

Riassunti

del XVII Convegno Nazionale di Micologia - Pavia

10 - 12 novembre 2008

Espressione di malattia nell'endofitismo: da ipotesi a realtà

Alessandro Ragazzi

*Dipartimento di Biotecnologie agrarie - Sezione di Patologia vegetale
Università degli Studi di Firenze, Piazzale delle Cascine, 28 50144 Firenze
alessandro.ragazzi@unifi.it*

Le simbiosi endofitiche presentano molteplici aspetti e ruoli, funzionali ed ecologici, da definire, tali comunque da porsi come frontiera di studio affascinante ed intrigante.

Un significativo numero di microrganismi fungini mostra, nei rapporti con la pianta, ruoli diversi, in funzione della componente stazionale e dello stato della pianta stessa. Ne è un esempio *Chaetomium globosum*, conosciuto come endofita, saprotrofo, patogeno.

La durata della vita della pianta è tale da permettere il manifestarsi di situazioni diverse: da stati di equilibrio a stati di alterazione fisiologica (deperimento). Ed è proprio la lunga vita delle specie arboree forestali che ha portato ad ipotizzare che alcuni microrganismi endofitici potessero, al mutare delle condizioni dell'ospite, essere capaci di esprimere la propria patogenicità, non più controllata dalla pianta stressata, accelerando così lo stato di deperimento della stessa sino a portarla a morte.

Non è infatti pensabile che negli 80/120/300....anni ed oltre di vita, una specie forestale non incontri elementi di disturbo, arrecanti variazioni dello stato sanitario, rallentamento o blocco di alcuni meccanismi di difesa, situazioni tutte innescanti l'azione patogenetica di alcuni degli endofiti fungini da sempre ad essa associati.

Ne deriva che il processo infettivo non viene più controllato, sfociando quindi in malattia; si annulla così lo stato di "antagonismo bilanciato", ritenuto proprio degli endofiti, a favore "dell'antagonismo sbilanciato", proprio dei patogeni (Schulz *et al.* 1999).

Nelle specie forestali, infatti, nella loro lunga vita, è ipotizzabile che l'equilibrio non sia né stabile né duraturo, tanto che alcuni endofiti possono essere connotati come "endofiti a potenziale espressione patogenetica".

Esempio realistico di quanto sopra è il rapporto che intercorre tra gli ascomiceti *Biscogniauxia mediterranea* (Anselmi *et al.*, 2002; Franceschini *et al.*, 2002) ed *Apiognomonina quercina*, con l'anamorfa *Discula quercina*, e le diverse specie afferenti al genere *Quercus* (Moricca e Ragazzi, 2007; Sieber, 2007); altrettanto può dirsi per l'ascomicete polifago *Botryosphaeria dothidea* (Sanesi *et al.*, 2007; Slippers et Wingfield, 2007).

Le entità di cui sopra colonizzano, per un lungo indefinito ed indefinibile periodo, le piante in maniera asintomatica, tanto che sono comunemente isolabili anche da individui sani, variando ovviamente la frequenza di reperimento, rispetto alle deperienti o deperate.

Allorchè però le piante vanno incontro a senescenza, naturale o indotta, o comunque allorchè vivono momenti di stress (essenzialmente idrico in Italia) si comportano da patogeni inducendo ben precisi sintomi che sfociano nella morte degli organi colonizzati ed anche dell'intera pianta.

Il momento di passaggio dalla vita endofitica al comportamento patogenetico non è facilmente definibile, né temporalmente né da un punto di vista fisiologico, dipendendo dai tratti genetici della pianta e del microrganismo e dalle condizioni stazionali. Tuttavia, se da un lato la pianta in senescenza o in sofferenza non esprime più alcuni meccanismi di difesa, in parallelo le carenze di nutrienti e di acqua che si determinano nell'apoplasma pongono l'endofita in uno stato di "allerta", da cui consegue l'inizio della moltiplicazione e della produzione di spore e conidi che, dopo avere colonizzato ed infettato, evadono assicurando al microrganismo fungino la sopravvivenza.

La componente endofitica delle specie forestali resta ancora, in buona parte, da essere esplorata; altrettanto è da comprendere, e in termini epidemiologici sarebbe determinante, se uno stesso genotipo può assumere ruoli diversi: endofitico, saprofitico, patogenetico.

Lo stato attuale dei generi *Phaeocremonium*, *Phaeomoniella* e di Botryosphaeriaceae su vite e altri ospiti

Laura Mugnai, Salwa Essakhi

Dipartimento di Biotecnologie agrarie – Sezione Patologia vegetale
P.le delle Cascine, 28, Firenze
laura.mugnai@unifi.it

Le malattie del legno della vite hanno rappresentato fino ad una ventina di anni fa, un settore poco sviluppato della Patologia vegetale, in cui si annoveravano casi patologici segnalati in molti paesi diversi. L'interesse sempre crescente che queste malattie, prime fra tutte quelle del complesso del mal dell'esca, riscuotono da una ventina di anni a questa parte, in tutte le zone viticole del mondo, ha prodotto un significativo avanzamento delle conoscenze sull'argomento e diretto l'attenzione verso un vero crogiuolo in cui si mescolano specie fungine diverse, molte delle quali mai segnalate in precedenza. Sono stati così descritti alcuni nuovi generi ed è stata riconsiderata la posizione tassonomica di alcune specie note. Fra i generi più frequentemente individuati, molto spesso in uno stesso campione di legno, si trovano certamente i funghi *Phaeomoniella* (*Pa*) e *Phaeocremonium* (*Pm*), inizialmente rappresentati essenzialmente da *Pm. aleophilum* (teleomorfa *Togninia minima*) e *Pa. chlamydospora*, per i quali l'estendersi dei campionamenti a piante di vite provenienti da paesi, cultivar ed età diverse, e da piante ospiti diverse, ha portato ad un curioso paradosso: nel caso di *Phaeocremonium* l'individuazione di una grande variabilità delle popolazioni all'interno del genere che si è rivelato, con diverse sue specie, presente su molti ospiti, incluso l'uomo, e che ha portato, nel caso della vite, alla segnalazione e descrizione di un numero eccezionalmente alto di specie diverse (fino ad oggi già 20), più o meno tutte associate a necrosi dei tessuti xilematici. Nel caso, invece, del genere *Phaeomoniella* l'estendersi dei campionamenti continua a fornire una risposta univoca. Questo genere risulta, infatti, molto diffuso nel mondo ma solo tre specie sono state finora descritte, di cui solo una (*Pa. chlamydospora*) è presente su vite. Inoltre, le popolazioni finora analizzate presentano costantemente una grande uniformità genetica. Più vicina al genere *Phaeocremonium* che non al genere *Phaeomoniella* sembra anche la situazione delle specie fino a poco tempo fa comprese nel genere *Botryosphaeria*, la cui importanza come genere includente specie infeudate alla vite va assumendo sempre maggiore importanza. Vengono infine discusse le possibili implicazioni patologiche ed epidemiologiche di queste osservazioni.

Aspetti morfologici, biochimici e fisiologici del “mal dell’esca” della vite

Giovanni Bruno, Lorenzo Sparapano

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

Il ‘mal dell’esca’ della vite è caratterizzato da sintomi che si manifestano su organi interni ed esterni della pianta. Nelle piante adulte (8–10 anni o più vecchie) il sintomo più ricorrente è la carie del legno, ovvero un’alterazione della consistenza del legno che si colora di giallo–crema, molto friabile, spesso delimitato da aree colonnari bruno–nerastre. L’alterazione dei tessuti legnosi di solito inizia in prossimità delle superfici di potatura, per poi estendersi verso l’interno a carico del durame e delle cerchie xilematiche più esterne, che nel tempo conducono alla fessurazione del tronco (“mal dello spacco”). In concomitanza o prima di questi sintomi si possono notare altre alterazioni: in sezione trasversale macchie puntiformi bruno–nerastre che, osservate in sezione longitudinale, appaiono sotto forma di striature di colore rosa–bruno. Nelle trachee, nelle tracheidi e nelle cellule del parenchima del legno si accumulano sostanze di reazione della pianta e biomolecole prodotte dai patogeni che causano alterazioni fisico-chimiche dello xilema e delle cellule evidenziate da alterazioni cromatiche (venature brune) più o meno estese a seconda dell’età della pianta e della cerchia legnosa infetta. Sulle foglie, nei mesi di luglio e agosto, si osservano dapprima maculature clorotiche lungo i bordi, che col passar del tempo, confluiscono negli spazi internodali (irradiandosi a ventaglio), mentre le aree periferiche virano ad una colorazione giallo–bruna o rosso–bruna (al variare della cultivar di vite) e le parti centrali imbruniscono e necrotizzano. La somma delle alterazioni conduce alla *facies* di “tigratura”. Sugli acini, i sintomi compaiono nella fase fenologica dell’invaiaitura: piccole macchie bruno–violacee, molto evidenti su uve bianche, necrotiche, irregolari o confluenti fino a formare delle aree estese (“black measles”). Il sintomo più eclatante della malattia è rappresentato dall’apoplezia che si evidenzia, nel periodo estivo, con avvizzimenti e filloptosi che, in pochi giorni, provocano la morte della pianta. Agenti eziologici di questa complessa ampelopatia sono: un basidiomicete, *Fomitiporia mediterranea* (*Fme*), agente della carie del legno, e due ifomiceti tracheifili associati alle venature brune: *Phaeoacremonium aleophilum* (teleomorfo: *Togninia minima*, *Tmi*) e *Phaeomoniella chlamydospora* (*Pch*).

