo lo sviluppo delle altre specie fungine.

Sono stati valutati, da un lato aspetti del metabolismo che differenziano lieviti e funghi, e dall'altro l'impiego di composti chùnici attivi selettivamente sulla crescita dei lieviti.

Nel primo caso abbiamo considerato il substrato denominato Amido Agar (AA), contenente come sola fonte carboniosa l'amido, mentre nel secondo sono stati considerati fungicidi usati anche in viticoltura, folpet (tioftalimmidi) e dichloran (nitroaniline).

Tutti gli isolati fungini e di lievito sono stati isolati da uve raccolte e già sottoposte ad analisi nell'annata 2002; per le prove con AA sono state impiegate le specie *Candida parapsilosis*, *Debaryomyces hansenii*, *Aspergillus niger*, mentre per le prove effettuate con i fungicidi le specie *Candida parapsilosis*, *Kloeckera apiculata*, *Rhodotorula mucilaginosa* e i miceti *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus versicolor*, *Penicillium brevicompactum*.

Sul substrato AA sono state poste ad incubare delle sospensioni di conidi e di cellule di lievito, a differenti concentrazioni provenienti, rispettivamente, da colture liquide di lieviti in fase esponenziale (su YPD) e da sospensioni conidiche acquose ottenute da colture su piastra di *Aspergillus* (su MEA). Il risultato, da osservazione della crescita dopo almeno 7 giorni, ha permesso di verificare l'effetto di inibizione esercitata dal substrato solo sulla crescita degli isolati di lievito, mentre l'isolato fungino non ha subito un effetto significativo.

L'efficacia di folpet è stata testata sia sui lieviti che sui funghi micelieri; per i primi su substrato liquido (YPD), per i secondi su substrato solido (CYA), entrambi addizionati di quantità crescenti di principio attivo, da 10 a 1000 mg/l; l'effetto di inibizione è stato valutato, per i primi sull'andamento della curva di crescita, per i secondi come riduzione della crescita radiale dopo 6 giorni di incubazione.

Folpet ha dimostrato di rallentare, per concentrazioni di 100 mg/l, e di inibire completamente, per concentrazioni pari o superiori a 200 mg/l, la crescita dei lieviti; per i funghi micelieri la concentrazione massima tollerata da 4 delle 5 specie considerate è stata pari a 200 mg/l, con riduzione percentuali della crescita comprese tra il 11,4 e il 45,4%. La specie che si è dimostrata più sensibile, tollerando al massimo la concentrazione di 100 mg/l, è stata *Aspergillus carbonarius*.

L'efficacia di dichloran è stata preliminarmente valutata solo per i funghi micelieri; l'effetto del composto si è dimostrato più pesante rispetto a quello di folpet, nei confronti degli isolati fungini, con riduzioni di crescita, già a concentrazioni pari a 100 mg/l, comprese tra il 47,8 e il 98,2%, più evidenti nei confronti delle specie di *Aspergillus* della Sezione Nigri.

*Lactarius & Russula*: analisi spazio-temporale dei processi di fruttificazione in alcuni  
ecosistemi forestali della Toscana

Elena Salerni & Claudia Perini

Dipartimento di Scienze Ambientali “G. Sarfatti”, via P. A. Mattioli~ 4—53100 Siena

I dati riportati in questa sede si riferiscono ad indagini micocenologiche effettuate nell’arco di circa 25 anni presso il Dipartimento di Scienze Ambientali “G. Sarfatti” dell’Università degli Studi di Siena. Grazie a questo notevole set di informazioni è possibile evidenziare la distribuzione sul territorio e di valutare i cambiamenti spazio-temporali nei processi di fruttificazione in riferimento alla vegetazione, al clima e ad altri parametri ambientali disponibili. In questa sede si sono estrapolate le informazioni relative ai soli generi *Lactarius* e *Russula*.

La scelta di approfondire le conoscenze su questo gruppo di specie si è basata sul crescente interesse che l’ordine delle *Russulales* riveste: vi appartengono 2 famiglie, 10 generi e oltre 400 specie, la maggior parte ampiamente distribuite, tanto da essere considerato un ordine cosmopolita. Oltre l’interazione tra le forme agaricoidi di certe *Russulaceae* e alcuni generi gasteroidi, che già da tempo è fonte di spunti per nuovi studi filogenetici, negli ultimi anni sono state messe in evidenza anche interessanti relazioni trofiche tra il genere *Russula* e alcune orchidee, organismi quest’ultimi facenti parte di Red-list di numerosi paesi.