La complessa sintomatologia del ‘mal dell’esca’ ha dapprima suggerito e, successivamente confermato, il ruolo dei metaboliti secondari prodotti dai patogeni nell’evoluzione dei sintomi. Le biomolecole sono facilmente traslocate in seno alla pianta malata, raggiungendo le foglie ed i grappoli in cui causano i sintomi tipici della malattia. Infatti, *Pch* e *Tmi*, producono *in vitro* ed *in planta* metaboliti fitotossici: polisaccaridi (pullulano, galattomannani glucomannani), e pentacetidi naftalenonici (scitalone e isosclerone). Queste tre sostanze, saggiate su foglie e grappoli di vite da sole o in associazione, causano sintomi molto simili a quelli osservati in campo su piante affette da ‘mal dell’esca’.

I dati presentati in questa Nota sono il compendio delle ricerche, condotte per più anni, in un tendone di *Vitis vinifera* cv. Italia e volte ad esaminare le differenze morfologiche, biochimiche e fisiologiche esistenti tra piante sane e piante malate (solo venature brune oppure venature brune e carie). Le differenze tra le tre classi di piante sono state valutate secondo un metro che ha tenuto conto delle alterazioni cellulari e tissutali, della produzione di metaboliti secondari e di enzimi (laccasi, perossidasi e fenolossidasi), del contenuto di sostanze di difesa (polifenoli), del contenuto di agenti antiossidanti (sistema ascorbato/glutatione) prodotti dalla pianta in risposta ai patogeni e degli effetti dei patogeni sul potenziale idrico.

Funghi associati ad alterazioni in oliveti siciliani

Lo Piccolo S., Conigliaro G., Ferraro V., Torta L., Burruano S.

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

Nel 2005 da varie zone olivicole della Sicilia (AG, CT, PA) sono pervenute numerose segnalazioni riguardanti sintomi a carico sia di foglie (microfillia, clorosi, piombatura, fumaggine, occasionali macchie necrotiche) che di rami (filloptosi, disseccamenti, lesioni superficiali, cancri, imbrunimenti xilematici). Pertanto, si è ritenuto opportuno avviare un'indagine mirata ad individuare i microrganismi fungini associati alle diverse alterazioni. A tal fine, materiale vegetale sintomatico prelevato nelle diverse località è stato sottoposto alle usuali tecniche di laboratorio (allestimento di camere umide, saggi di isolamento, identificazione morfologica dei funghi sulla base delle loro caratteristiche macro e microscopiche). Contemporaneamente, in due oliveti, affini per età ed alterazioni, siti in territorio di Palermo e Agrigento, è stata condotta un'indagine epidemiologica volta alla valutazione delle sintomatologie e della loro evoluzione in campo.

Lo studio condotto indica una costante associazione tra alterazioni riscontrate e funghi appartenenti a specie e generi noti in letteratura quali agenti eziologici di avversità dell'olivo. In particolare, i sintomi di piombatura fogliare erano associati a *Mycocentrospora cladosporioides*; fumaggine ad *Alternaria* spp., *Cladosporium* spp. e *Torula* spp.; macchie fogliari scure con alone clorotico ad *Alternaria* spp., *Cladosporium* spp. e *Phoma* spp.; disseccamenti rameali, talora accompagnati da defogliazione, cancri superficiali ed imbrunimenti xilematici a *Verticillium dahliae* e, talvolta, *Phoma* spp.; affastellamento della vegetazione, accorciamento degli internodi e microfillia a *Phoma* spp. e *Rhizoctonia* spp. I risultati evidenziano, inoltre, l'incremento di alcune sindromi e la recrudescenza di altre.

Il monitoraggio epidemiologico, effettuato in due delle aree olivicole considerate, mostra una differente diffusione delle sintomatologie in funzione delle condizioni climatico-ambientali della località.

Saggi relativi sia all'identificazione a livello specifico dei funghi isolati, che all'accertamento della loro patogenicità, sono tuttora in corso.

Variabilità genotipica e fenotipica di popolazioni di *Botrytis cinerea* Pers. in Italia settentrionale

Sandra Scagnelli, Maddalena Moretti, Annamaria Vercesi

Istituto di Patologia Vegetale, Università degli Studi di Milano, 20133 Milano, Italy

Botrytis cinerea Pers. è un patogeno in grado di infettare numerose piante coltivate ed ornamentali ma causa i danni più ingenti sulla vite. Il fungo, caratterizzato da un'elevata variabilità ed una notevole adattabilità, è in grado infatti di alternare periodi di vita saprofitaria a comportamenti di tipo parassitario.

All'interno delle popolazioni di *B. cinerea* sono state evidenziate due sottopopolazioni distinte tra loro per la presenza (ceppi *transposa*) o l'assenza (ceppi *vacuma*) di due elementi trasponibili: *Boty* e *Flipper*. Scopo del presente lavoro è la caratterizzazione di ceppi di *B. cinerea* isolati in due vigneti del Nord Italia in diverse fasi fenologiche.

Ceppi di *B. cinerea* provenienti da Piemonte e Lombardia sono stati caratterizzati da un punto di vista genotipico valutando la presenza o l'assenza dei due elementi trasponibili. La caratterizzazione fenotipica dei ceppi è stata condotta valutando la modalità di crescita degli isolati su terreni colturali differenti incubati a diverse temperature, l'aspetto della colonia, la produzione di sclerozi, la virulenza su acini e foglie. E' stata inoltre valutata la sensibilità degli isolati ai fungicidi carbendazim, vinclozolin, pyrimethanil, mepanipyrim, cyprodinil, fludioxonil, fenhexamid e boscalid. Nella popolazione presa in esame la maggior parte degli isolati è risultato appartenere alla classe *vacuma*, mentre pochi ceppi sono caratterizzati dalla presenza di un unico elemento trasponibile. Non sono state riscontrate differenze significative tra gli isolati *vacuma* e *transposa* per ciò che riguarda il tasso di crescita *in vitro*, né per quello che riguarda la patogenicità. I ceppi *transposa* sono risultati meno sensibili ai fungicidi fenhexamid, carbendazim e vinclozolin.

Indagini preliminari sull'interazione tra *Plasmopara viticola* e ibridi di vite resistenti alla peronospora

Silvia L. Toffolatti, Dario Maffi, Marco Saracchi, Annamaria Vercesi

Istituto di Patologia Vegetale, via Celoria 2, 20133 Milano

Plasmopara viticola (Berk. et Curt.) Berl. e De Toni è l'agente eziologico della peronospora della vite, una malattia in grado di causare gravi perdite alla produzione viticola in tutto il mondo. *Vitis vinifera* L. è particolarmente suscettibile al patogeno, mentre altre specie afferenti allo stesso genere quali *Vitis riparia* Michx. e *Vitis amurensis* Rupr. sono dotate di una certa resistenza e vengono spesso impiegate in programmi di miglioramento genetico volti ad ottenere ibridi meno recettivi al patogeno. Scopo delle indagini è stato quello di caratterizzare a livello micro-morfologico l'interazione tra ceppi di *P. viticola* e popolazioni di vite derivanti dall'incrocio tra la cultivar suscettibile Chardonnay e la cultivar resistente Bianca, ottenuta, a sua volta, nell'ambito di un programma di miglioramento genetico iniziato nel XIX secolo in Francia con l'incrocio di viti europee, sensibili, e viti resistenti. Per valutare il livello di resistenza degli ibridi, sono state effettuate inoculazioni sperimentali utilizzando tre ceppi di *P. viticola*, ciascuno dei quali ottenuto da una singola oospora germinante, su dischetti fogliari prelevati dalle cultivar parentali Chardonnay e Bianca e da 15 loro ibridi. L'entità dell'infezione è stata valutata attribuendo ad ogni dischetto una classe di gravità compresa tra 0 e 7 in funzione della superficie fogliare ricoperta da sporulazione a 6 e a 9 giorni dall'inoculazione. I risultati ottenuti hanno consentito di verificare la presenza di due incroci dal livello di resistenza analogo a quello della cv. Bianca, ovvero con un indice percentuale di infezione (I%I) inferiore al 20 %, nove da un livello di sensibilità intermedio, con I%I compresi tra il 20 ed il 40 %, e quattro da un'elevata sensibilità, caratterizzati, ovvero, da I%I maggiori del 40 %. Mediante colorazione con blu di anilina, un colorante in grado di evidenziare i β -1,3 glucani presenti sia nelle pareti fungine che prodotti dall'ospite, è stato possibile osservare come lo sviluppo del patogeno nella cv. Bianca, rispetto alle cultivar sensibili, sia caratterizzato da una precoce riduzione dell'estensione delle ife, che presentano vistose alterazioni morfologiche, correlate con incrostazioni callosiche ed imbrunimenti delle cellule circostanti il patogeno. Ulteriori indagini saranno eseguite allo scopo di valutare il coinvolgimento di sostanze fenoliche e di attività perossidasi nella risposta al patogeno da parte della pianta.

Ricerca finanziata dal MIUR, PRIN 2006 – Basi genetiche e fisiologiche della resistenza a peronospora nella vite (*Vitis* spp.).

Endofiti fungini agenti di necrosi corticale su noce

Ravaioli F., Fabi A., Varvaro L., Anselmi N.

*Dipartimento di Protezione delle Piante, Università degli Studi della Tuscia
Via S. Camillo de Lellis snc, 01100, Viterbo, Italy. Tel +39.0761.357475
Fax +39.0761.357473, e-mail: anselmi@unitus.it*

Il noce comune (*Juglans regia* L.) rappresenta una latifolia arborea molto diffusa in Italia, sia per la produzione di frutti, sia come coltura da legno pregiato. In numerosi impianti sono state spesso osservate necrosi corticali sui rami, insieme a frequenti disseccamenti e tipici processi cancerosi al tronco, spesso devastanti.

In questa nota vengono riportati i risultati di una serie di indagini effettuate allo scopo di identificare gli agenti di tali alterazioni e di verificare quali di essi presentino habitus endofitico, un fenomeno recentemente associato a numerosi patogeni corticali di innumerevoli piante legnose.

A tale scopo, da piante di età compresa tra 3 e 15 anni presenti in diversi impianti dell'Italia centro-settentrionale, sono stati prelevati campioni di rami e di fusto interessati da necrosi corticale e, parallelamente, analoghi campioni provenienti da tessuti sani delle stesse piante o da altre piante completamente asintomatiche. Sono stati quindi effettuati isolamenti al bordo delle necrosi dai campioni malati e in strati di tessuto a differente profondità dai campioni sani, volti a verificare la presenza di funghi nonché batteri.

Dalle necrosi sui rami, fatta eccezione per sporadici campioni semilegnosi da cui è stata isolata *Marssonina juglandis* (Lib.) Magnus, nella stragrande maggioranza dei casi è stata riscontrata la presenza di *Botryosphaeria* spp., *Fusarium* spp. e *Phomopsis* spp., sia isolatamente che combinati tra loro. I primi due funghi, unitamente al batterio *Brenneria nigrifluens* (Wilson *et al.*) Hauben *et al.*, sono stati sempre isolati anche dai cancri al tronco, talora accompagnati da *Phomopsis* spp. e/o da *Paraconiothyrium* sp. od altri microrganismi fungini a carattere saprofitico.

Anche da piante o rami asintomatici sono stati sempre isolati *Botryosphaeria* spp e *Fusarium* spp, spesso associati nuovamente a *Phomopsis* spp., nonché ad una serie di altri endofiti fungini notoriamente non agenti di necrosi corticali, quali ad esempio *Alternaria* spp. o *Cladosporium* spp., oppure noti per il loro carattere indifferente o addirittura antagonistico, come ad esempio *Epicoccum nigrum* Link ex Fries e *Acremonium* spp.. Gli stessi endofiti fungini, mai però accompagnati dal batterio, sono stati riscontrati nei tessuti sani del fusto, con incidenza via via minore con la profondità, per scomparire pressoché del tutto nel legno.

Da questi risultati emergerebbe come molte delle necrosi corticali che si riscontrano su noce risultino legate a patogeni fungini con habitus endofitico, insediati asintomaticamente nei tessuti corticali sani dei rami e del fusto. Molto probabilmente essi passano dallo stato endofitico a colonizzazioni necrotiche solo in particolari condizioni di stress delle piante o dei singoli organi oppure, nel caso dei cancri al fusto, solo dopo l'attacco di *Brenneria nigrifluens*.

Micoflora endofitica in popolamenti arborei destabilizzati dai cambiamenti climatici

Salvatore Moricca, Alessandro Ragazzi, Andrea Uccello

Dipartimento di Biotecnologie Agrarie, Sezione di Patologia vegetale, Università degli Studi di Firenze, Piazzale delle Cascine 28, 50144 Firenze

I mutamenti climatici hanno un impatto deleterio su specie e comunità vegetali. L'aumento della temperatura e la riduzione della piovosità inducono nei vegetali superiori uno stress fisiologico permanente. Fra gli effetti più evidenti si annoverano: alterazione dei processi fotosintetici e respiratori; riduzione della crescita; modificazione della composizione dei tessuti; attenuazione delle difese; degenerazione dei rapporti simbiotici con i microorganismi endofitici.

Nelle specie arboree è ampiamente dimostrato che in condizioni di stress fisiologico l'interazione ospite-endofita fungino, generalmente di tipo neutrale o mutualistico, può evolvere a detrimento del vegetale. L'esistenza di siffatta tendenza è stata verificata in due parchi urbani del milanese.

Il rilievo mensile, effettuato per tre anni consecutivi, durante tutto l'arco della stagione vegetativa, della micoflora fungina endofitica presente in alcune specie arboree del Parco Nord e del Parco Boscoincittà, a Milano, ha evidenziato una presenza massiccia di alcuni importanti endofiti fungini. Fra questi, gli agenti di cancro corticale *Botryosphaeria dothidea* (Moug. ex Fr.) Ces. et De Not. e *Botryosphaeria obtusa* (Schwein.) Shoemaker, ed il noto agente di cancro carbonioso delle specie quercine *Biscogniauxia mediterranea* (De Not) Kuntze, destano particolare preoccupazione per l'ampia diffusione nei popolamenti indagati, nonché per la loro virulenza e polifagia.

Lo studio che qui si riporta condensa i risultati di un'indagine di carattere epidemiologico ad ampio spettro, condotta in tre anni di campionamento, con monitoraggi puntuali volti ad accertare sia la variazione temporale che spaziale della presenza degli agenti sopra menzionati; nonché con prove di infezione artificiale volte ad accertare virulenza delle entità patogene e capacità inibitorie di potenziali antagonisti.

B. dothidea è risultata colonizzare diffusamente varie specie arboree (*Acer platanoides*, *A. pseudoplatanus*, *Quercus robur* e *Q. rubra*) ed ha confermato la sua virulenza in prove di infezione artificiale. Il ruolo di *B. obtusa*, rinvenuta in entrambi i parchi milanesi, è in via di definizione. *B. mediterranea* ha mostrato una spiccata attitudine ad espandere verso nord il proprio areale, segnalandosi su alcune specie, come *Q. rubra*, per la prima volta.

Le evidenze sperimentali che emergono da questo studio prospettano uno scenario preoccupante, in quanto pare evidente che l'innalzamento delle temperature operi la selezione delle entità fitopatogene più termofile e ne favorisca la diffusione sul territorio.

Endofiti fungini in tessuti fogliari di *Vitis vinifera* L.: cultivar “Chardonnay” e “Cabernet Sauvignon” a confronto

Marinella Rodolfi, Anna Maria Picco, Letizia Valci, Carlo Andrea Baronchelli

*Dipartimento di Ecologia del Territorio - Sezione di Micologia
Università degli Studi di Pavia, Via San Epifanio 14 - 27100 Pavia
rodolfi@et.unipv.it; apicco@et.unipv.it*

Vengono presentati i primi risultati relativi all'indagine della componente fungina endofitica di tessuti fogliari campionati in vigneti produttivi di proprietà dell'Azienda Agraria Universitaria Antonio Servadei di Udine. I vitigni oggetto di studio (“Chardonnay”, portainnesto SO4, innesto R8 e “Cabernet Sauvignon”, portainnesto SO4, innesto R5), selezionati da Vivai Cooperativi Rauscedo, rappresentano cultivar di elevato interesse agronomico e permettono il prelievo di campioni da piante cresciute nelle medesime condizioni pedologiche e agronomiche, sia sottoposte a trattamenti con prodotti citotropici/sistemici che non trattate.

L'indagine micologica viene effettuata su foglie di tralci portanti a grappolo, campionate in varie fasi fenologiche (pre-fioritura, post-allegagione, maturazione, pre-raccolta), mediante frammentazione (10 porzioni di 5 mm in diametro, in corrispondenza sia delle principali nervature che in posizione internervale, per foglia) e sterilizzazione superficiale (ipoclorito di sodio ed etanolo in successione).

Sia in termini qualitativi che quantitativi, è stata riscontrata una più elevata colonizzazione endofitica nei tessuti fogliari di “Chardonnay”. In entrambi i vitigni, la ricchezza in specie e la frequenza di colonizzazione sono risultate diminuire col procedere della stagione vegetativa ed essere superiori nelle foglie prelevate da filari non sottoposti a trattamenti chimici. Preferenze di localizzazione degli isolati endofitici sono state individuate solamente all'interno dei tessuti fogliari aventi minor densità di colonizzazione.