Le indagini micocenologiche a cui si fa riferimento sono state effettuate in 47 stazioni permanenti situate in un’area geograficamente molto ampia e orograficamente variabile che si estende dai terreni sabbiosi o rocciosi della costa mediterranea, attraverso le pianure alluvionali e le colline delle province di Grosseto e Siena, fino all’Appennino centrale. Il clima, tipicamente mediterraneo sulla costa, passa a submediterraneo e continentale nelle stazioni più interne e in quelle con maggiore altitudine. Le condizioni climatiche della costa risultano ottimali per lo sviluppo di querceti sempreverdi, mentre quelle dell’entroterra favoriscono lo sviluppo di querceti decidui. Al di sopra dei 1000 m s.l.m. il faggio e l’abete sono le essenze arboree maggiormente rappresentate.

In totale nelle diverse tipologie forestali indagate (abetine, calluneti, castagneti, querceti decidui e sempreverdi) sono state trovate 82 specie di cui 28 appartenenti al genere *Lactarius* e 54 al genere *Russula*.

Il maggior numero di specie è stato osservato negli ecosistemi forestali posti all’estremità dell’ideale transetto altitudinale considerato: nei querceti sempreverdi della costa (34 *Russula* e 17 *Lactarius*) e nelle abetine (31 *Russula* e 11 *Lactarius*). I calluneti invece, ambienti degradati la cui evoluzione naturale è stata rallentata dall’inserimento del pino, rappresentano l’habitat con minor numero di specie (4 di *Lactarius* e 3 di *Russula*).

Oltre alla relazione tra processi di fruttificazione, temperatura e piovosità, è stata evidenziata una dipendenza dei due generi dall’altitudine, dall’età e complessità dell’ecosistema forestale e, in determinati casi, dall’essenza arborea dominante.

## Produzione ed impiego di polisaccaridi da biomasse fungine

Di Mario E., Iori V., Galli E., Rapanà P, Tomati U.

*Istituto di Biologia Agroambientale e Forestale-C.N.R. -Area della Ricerca di Roma]*

*Via Salaria Km. 29,300 — 00016 Monterotondo Scalo (Roma)*

*Tel.06 90672654 Fax.06 90672990*

*E-mail: emanuela.galli~ibafcnr. it*

L'impiego di biomasse fungine per la produzione di polisaccaridi è un'interessante prospettiva per biotecnologie mirate al riciclo di rifiuti e reflui agroalimentari in prodotti di interesse industriale.

E' stata presa in considerazione la possibilità di ottenere alcune classi di polisaccaridi, in particolare chitina e f3-glucani, utilizzando reflui agroalimentari come substrato di crescita per miceli di funghi saprofiti eduli.

La ricerca ha preso in considerazione nove ceppi fungini: *Auricularia auricula-judae* (SMR 0054), *Trametes versicolor* (SMR 0117), *Lentinula edodes* (SMIR 0090), *Pleurotus ostreatus* (SMR 0684), *Armillaria mellea* (SMR 0439), *Pleurotus ferulae* (SMR 0785), *Pleurotus pulmonarius* (SMR 0232), *Stropharia aeruginosa* (SMR 0181), *Pleurotus sajorcaju* (SMR 0121). La chitina estratta dai suddetti ceppi e analizzata tramite spettroscopia IR presenta un grado di acetilazione variabile fra il 35 e il 40%, notevolmente più basso di quello riscontrato nella chitina industriale. La chitina è un materiale insolubile che deve essere trasformato in chitosano, forma deacetilata della chitina, per il suo utilizzo nell'industria cosmetica, alimentare e farmaceutica. Le chitine sono state deacetilate con idrolisi chimica e biologica utilizzando la chitina deacetilasi presente nei funghi e da essi facilmente estraibile. L'idrolisi biologica ha permesso di ottenere chitosam con grado di acetilazione di circa il 20%.

Dal micelio di *Lentinula edodes* è stato estratto un f3-glucano, identificato come lentinano, di cui è stata determinata la struttura tramite spettroscopia NMR. b 13-glucani sono polisaccaridi presenti nella parete cellulare dei funghi, interessanti per le loro proprietà farmacologiche, antitumorali, antivirali e anticoagulanti, dipendenti dalla loro particolare struttura ramificata.