Taxa quali *Acremonium* spp., *Sordaria fimicola*, *Podospora curvicolla*, *Chaetomium cochlioides* e *Bissoclamydes nivea* si distinguono in quanto capaci di vita endofitica in entrambe le cultivar di *Vitis vinifera*. *Cladosporium resinae*, *Geniculisporium serpens*, *Gonatobotrys simplex* si dimostrano segnalazioni specifiche per tessuti fogliari di “Chardonnay”, *Virgaria* sp. per tessuti fogliari di “Cabernet Sauvignon”. Una fase di vita endofitica di specie a carattere potenzialmente patogenetico (fra tutte *Botrytis cinerea*) emerge solamente in fase di completa maturazione dei vitigni, quando le singole foglie mostrano le minori densità di colonizzazione da parte degli endofiti residenti.

Le potenzialità metaboliche di alcuni isolati endofitici sono in fase di studio. Prove di valutazione *in vitro* delle interazioni “endofiti vs. patogeni” stanno evidenziando un'efficacia endofitica in termini di controllo e inibizione di funghi dannosi per la vite e per altre colture di rilevanza agronomica sul territorio nazionale.

Caratterizzazione di *Alternaria* spp. endofita della vite

Rachele Polizzotto¹, Rita Musetti¹, Marta Martini¹, Simone Grisan¹, Gemma Assante², Birgitte Andersen³

¹ Dipartimento di Biologia e Protezione delle Piante, Università di Udine, via delle Scienze, 208, I-33100 Udine

² Istituto di Patologia Vegetale, Università di Milano, via Celoria, 2, I-20133 Milano

³ Center for Microbial Biotechnology, Department of Systems Biology, Søltofts Plads, Building 221, Technical University of Denmark, DK-2800 Kgs. Lyngby, Denmark
E-mail: rachele.polizzotto@uniud.it

Specie appartenenti al gruppo delle “small spored” *Alternaria* comprendono funghi cosmopoliti che presentano una evidente differenziazione nel loro stile di vita, includendo forme epifite, saprofiti, allergeniche, patogene per le piante e produttrici di micotossine e forme endofitiche, così che si rende necessaria una loro accurata identificazione in un gran numero di discipline diverse. La difficoltà di classificare correttamente questi funghi è dovuta ad una notevole variabilità morfologica (lunghezza, larghezza, numero di setti dei conidi, colore e altre caratteristiche della colonia) osservata in colture di *Alternaria* spp. cresciute in mezzi e in condizioni di crescita non standardizzati. Un’ulteriore complicazione nella tassonomia di questo gruppo di funghi è data dalla presenza di numerosi isolati con caratteristiche intermedie, che rendono complicata la segregazione in specie note. Per questo motivo, diverse specie già descritte sono state frequentemente classificate in modo non corretto, come *A. alternata* o come patotipi di questa specie.

Anche i metodi molecolari più usati nell’ identificazione e classificazione dei funghi (PCR, RAPD-PCR, PCR-RFLP) non sono stati sempre utili nel risolvere il problema della segregazione delle “small-spored” *Alternaria*.

Recentemente, la chemotassonomia, cioè lo studio del profilo dei metaboliti secondari, si è dimostrato un valido aiuto nella classificazione e differenziazione di *Alternaria* spp.

Nonostante i numerosi studi relativi ai funghi appartenenti al genere *Alternaria*, un numero più limitato di informazioni è disponibile per quanto riguarda i ceppi endofiti, anche se questi ultimi stanno incontrando un crescente interesse da parte dei ricercatori.

Scopo del nostro lavoro è stato quello di caratterizzare diversi ceppi di *Alternaria* spp. endofiti di *Vitis vinifera*. L’approccio del nostro studio è stato di tipo olistico, comprendendo analisi microscopiche, molecolari e chimiche.

19 ceppi endofiti, appartenenti al genere *Alternaria*, sono stati isolati da tessuti fogliari e da giovani tralci di diverse cultivars di vite. Essi sono stati coltivati contemporaneamente su diversi substrati in condizioni standard di crescita, utilizzando PCA e DRYES rispettivamente per la crescita dei miceli utilizzati per le analisi morfologiche e chimiche e PDA per quelli utilizzati per le indagini molecolari.

I nostri isolati sono stati confrontati con ceppi di riferimento appartenenti alle specie *A. alternata*, *A. tenuissima*, *A. arborescens* e *A. infectoria*.

Dall’esame macro- e micro-morfologico è stato possibile differenziare i ceppi endofiti in due gruppi distinti: uno caratterizzato da ramificazioni dei rami conidiofori, riconducibile a *A. arborescens*, e l’altro privo di tali ramificazioni riconducibile a *A. tenuissima*.

Le analisi molecolari e quelle relative al profilo dei metaboliti secondari sono risultate in pieno accordo con i dati morfologici. Inoltre dalle analisi chimiche è evidente che, accanto a metaboliti secondari caratteristici del gruppo delle “small spored” *Alternaria*, sono presenti altri composti caratteristici dei ceppi endofiti, la cui funzione verrà approfondita.

Nuove acquisizioni su aspetti epidemiologici del patosistema *Quercus suber*/*Botryosphaeria corticola* in Sardegna

B.T. Linaldeddu, L. Maddau, A. Franceschini

Dipartimento di Protezione delle Piante, sez. Patologia vegetale, Università degli Studi di Sassari,
Via E. De Nicola 9, 07100 Sassari. E-mail: ben@uniss.it

Botryosphaeria corticola è uno dei principali patogeni fungini coinvolti nell'eziologia del deperimento della quercia da sughero (*Quercus suber*) sulla quale causa disseccamenti, cancri e alterazioni necrotiche negli organi legnosi. Esso è anche capace di sopravvivere in latenza come endofita in tessuti asintomatici dell'ospite e di esprimere la sua virulenza nei periodi di sofferenza vegetativa. Tale particolare stile di vita accresce la pericolosità di questo patogeno nelle sugherete e pone l'esigenza di approfondire le conoscenze del patosistema *Q. suber*/*B. corticola* sotto il profilo epidemiologico al fine di delineare le strategie di prevenzione più adeguate.

In questa nota si riferisce su un'indagine volta ad accertare la dinamica delle infezioni di *B. corticola* in semenzali di sughera esposti, mensilmente e per un anno, alla pressione d'inoculo naturale del patogeno, in prossimità di una centralina meteorologica, in una sughereta deperente nel Nord Sardegna. Si riferisce anche sull'esito di prove effettuate in laboratorio con l'intento di verificare: a) attraverso saggi *in vitro*, lo sviluppo miceliare del patogeno e la germinazione dei suoi conidi in un *range* di temperatura compreso tra 5 e 40°C; b) mediante osservazioni al microscopio elettronico a scansione (SEM), le modalità di penetrazione delle ife del patogeno nel fusto e nelle foglie di semenzali di sughera nebulizzati con una sospensione conidica dello stesso.

I risultati hanno messo in evidenza che *B. corticola* è in grado di sopravvivere come endofita per almeno due mesi in tutti gli organi, più spesso nel fusto, dei semenzali di sughera. Le infezioni più cospicue si hanno a maggio, settembre e dicembre, ma sono state riscontrate, seppure in misura limitata, anche a gennaio, marzo e luglio. Nessuna correlazione statisticamente significativa è stata rilevata tra l'incidenza delle infezioni e i valori dei parametri meteorologici (temperatura, umidità relativa e precipitazioni) registrati in bosco. Le infezioni verificatesi a dicembre e gennaio, rispettivamente con valori di temperatura media dell'aria di 9,5 e di 7,7°C, dimostrano come il fungo sia in grado di mantenersi attivo anche nei periodi più freddi. D'altronde, le prove effettuate in laboratorio sulle esigenze termiche del fungo hanno confermato che il suo micelio può svilupparsi con temperature comprese tra 5 e 35°C, e che la germinazione dei conidi può avvenire in un range termico tra 10 e 30°C.

Le osservazioni effettuate al SEM hanno consentito di rilevare una rapida germinazione dei conidi di *B. corticola*; le ife originatesi penetravano nei fusti attraverso le lenticelle, mentre nelle foglie sia attraverso aperture naturali sia attivamente, approfondendosi nella matrice cerosa epicuticolare. Tutti i semenzali inoculati con la sospensione conidica del fungo e non utilizzati per le osservazioni al SEM, si sono progressivamente disseccati nell'arco di uno o due mesi. Ciò da un lato conferma la notevole virulenza di questo patogeno, dall'altro lato suggerisce che la sua dannosità in bosco è strettamente legata alla moltiplicazione dei centri d'infezione nelle piante.

Gravi epidemie di *Peronospora viciae* f. sp. *fabae* su fava

Ciccarese F.¹, Gallo M.¹, Ciccarese A.² e Sciacovelli M.³

(1) Dipartimento di Biologia e Patologia vegetale- Università degli Studi di Bari (Italia),

(2) Dipartimento di Scienze delle produzioni vegetali- Università degli Studi di Bari (Italia),

(3) Agrimed s.a.s.- Centro di ricerca, di sperimentazione e di assistenza tecnica in agricoltura e agro-industria in regime di sostenibilità- Cavallino (Le) (Italia)

e-mail: fciccare@agr.uniba.it

In Italia meridionale, nella provincia di Lecce, su alcune colture di Fava (*Vicia faba* L.) durante il periodo di fine inverno inizio primavera 2008 sono state osservate straordinarie e gravi epidemie di "peronospora" causate da *Peronospora viciae* (Berk.) Casp f. sp. *fabae* [(Jacz. & Serg.) Boerema *et al.* comb. nov.] ex *Peronospora viciae* (Berk.) Casp. La malattia è comparsa alla fioritura delle piante ed inizialmente nei campi si è manifestata su poche piante per poi diffondersi per formare chiazze circolari costituite da 4-5 piante. Il primo sintomo consisteva, sulla pagina superiore delle foglie, in una leggera clorosi cui corrispondeva, dopo pochi giorni, sulla pagina inferiore un'abbondante e tenue feltro micelico, di colore grigio chiaro. Successivamente sulle aree clorotiche fogliari comparivano necrosi di colore scuro a contorno regolare che man mano si estendevano fino ad interessare l'intero lembo fogliare.

I sintomi interessavano, poi, anche gli steli con ampie aree necrotiche che hanno determinato, in alcuni casi, il disseccamento dell'intera pianta.

Piante di fava allevate in serra alla temperatura di 22±2 °C e con U.R. prossima alla saturazione ed inoculate artificialmente con le spore del fungo hanno manifestato sintomi simili a quelli osservati in campo.

Sono state rilevate le caratteristiche biometriche di alcune strutture di due isolati di *P. viciae* f. sp. *fabae* prelevati in due zone del Salento. Infine la gravità e la diffusione della malattia è stata messa in relazione con l'andamento climatico caratterizzato da brevi ma frequenti piogge e temperature miti.

Indagini preliminari su disseccamenti delle branche in noci da frutto

Sergio Quaroni, Federico Rocchi, Marco Saracchi, Paola Sardi

Istituto di Patologia Vegetale, Università degli Studi di Milano

In un noceto da frutto, cv. Lara, sito nella pianura dell'Oltrepò pavese, diviso in due corpi principali per una superficie totale di circa 80 ettari e composto di piante giunte al 10-13° anno di impianto, si è manifestato un diffuso disseccamento delle branche di primo, secondo e terzo ordine. Tali branche, poste in prevalenza nella parte bassa del tronco, hanno da 4 a 10 anni e diametro medio da 3 a 8 cm. Il fenomeno, osservato per la prima volta nel 2006, è in progressivo aumento e in talune zone del noceto, in particolare quelle dove sono le piante più vecchie, sta assumendo incidenza sempre maggiore.

Le osservazioni e le analisi fitopatologiche condotte hanno portato ad individuare due potenziali patogeni quali agenti primari del disseccamento delle branche, che possono determinare sia indipendentemente che associati.

La prima forma fungina osservata e isolata è stata *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr., la cui forma anamorfa, *Tubercularia vulgaris* Tode, compare vistosamente dalla fine di ottobre, ricoprendo le branche disseccate di pustole rosse-arancio. Questa manifestazione si incrementa e perdura nel periodo invernale, facilitando il riconoscimento e la rimozione di queste fonti di inoculo durante la potatura. In alcuni casi di infezione in purezza da parte di questo fungo, è stato possibile osservare un tentativo di reazione della pianta al fine di contrastare la progressione del patogeno.

La seconda manifestazione sintomatologica, riscontrabile alla ripresa vegetativa delle piante, consiste nella mancata vegetazione dell'intera branca. Solo l'ispezione dei tessuti interni consente di accertare la profonda alterazione del legno e il fronte di avanzamento del cancro. Da tali zone è stata costantemente isolata una forma fungina ascrivibile al genere *Phomopsis*, di cui è in corso la caratterizzazione, sia biomolecolare, sia morfoculturale. Su queste branche, in condizioni di elevata umidità, si formano delle placche epidermiche con superficie a punteggiatura rilevata che, sezionate, consentono di osservare le formazioni picnidiche del patogeno. Tali strutture contengono conidi □ e □ del patogeno ed emettono cirri color crema, in particolare in seguito all'incubazione dei campioni in camera umida. Il coinvolgimento di questo genere nel disseccamento di apici vegetativi e di rametti di uno – due anni su noce è già stato documentato, come il suo ruolo tra i così detti "potatori naturali". Come agente di cancri di grosse branche è invece inusuale.

I numerosi casi esplorati attraverso l'esame dei tessuti interni evidenziano sempre una progressione basipeta dei cancri che originano direttamente dai tagli di potatura o dalle lesioni causate da uccelli alla ricerca di larve nate da uova deposte nel midollo, esposto dai medesimi tagli. Il cancro nel ramo progredisce a becco di flauto, interessando sul fronte lo strato corticale e ampliandosi nella zona retrostante sino ad avvolgere tutta la corteccia, e si approfondisce gradualmente sino ad interessare tutto il tessuto legnoso. Sono in corso prove di inoculazione sperimentale con ceppi singoli e combinati per studiare la patogenesi delle forme fungine isolate e le eventuali differenze fra i processi indotti dai due patogeni.

Peculiarità di questa alterazione, emersa dai sopralluoghi condotti a cadenza settimanale per tutto il periodo vegetativo, è la sua evoluzione nel periodo invernale. Infatti, non sono mai stati individuati a carico dei germogli e dei rami vegetanti sintomi o situazioni premonitrici (avvizzimenti, giallumi, disseccamenti fogliari o altro) che indicassero condizioni di sofferenza delle branche. I disseccamenti, sia delle branche che dei giovani rametti, si riscontrano solamente alla ripresa vegetativa. Sarà interessante indagare i motivi di tale comportamento, attraverso studi sia sulla fisiologia dei patogeni sia sui meccanismi mediante i quali i tessuti vegetanti del noce limitano la crescita di questi funghi xilematici.

Galle da *Phomopsis* in alberature stradali di *Melia azaderach*

Giovanni Granata¹, Francesco Maria Grasso¹, Agatino Sidoti²

¹Dipartimento di Scienze e Tecnologie Fitosanitarie. Facoltà di Agraria. Università degli Studi di Catania. Via S. Sofia n. 100. 95123 Catania. E-mail: granatag@unict.it

²Regione Siciliana. Azienda Regionale Foreste Demaniali, UOB n. 3 - Difesa Fitosanitaria dei Boschi. Via della Libertà n. 97. 90143 Palermo

Melia azaderach comunemente conosciuta come “albero dei rosari” per i caratteristici semi rotondi, duri ed incisi, è una pianta originaria delle regioni asiatiche e diffusa in Europa a scopo ornamentale. La si trova comunemente nelle alberature stradali e nei parchi per il suo portamento arboreo, con chioma espansa, molto resistente alla salsedine e alla siccità. In alberature stradali della predetta specie, in provincia di Catania (Sicilia) su alcune piante sono state osservate delle galle che interessavano il tronco e successivamente anche le branche ed i rami. Le piante con questa sintomatologia molto diffusa presentavano ritardo della ripresa vegetativa, scarso vigore e nei casi più gravi morte di branche e rami.

Le galle del tronco, di dimensioni fino ad 8-10 cm, erano emisferiche ed apparivano come protrusioni della corteccia localizzate sempre in prossimità di gemme dormienti, probabile punto di penetrazione del fungo. I tessuti della galla erano formati di un legno duro ma anatomicamente disorganizzato rispetto al legno normale. Successivamente le galle aprendosi assumevano l'aspetto di veri cancri.

Dalle galle è stata costantemente isolata una specie fungina di *Phomopsis* sp. di colore violaceo che produceva in scatole Petri contenenti PDA solo microconidi molto piccoli e diversi per forma e dimensione. La stessa specie fungina è stata ottenuta prelevando il micelio formatosi all'interno di galle tenute in camera umida. Non si è riscontrata la forma sessuata del fungo.

In letteratura sono riportate formazioni di galle causate da funghi del genere *Phomopsis* su piante ornamentali (Gardenia, Forsythia, Rododendro) e specialmente in piante forestali (Acero, Olmo, Quercia, ecc.).

L'identificazione della specie è in fase di accertamento ed è importante per avere un riscontro con la *Phomopsis abdita* (Sacc.) Trav. rinvenuta a Cuba, India e Francia su rami e tronchi di *Melia azaderach*.