**Su una collezione di macromiceti conservata nel Museo Botanico  
dell'Università di Pisa**

G. Monti, L. Amadei, S. Maccioni

*Dipartimento di Scienze Botaniche dell'Università, via L. Ghini 5, 56126 Pisa*

Si tratta di una collezione “sui generis” consistente in circa 300 campioni di macromiceti, raccolti in massima parte tra il 1970 ed il 1972 in Toscana, allorché ad uno di noi (G.M.) fu affidato il compito di risistemare tutte le collezioni dell'ex Istituto di Botanica dell'Università di Pisa.

Fino alla fine degli anni Ottanta i funghi erano conservati in barattoli cilindrici di vetro, con tappo smerigliato in soluzione acquosa di formaldeide al 3%, successivamente sostituita con soluzione di alcool etilico al 50%. Dopo tali trattamenti ~ ovvio che la colorazione si perda, tuttavia i macromiceti rimangono di una certa consistenza e sono utilizzabili per verifiche a livello citologico e/o sporale.

Di rilievo il fatto che, tra i pochi esemplari raccolti prima del 1970 alcuni sono da ascrivere a famosi naturalisti quali Egidio Barsali (1904) e Alberto Chiarugi (1931), che risultano anche i reperti più antichi.

Da rimarcare inline che alcuni reperti, come *Amanita beckeri*, *Pulveroboletus lignicola*, *Entoloma bloxami* ed altri, sono piuttosto rari.

## Prove di ectomicorrizzazione con miceli isolati da sporomata di *Tuber magnatum*

A.Vianello

*DIP. TE. RIS. Sezione Botanica, Corso Dogali JM, 16136 Genova*

Gli studi condotti fino ad oggi testimoniano che la ectomicorrizzazione di essenze forestali con *Tuber magnatum* è molto difficile da ottenere con il metodo di inoculo sporale. La metodologia che sembra più promettente è quella dell' inoculo miceliare.

Dopo numerosi isolamenti da sporoma di *T. magnatum* sono state ottenute diverse linee di micelio su terreno Agar Moser in tubo e in piastra.

In autunno e in primavera i miceli analizzati al microscopio ottico sono stati posti a diretto contatto di radici di *Corylus avellana* e *Quercus cerris* in condizione di semi sterilità. Dopo circa sei mesi si è proceduto al controllo degli apparati radicali. Questi ultimi sono risultati essere abbondantemente ectomicorrizati. L'analisi morfologica ha evidenziato ectomicorrize riconducibili sia a *Tuber magnatum* che a ***Tuber maczdatum***.

Attualmente si stanno effettuando nuovi inoculi avendo particolarmente cura di tenere separati i diversi ceppi di micelio.

## La componente fungina in popolamenti di boschi con *Quercus rubra* L. dominante nel Monte di Portofino (Liguria).

M. Zotti e S. Gentile

Università degli Studi di Genova, Dipartimento per lo Studio del Territorio e delle sue Risorse (Dip. Te.Ris.), Comparto Botanico, Corso Dogali 1 M, 16136 Genova.

Nonostante l'intero territorio del Promontorio di Portofino risulti ampiamente studiato sotto il profilo della vegetazione, ne è un esempio il recentissimo lavoro di Gentile *et al.* (in corso di stampa), solo alcune zone sono state fino ad oggi prese in considerazione per quanto concerne gli aspetti micologici (Zotti, 2002).

Questo lavoro si basa su studi, riguardanti il Parco del Monte di Portofino, che sono finalizzati alla ricerca ed evidenziazione delle relazioni tra comunità vegetali e macrofungine, avvalendosi anche dell'analisi di ectomicorrize. Le aree prese in considerazione sono quelle di popolamenti vegetali caratterizzati dall'inserimento e integrazione della specie esotica *Quercus rubra*. Quest'ultima, d'origine americana, è da tempo largamente utilizzata per rimboschimenti in vari paesi dell'Europa temperata. Anche i popolamenti qui esaminati sono rappresentativi di boschi d'impianto di una cinquantina d'anni d'età, localizzati nelle parti più elevate, da 450 in fin quasi alla vetta del Monte (610 m). Lo strato arboreo è costituito da esemplari sicuramente piantati, ma nel sottobosco sono presenti esemplari novelli, nati anche da seme e ben affrancati. L'analisi fitosociologica dei popolamenti porta ad attribuire a questa specie un autentico ruolo di vicariante della nativa *Quercus petraea* Liebl. (qui stesso, a sua volta, spesso vicariata da *Castanea sativa* L.). Il corteggio floristico relativo è, infatti, molto affine a quello dell'associazione *Physospermo cornubiensis-Quercetum petraeae* (*Fraxino-Carpinion*; *Fagetalia sylvaticae*; *Querco-Fagetea*).