Moria del carpino bianco: ulteriori studi sugli agenti eziologici

Marco Saracchi, Federico Rocchi, Sergio Quaroni

Istituto di Patologia Vegetale, Università degli Studi di Milano

Il Carpino bianco (*Carpinus betulus* L.) è una specie originaria dell'Europa centrale e orientale ed è diffuso in tutto il continente europeo. In Italia cresce soprattutto nelle regioni settentrionali, fino a circa 800 metri di quota; è il costituente principale delle foreste planiziali insieme a farnia, frassino e olmo. Per le sue peculiari caratteristiche di rusticità, viene attualmente impiegato per la costituzione di alberate e siepi, sia in ambiti urbanizzati, sia nel contesto di ampi spazi verdi. Negli ultimi anni sono aumentate le segnalazioni di deperimenti e morie di esemplari di carpino, soprattutto in ambito urbano. Sui tronchi e sulle branche principali dei carpini deperienti è stata riscontrata la presenza di due differenti forme fungine in grado di provocare cancri corticali e lesioni ai primi strati del legno sottostante. Nelle prime fasi della colonizzazione le aree di corteccia interessate, anche più di una per pianta, non sono facilmente distinguibili da quelle sane circostanti; le loro dimensioni sono variabili, e raggiungono anche diverse decine di centimetri.

Uno dei due funghi responsabili di queste lesioni evade dai tessuti colonizzati, generalmente in primavera, con la formazione di vistosi ammassi di tipo resinoso di colore rosso brillante, spesso riuniti in gruppi. Queste emissioni costituiscono la evidente espressione della forma riproduttiva asessuata, localizzata nella corteccia e costituita da stromi fertili di forma irregolare, con lobi allungati o sferici. In queste cavità il patogeno differenzia, all'apice di lunghi conidiofori (17-19 μm) e con conidiogenesi oloblastica, propaguli ialini, lunati, di lunghezza variabile tra 4 e 12 μm e larghezza pari 1,3-1,4 μm ; i conidi fuoriescono attraverso fessurazioni dello strato esterno della corteccia come una massa arancio-rossastra. Le strutture riproduttive sessuate del patogeno sono state rilevate, in carpini in avanzato stadio di deperimento, nelle aree più interne dei cancri, dove sono visibili ampie zone di distacco della corteccia. Queste sono costituite da numerosi periteci scuri, quasi neri, disposti su un unico piano, ovoidali (0.5-0.8 mm), spesso compressi l'uno contro l'altro. I periteci presentano un lungo collo (fino a 1.5 mm di lunghezza e 300 μm di diametro) con un apice caratterizzato da 5-8 solchi disposti a raggera e una depressione nel centro. Nella cavità periteciale sono presenti parafisi (150-200 μm in lunghezza) e aschi claviformi (35-60 x 4-5 μm), provvisti di un lungo pedicello (30-50 μm). Le ascospore (4-7 x 1.8-3.5 μm), prodotte in numero di 8 per asco, sono di colore bruno chiaro-olivastro, ovoidali asimmetriche. Da spore e conidi è stata isolata *in vitro* la medesima forma micelica. Le colonie di color bianco e tessitura cotonosa del micelio aereo crescono facilmente e abbastanza velocemente (80 mm in 7 gg a 20°C su PDA); in 4-6 settimane, sulla superficie delle colonie si differenziano piccoli ammassi miceliari compatti dai quali fuoriescono masse di conidi giallo-arancio. I conidi differenziati *in vitro* hanno dimensioni (7-12 μm) meno variabili di quelli prodotti *in planta*.

Questo fungo è già stato segnalato in diverse occasioni quale agente cancri su carpino bianco e, sulla base delle sole strutture anamorfe, era stato identificato come *Naemospora* Roth ex Kuntze. Avendo riscontrato recentemente anche la forma sessuata, la forma fungina in studio è risultata correlabile ad *Anthostoma decipiens* (DC.: Fr) Nitschke f.c. *Cytospora decipiens* Sacc. (Rappaz F., Mycologia Helvetica, 5, 21-32, 1992). L'identificazione tassonomica mediante metodi biomolecolari, basati sulle sequenze nucleotidiche delle regioni spaziatrici ITS1 e ITS2 del DNA e della β -tubulina, non ha fornito risultati utili, in quanto nessuna sequenza attualmente depositata presso le banche dati aveva un coefficiente di similarità sufficientemente alto da essere utile allo scopo. Le sequenze ottenute sono state quindi depositate presso la banca dati EMBL-EBI con codici di riferimento AM399021 e AM920693. La patogenicità dei ceppi di *A. decipiens* isolati da carpino è stata confermata attraverso ripetute serie di infezioni sperimentali su carpini bianchi, di età variabile da 3 a 8 anni, soddisfacendo tutti i postulati di Koch.

Variabilità di *Heterobasidion abietinum* in Europa e nel bacino del Mediterraneo

Luchi Nicola¹, Korhonen Kari², Hantula Jarkko², Capretti Paolo¹

¹ Dipartimento Biotecnologia Agrarie, Sezione Patologia vegetale. Piazzale delle Cascine, 28.
50144 Firenze

² Finnish Forest Research Institute, Vantaa Research Unit, FI-01301 Vantaa, Finland

Heterobasidion abietinum è un agente fungino responsabile di carie e marciume radicale di specie forestali appartenenti al genere *Abies*. In Italia e nel Centro Europa attacca preferibilmente *Abies alba*, anche se negli ultimi anni la presenza di *H. abietinum* è stata rinvenuta su specie endemiche come *A. pinsapo*, presente in un'area del sud della Spagna, e su *A. normanniana* in Turchia.

Questo studio si propone di analizzare la popolazione di *H. abietinum* in Europa e nel bacino del Mediterraneo. A tal proposito sono stati impiegati isolati fungini di diversa provenienza, sia per località che per ospite, raccolti nell'aerale europeo che va dalla Spagna alla Turchia.

Attraverso l'impiego di marcatori molecolari, come i microsatelliti (RAMs) e minisatelliti (M13), già utilizzati per lo studio di popolazioni fungine, è stato saggiato il DNA delle colonie.

I risultati di questo lavoro hanno messo in evidenza una ridotta variabilità tra gli isolati europei di *H. abietinum* raccolti tra Francia e Turchia la quale rappresenta il limite geografico orientale della diffusione della specie in Europa.

Differenze significative sono invece emerse tra i ceppi isolati da *Abies pinsapo*, presente nel sud della Spagna, limite occidentale del patogeno, e quelli del resto di Europa, mettendo così in evidenza una significativa variabilità genetica nella popolazione di *H. abietinum*.

Ulteriori risultati di uno studio sullo stato sanitario dei popolamenti di *Quercus suber* L. nelle aree naturali protette dei Monti Pisani

Turco E., Cossu C., Narducci R., Fantoni E.

Istituto per la Protezione delle Piante (IPP) – Consiglio Nazionale delle Ricerche – via Madonna del Piano 10, 50019 Sesto Fiorentino (FI); email: e.turco@ipp.cnr.it

Ufficio Gestione Ambiente e Territorio – Comune di San Giuliano Terme, via Niccolini 25, 56017 San Giuliano Terme (PI)

La quercia da sughero (*Quercus suber* L.) è una pianta sempreverde diffusa in tutta la parte ovest del bacino del Mediterraneo, con incursioni lungo la costa atlantica. Per il suo carattere di polifunzionalità, è una specie che mantiene tuttora un forte ruolo nell'economia e nella conservazione dei sistemi agroforestali, anche se la pressione antropica ne ha drasticamente ridotto l'areale. Nonostante la sughera sia definita come specie forestale che ben si adatta alle estati calde e secche ed a suoli a scarsa fertilità, non rimane esente dagli effetti dannosi (diretti ed indiretti) dovuti al riscaldamento climatico.

Oltre ai ben noti popolamenti della Sardegna, la quercia da sughero è presente in Toscana con gruppi molto cospicui a variabile composizione floristica. Il territorio dei Monti Pisani, ed in particolare le due aree protette (A.N.P.I.L.) del Comune di San Giuliano Terme, rappresenta infatti un luogo estremamente interessante sia per le caratteristiche pedo-climatiche, che per la diffusione sempre più accentuata di un microrganismo fungino da sempre considerato un patogeno di debolezza ad habitus endofitico: *Biscogniauxia mediterranea* (ex *Hypoxylon mediterraneum*). Nell'ottica di preservare e nel contempo valorizzare tale risorsa agroforestale, da anni sono in corso studi sullo stato di avanzamento della malattia "cancro carbonioso".

Sulle circa 1400 piante monitorate, il 54% cade nella classe sintomatologica 0-25%, mentre il 6% era rappresentato da piante morte, sia per fenomeni di senescenza o mancata gestione del bosco, che per la presenza di stroma (il 4% sul totale). Nell'ultimo biennio, è stata osservata una "discesa a valle" della malattia, tanto da portare a morte intere branche di individui presenti nelle parti più esterne del bosco, dove le condizioni stazionali sono le più favorevoli.

Su tutti gli isolati del fungo mantenuti in coltura pura, sono state condotte prove di accrescimento su substrato solido nell'intervallo di temperatura tra 15° e 48°C. La temperatura ottimale di crescita appare essere tra 30 e 36°C, con picco a 33°C a cui, peraltro, corrisponde la massima espressione morfologica; tali risultati sono in linea con il carattere tendenzialmente termofilo del microrganismo.

In relazione ai dati di temperatura e piovosità rilevati per la zona, si ipotizza come il susseguirsi di lunghe estati siccitose seguite da eventi piovosi con temperature tendenzialmente superiori alle media, abbia non solo innescato un fenomeno di deperimento delle querce a sughero, ma soprattutto determinato un cambiamento nell'habitus di *B. mediterranea* divenendo così un patogeno invasivo.

Una *Mycosphaerella* sp. agente di gommosi e filloptosi in piante di agrumi

Francesco Maria Grasso, Antonino Catara, Salvatore Grasso

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Fitosanitarie. Facoltà di Agraria. Università degli Studi di Catania. Via S. Sofia n. 100. 95123 Catania. E-mail: francesco.grasso@unict.it

Questa malattia, nota in Italia già a partire dagli anni 30, è conosciuta nella letteratura anglosassone con il nome di “greasy spot”. Negli ultimi anni, anche a causa dei mutamenti climatici, è stata osservata una recrudescenza di questo fenomeno specie in alcune aree agrumicole.

L’alterazione si presenta sotto forma di maculature brune sulla pagina inferiore a cui corrispondono delle aree necrotiche su quella superiore. L’estensione delle macchie è variabile, essendo alcune appena percettibili ad occhio nudo ed altre estese fino a 5 mm. Le foglie interessate sono quelle della vegetazione nella tarda estate (agosto-settembre) dell’anno precedente, che cadono anticipatamente causando debilitazione e nei casi più gravi riduzione della pezzatura dei frutti.

Su foglie sintomatiche di diversa provenienza, raccolte da terra o direttamente dalla pianta e mantenute in camera umida è stata costantemente riscontrata sulla pagina inferiore una abbondante produzione di periteci di una forma ascofora riferibile su base morfologica al genere *Mycosphaerella*. E’ stato accertato che dai periteci vengono liberati numerosi aschi, contenenti ognuno 8 ascospore di forma ellittica e bicellulare.

Isolamenti effettuati su substrati agarizzati di mais e di patata a partire dalle lesioni fogliari, hanno prodotto colonie fungine di colore bruno verdastro, a lento accrescimento portante conidi zero-plurisettati simili a quelli del genere *Cercospora*.

Prove di patogenicità su piante di arancio dolce, effettuate con la specie fungina isolata, hanno riprodotto i sintomi della malattia, confermando l’eziologia fungina dell’alterazione. Per poter mettere a punto un efficace sistema di lotta sono in corso delle ricerche mirate soprattutto a chiarire l’epoca in cui si verificano le infezioni, dal momento che è presumibile, sulla base di quanto è stato accertato per la stessa malattia in altri Paesi, che le manifestazioni sintomatiche sono il risultato di infezioni avvenute molti mesi prima.

La malattia assume rilevanza economica in alcune aree agrumicole e su alcuni cloni di arancio dolce e ibridi di mandarino.

Attività antagonistica di un isolato di *Fusarium tricinctum* (ITEM 9496) contro *Diplodia corticola* agente di deperimento delle querce

Campanile G.¹, Moretti A.², Ritieni A.³, Luisi N.¹

¹Dipartimento di Biologia e Patologia vegetale, Università degli studi di Bari, Via G. Amendola 165/A, 70126 Bari; ²Istituto di Scienze degli Alimenti CNR, Via G. Amendola 122/O, 70126 Bari, Italy ³Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Università di Napoli "Federico II", Palazzo Mascabruno, 80055 Portici (Napoli), Italy.
Email: luisin@agr.uniba.it

Diplodia corticola A.J.L. Phillips, Alves & Luque è un patogeno fungino a comportamento endofitico frequentemente isolato da campioni di querce deperienti. Studi recenti (Campanile *et al.*, 2007) sull'attività antagonistica di alcuni endofiti fungini contro *D. corticola* hanno evidenziato un'elevata azione di contenimento da parte di un isolato di *Fusarium tricinctum* (Corda) Sacc., (ITEM 9496). Scopo del presente lavoro è stato quello di caratterizzare i metaboliti prodotti dal suddetto isolato al fine di approfondire il meccanismo di biocontrollo. A tal fine le colture *in vitro* di *F. tricinctum* sono state estratte mediante solventi organici e sono state ottenute tre frazioni: Fr1, Fr2, Fr3. Quest'ultime sono state sottoposte a diversi stadi di purificazione e ad analisi chimiche mediante HPLC (High Performance Liquid Chromatography) che hanno consentito di isolare e successivamente identificare quattro enniatine: A (240 µg/g), A1 (1860 µg/g), B (4750 µg/g) e B1 (5050 µg/g). L'attività di biocontrollo di *D. corticola*, delle singole enniatine e delle frazioni è stata valutata mediante prove *in vitro* e *in planta*. Per le enniatine è stata considerata una concentrazione di 10µg/µl, per le frazioni concentrazioni comprese tra 2×10^7 e 2×10^4 µg/µl, mentre per la sospensione conidica di *D. corticola* 1×10^6 mL⁻¹. Nelle prove *in vitro* è stato valutato l'accrescimento di *D. corticola* sia in presenza delle singole enniatine che delle frazioni. Per le prove *in planta* sono state effettuate sia prove di fitotossicità che di antagonismo utilizzando semenzali di 2 anni di età di Cerro e Roverella, i metaboliti sono stati inoculati due giorni dopo l'inoculazione della sospensione conidica di *D. corticola*. Il parametro di osservazione considerato è stato l'eventuale presenza di disseccamento della chioma. Le prove *in vitro* hanno evidenziato che le frazioni sono risultate più efficaci nel contrastare lo sviluppo di *D. corticola* alla concentrazione più elevata, mentre alle concentrazioni più basse i risultati ottenuti non sono risultati statisticamente differenti dal testimone. Le enniatine, invece, non hanno evidenziato alcuna attività di biocontrollo verso il patogeno. *In planta* sono stati confermati i risultati ottenuti *in vitro*, inoltre tutte le piantine di Cerro e Roverella non hanno manifestato segni di attività fitotossica a tutte le concentrazioni considerate. L'incapacità delle enniatine di contrastare lo sviluppo di *D. corticola* non deve portare ad escludere il meccanismo di antibiosi tra le strategie adottate dall'isolato di *F. tricinctum* (ITEM 9496) per controllare lo sviluppo di *D. corticola*. I risultati ottenuti infatti sono da correlare alla concentrazione considerata che probabilmente per le enniatine era inadeguata per contenere l'azione patogenetica di *D. corticola*. Questi risultati seppure preliminari costituiscono la base di partenza per effettuare ulteriori studi al fine di tentare di proteggere le piante forestali dalle più importanti avversità biotiche attraverso mezzi di lotta sia selvicolturali sia biologici.

Campanile G., Ruscelli A., Luisi N., 2007. Antagonistic activity of endophytic fungi towards *Diplodia corticola* assessed by *in vitro* and *in planta* tests. European Journal of Plant Pathology, 117, 237-246.

Identificazione e caratterizzazione fisiologica di *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* razza 1 su zucchini in Emilia-Romagna

Anna Rita Veronesi, Cristian Sigala, Roberta Roberti

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

Il marciume del colletto delle cucurbitacee è la principale malattia fungina di tipo tellurico che colpisce lo zucchini ed il melone nella Pianura Padana e può causare consistenti perdite produttive. Le indagini preliminari condotte dal 2004 hanno evidenziato che *Fusarium solani* è uno dei principali patogeni responsabili della malattia in colture serricole. Allo scopo di approfondire le conoscenze sul patogeno, sono state scelte cinque località del comprensorio bolognese con colture di zucchini in serra. Il patogeno è stato isolato e identificato come *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* W.C. Snyder & H.N. Hansen razza 1, in base alle sue caratteristiche morfologiche macro e microscopiche, alle prove di patogenicità su diversi ospiti e a saggi biomolecolari.

Dagli isolati di campo sono state inoltre realizzate un centinaio di colture monosporiche, venti delle quali sono state utilizzate per la prosecuzione delle prove di caratterizzazione fisiologica. I venti ceppi sono stati saggiati per la loro patogenicità, per la crescita miceliare su substrato e per alcuni enzimi di patogenesi.

Le prove di patogenicità sono state eseguite su giovani piante di zucchini trapiantate in terriccio sterile inoculato con ciascun ceppo (100 CFU/g terriccio). Il livello di virulenza dei ceppi è risultato variabile da 39% a 83% riguardo la gravità della malattia e da 61 a 96% per la frequenza.

Le prove di crescita miceliare sono state condotte su PDA e CLPDA (carnation leaf-potato dextrose agar) a 3 temperature (17, 23 e 28°C) e alla luce ed al buio. La maggiore velocità di crescita è stata ottenuta a 28°C su PDA e a 23-28°C su CLPDA alla luce, confermando che *F. solani* f. sp. *cucurbitae* è un patogeno con un optimum di sviluppo nel periodo primaverile-estivo.