L'analisi, sia qualitativa che quantitativa della componente macrofungina, ha riguardato due aree campione rispettivamente, di 40 e di 300 mq. Nei periodi favorevoli alla crescita fungina, con una frequenza di uno ogni 10-15 giorni, sono stati eseguiti un totale di 44 rilevamenti micologici, distribuiti nell'arco di 3 anni. Le diverse annate sono state caratterizzate da periodi particolarmente favorevoli ai processi di sviluppo degli sporomata, così da assicurare una buona attendibilità dei dati registrati. In totale sono 63 le specie fungine identificate, tutte di *Basidiomycota*, così ripartite nei diversi gruppi trofici:

42 ectomicorriziche, 12 saprotrofe terricole o umicole, 8 saprotrofe lignicole, 1 saprotrofa di lettiera. Lo studio di campioni di apici radicali di *Q. rubra* ha permesso la descrizione di 15 ectomicorrize, per quattro delle quali è stata possibile l'attribuzione alla specie fungina. La maggior parte delle specie ectomicorriziche di questi boschi di *Q. rubra* è presente anche nei boschi di latifoglie (in particolare di castagno), delle aree limitrofe. La facilità di naturalizzazione di *Quercus rubra* sembrerebbe quindi correlabile anche con una sua alta capacità di adattamento a rapporti ectomicorrizici con numerose specie fungine, «generiche» delle latifoglie. Ulteriore conferma viene anche dal significativo numero di ectomicorrize riscontrate a livello degli apici radicali di *Quercus rubra*.

GENTILE S., BARBERIS G., MENOZZI B., ZANONI T., (in stampa). — Fitocenosi e carta della vegetazione del Promontorio di Portofino.

Zorri M., 2002 — La componente fungina in aggruppamenti vegetali di territori liguri a diversi gradienti di mediterraneità ed antropizzazione. Tesi di dottorato di ricerca. Università di Catania.

## Metodo rapido PCR-RFLP per l'identificazione di isolati di *Pleurotus eryngii*

P. Marongiu, E. Maddau e F. Marras

Dipartimento di Protezione delle Piante, Sezione di Patologia Vegetale, Facoltà di

Agraria, Via E. De Nicola, 07100 Sassari

In questo studio è stata determinata la sequenza nucleotidica di un segmento del gene del fattore di allungamento 1-alfa (EF 1a) in isolati di *Pleurotus eryngii* da *Eryngium* spp. e di *P. eryngii* da *Ferula communis*. Tale gene è stato da noi prescelto per accertare l'eventuale esistenza di varianti molecolari atte a distinguere le due popolazioni. Il DNA genomico, estratto dai carpofori, è stato amplificato con primers specifici e il prodotto di 584 bp è stato sottoposto ad analisi di sequenza. Il confronto tra le sequenze EF 1a ha messo in evidenza la presenza di 4 sostituzioni nucleotidiche tra quelle di *P. eryngii* da *Eryngium* spp. e quelle di *P. eryngii* da *Ferula*; al contrario nessuna differenza è stata riscontrata all'interno di ciascuna popolazione. Una di queste sostituzioni nucleotidiche introduce un sito di restrizione *NcoI* nella sequenza EF 1a di *P. eryngii* da *Ferula*. La digestione del prodotto di 584 bp da *P. eryngii* da *Ferula* con l'enzima *NcoI* genera due frammenti di 439 bp e 144 bp, messi in evidenza mediante elettroforesi su gel di poliacrilamide all'8%, mentre il frammento amplificato da *P. eryngii* da *Eryngium* spp., non presentando nessun sito di restrizione per tale enzima, non viene digerito. La metodica è stata legittimata da saggi su 60 isolati di *P. eryngii* (30 da *Eryngium* e 30 da *Ferula*) ottenendo una concordanza del 100% con i dati di sequenza. In conclusione il metodo proposto è semplice, rapido ed affidabile e può essere impiegato in analisi di routine per distinguere le due popolazioni di *P. eryngii* anche a scopo merceologico.

## Integrazione di caratteri genetici e chemotassonomici per la caratterizzazione di *Cladosporium tenuissimum*, iperparassita di agenti di ruggine

G. Assante\*, S. Moricca<sup>§</sup>, M. Moretti\*, M. Saracchi\*, G. Torraca<sup>§</sup> e A. Ragazzi+

\* Istituto di Patologia Vegetale, Università degli Studi, Via Celoria 2, I-20133 Milano; §

CNR, Istituto per la Protezione delle Piante, Via Madonna del Piano, I-50019 Sesto Fiorentino (Firenze); + Dipartimento di Biotecnologie Agrarie — Sezione Patologia Vegetale, Università, Piazzale delle Cascine 28, I-50144 Firenze

Il genere *Cladosporium* è un taxon comprendente più di 700 specie, la cui forma ascofora, frequentemente attribuita al genere ascomicete *Mycosphaerella*, è rara e proprio a causa dell'assenza dei teleomorfi, l'inquadramento tassonomico delle specie afferenti a questo genere è di difficile attuazione. L'espressione morfologica variabile e l'ampia plasticità fenotipica si traduce in caratteristiche morfo-culturali scarsamente discriminanti, che non consentono una accurata attribuzione dell'epiteto di specie ai singoli individui.

La specie *Cladosporium tenuissimum* è cosmopolita ed ubiquitaria. La dimostrata attività antagonistica di *C. tenuissimum* verso temibili agenti di ruggine, la capacità di produrre metaboliti biologicamente attivi verso un ampio spettro di crittogame e la valenza ecologica evidenziata dalla elevata persistenza di campo, suggeriscono di verificare la potenzialità di questo micete come agente di biocontrollo, rendendo imperativa la messa a punto di metodi di identificazione certi e inequivocabili.

Il metodo del DNA fingerprinting rappresenta oggi un potente strumento per l'identificazione, la diagnosi e l'inquadramento tassonomico di entità microbiche. Il DNA genomico totale di vari ceppi europei di *Cladosporium* sp. isolati da ecidiospore dell'agente di ruggine vescicolosa del pino, *Cronartium flaccidum*, e della sua forma autoica *Peridermium pini*, è stato estratto e le regioni ITS1 e ITS2 comprendente il gene 5.8S del rDNA sono state sequenziate. Gli isolati ad attività iperparassita sono stati ascritti in modo inequivocabile alla specie *C. tenuissimum* sulla base delle sequenze degli "spacers" ITS1 e ITS2 e del gene interno 5.8S dell'rDNA.

Dal confronto nelle banche dati GenBank ed EMBL, *C. tenuissimum* ha rivelato elevata similarità con *C. sphaerospernum*, *C. cladosporioides*, *C. oxysporum* e *C. herbarum* con un grado di omologia rispettivamente del 94.6%, 96.3%, 94.4% e 95.2% in un frammento di 540bp della regione sopra descritta. Il gene maturò 5.8S, ovviamente più conservato delle regioni non codificanti adiacenti, è risultato avere identica lunghezza (16 lbp) in tutte le specie tranne che in *C. herbarum* (160bp). Le uniche differenze nel gene sono risultate una transizione T-4C al residuo 13 in *C. sphaerospernum*, una trasversione G→\*T al residuo 21 in *C. cladosporioides*, una seconda trasversione C→~G al residuo 81 in *C. tenuissimum* e la perdita di un residuo G (delezione) alla posizione 141 in *C. herbarum*.

L'identificazione del fungo sulla base delle sequenze dell'Unità di Ripetizione del DNA ribosomiale ha trovato supporto e validazione nel confronto con la produzione di metaboliti secondari: quattro ceppi di *C. tenuissimum*, di diversa provenienza geografica (due regioni italiane, Toscana e Puglia due regioni europee, Inghilterra e Grecia), isolati da ecidiospore di *Cronartium flaccidum* o *Peridermium pini*, e convenzionalmente identificati, producono una famiglia di metaboliti a spiccata attività antifungina, i cladosporoli A-E. La coltura dei ceppi su terreno a base di estratto di malto e peptone conferisce una caratteristica pigmentazione gialla sul retro delle colonie, dovuta alla produzione di questi metaboliti.

L'esame di caratteristiche distintive indipendenti, come quelle morfologiche, chimiche e biochimiche, e la loro integrazione, hanno consentito un'esatta identificazione e un'adeguata collocazione tassonomica di *Cladosporium tenuissimum*.