I saggi degli enzimi di patogenesi prodotti dai venti ceppi del patogeno hanno riguardato cellulasi, poligalatturonasi, pectin liasi e proteasi. È stata rilevata una notevole variabilità delle diverse attività enzimatiche ed è stata evidenziata per tutti i venti ceppi del patogeno una correlazione significativa tra le loro attività cellulasiche e pectin liasiche con la frequenza e la gravità della malattia rilevate nelle precedenti prove di patogenicità.

Attività antifungina *in vitro* di sostanze di diversa origine

Zechini D'Aulerio A., Piattoni F., Pisi A., Iaquina G.

*Sezione di Patologia Vegetale, Dipartimento di Protezione e Valorizzazione Agroalimentare,
Università degli Studi - Viale Fanin, 46, 40127 Bologna*

Sono state condotte prove di crescita *in vitro* di miceli appartenenti a *Alternaria alternata*, *Alternaria solani* e *Cladosporium fulvum* in substrati contenenti sostanze di diversa provenienza, messe a confronto con testimoni chimici (Penconazolo, Poltiglia Bordoiese). Sono state condotte osservazioni al microscopio elettronico a scansione (SEM) per verificare le modificazioni strutturali delle ife a contatto con le sostanze rivelatesi più attive (*Armicarb*, *Microsil 500*) ed a confronto col testimone chimico.

Collezione ITEM: organizzazione e possibili interazioni

Antonio Logrieco, Antonio Moretti

*Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari, Consiglio Nazionale delle Ricerche,
Via Amendola 122/O, Bari
e-mail; antonio.logrieco@ispa.cnr.it*

Il tema della ricognizione, identificazione, conservazione e uso sostenibile delle risorse biologiche, intese come espressione di diversità di organismi sulla Terra in termini genetici ed ecologici, è al centro dell'attenzione di Organismi internazionali e nazionali sia politici sia scientifici. In questo contesto, il Mediterraneo costituisce un insieme di ambienti particolarmente ricchi di flora e di fauna molto diversificate e tale biodiversità è alla base di una straordinaria crescita del settore delle produzioni agro-alimentari in molti Paesi che vi si affacciano. In particolare, la biodiversità degli organismi fungini (funghi filamentosi e lieviti) ha particolare rilevanza, in quanto la loro importanza è cresciuta notevolmente nell'ultimo decennio con la nascita dell'ingegneria genetica, con il fiorire delle ricerche nel campo della biotecnologia e con la presa di coscienza a livello nazionale della importanza strategica della biodiversità microbica e delle implicazioni economiche del suo sfruttamento.

Presso l'Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari (ISPA) del Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR) di Bari è stata sviluppata un'area che comprende l'isolamento, la collezione e lo studio della biodiversità dei funghi di interesse agro-alimentare (funghi tossigeni, fitopatogeni, funghi agenti di lotta biologica, lieviti vinari, etc.). Tra gli strumenti utilizzabili per l'identificazione delle specie fungine, si adottano sia tecniche di identificazione morfologica sia molecolare. La conservazione della biodiversità delle popolazioni fungine di interesse fitopatologico, micotossicologico e agro-alimentare può garantire, dunque, un'importante patrimonio genetico di microrganismi non variati da cause artificiali, e assicura la disponibilità di una risorsa a disposizione dell'intera comunità scientifica importante anche per le numerose potenziali applicazioni in campo biotecnologico. La Collezione ITEM presso l'ISPA è costituita da più di 10.000 esemplari di funghi di notevole importanza fitopatologica ed agro-industriale, come *Fusarium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Trichoderma*, *Saccaromyces*, ecc., associati alla produzione di più di un centinaio di diversi metaboliti i dotati di varia attività biologica (p.e. antibiotici, entomo-, fito-, zoo-tossine). La collezione, di cui è disponibile un catalogo in rete www.item.ba.cnr.it/catalogo.htm, ha aderito ed è stata riconosciuta da organizzazioni internazionali quali ECCO e WFCC. In tal contesto, è auspicabile una stretta collaborazione della collezione ITEM con tutte quelle Istituzioni Scientifiche italiane interessate a sviluppare, irrobustire e coordinare questa attività di ricerca. L'obiettivo finale potrebbe essere, inoltre, quello di creare un Network di Istituzioni Scientifiche italiane operanti nel campo della ricognizione e conservazione della biodiversità fungina, che sia ulteriore punto di riferimento per tutto il bacino del Mediterraneo e che offra al nostro Paese una posizione di rilievo nel contesto delle ricerche sulla biodiversità fungina all'interno dell'Unione Europea.

Micodiversità in fitocenosi a pino nero della Liguria

Mirca Zotti* Alfredo Vizzini^o, Mario Pavarino* Alice Delfino*, Ilaria Traverso *, Giuseppina Barberis*

* *Università degli Studi di Genova, Dipartimento per lo Studio del Territorio e delle sue Risorse (Dip. Te.Ris.), Polo Botanico, Corso Dogali 1M, 16136 Genova (Italia); e-mail: milla@klatu.com.dist.unige.it; mario.pavarino@libero.it; giuseppina.barberis@unige.it*
^o *MUT- Università di Torino, Dipartimento di Biologia Vegetale Viale Mattioli 25, I10125 Torino (Italia); alfredo.vizzini@unito.it*

In Liguria le pinete a *Pinus nigra* J.F. Arnold sono da considerarsi di origine antropica. Il dinamismo e la tendenza a trasformarsi in boschi misti non sono ben noti. Spesso tali pinete sono soggette a fenomeni di deperimento dovuti a cause ancora non ben indagate. La conoscenza delle dinamiche ecologiche che coinvolgono il pino nero, non trascurabile per l'ampio utilizzo in impianti artificiali di rimboschimento, risulta inscindibile dalla corretta attuazione di strategie gestionali. Le indagini effettuate riguardano sia la micodiversità, sia la macroflora fungina come bioindicatore dello stato di salute dell'ecosistema bosco, sia l'individuazione di eventuali patogeni vegetali di natura fungina che possono inficiare lo stato di salute del pino nero.

I rilievi micologici sono stati condotti in 21 *plot* permanenti ubicati nel territorio del Parco del Beigua (SV) e nelle zone dei Laghi del Gorzente in Praglia e della Madonna della Guardia, zone comprese nella provincia di Genova. Le ricerche, tutt'ora in corso, sono cominciate nella primavera 2007 e sono da considerarsi preliminari, ma i dati raccolti risultano già significativi: oltre un centinaio le entità tassonomiche individuate; due specie *Entoloma formosum* (Fr.) Noordel e *Dacrymyces chrysospermus* Berk.& M.A. Curtis non ancora segnalate in Liguria; più di 3000 gli sporomi censiti solo nell'ottobre 2007, a testimonianza di una considerevole ricchezza quantitativa. Alcune specie in particolare risultano molto abbondanti quali *Suillus bovinus* (L.) Kuntze, *Russula sardonia* Fr. e *Lactarius deliciosus* (Fr.) Gray.

I campionamenti proseguiranno per almeno due anni al fine di incrementare il numero di dati raccolti, consentendo così l'applicazione di tecniche statistiche di ordinamento, volte ad evidenziare i gradienti principali e a stabilire le vicinanze ecologiche delle diverse aree campione.

La biodiversità dei funghi lignicoli in Sicilia

Alessandro Saitta, Giuseppe Venturella

Dipartimento di Scienze Botaniche, Università di Palermo, Via Archirafi 38 – 90123
Palermo; e-mail: asaitta@unipa.it; gvent@unipa.it

Nell'ambito delle attività del Laboratorio di Micologia del Dipartimento di Scienze Botaniche è stato avviato uno specifico studio finalizzato al censimento dei funghi lignicoli del territorio siciliano allo scopo di incrementare le conoscenze sulla loro distribuzione e sul ruolo ecologico. Le raccolte sono state effettuate durante tutto l'anno in differenti ecosistemi agrari e forestali e sulle piante esotiche, arboree ed arbustive, che caratterizzano il verde ornamentale della città di Palermo.

Il numero totale dei *taxa* censiti è pari a 282 di cui 244 Basidiomiceti e 38 Ascomiceti. Ottantacinque *taxa* afferiscono alla famiglia delle *Polyporaceae* s.l. e quarantasei a quella delle *Corticaceae* s.l.

La maggior parte dei *taxa* sono saprotrofi e colonizzano svariati tipi di substrato (ceppaie, tronchi, piccoli rami, strobili, cupole, ecc.), presentando in alcuni casi una specificità nei confronti del substrato, mentre 51 afferiscono alla categoria dei parassiti necrotrofi.

Numerosi sono i *taxa* non comuni o rari sul territorio italiano, *Asterostroma cervicolor* (Berk. & M. A. Curtis) Masee, *Ceriporia viridans* (Berk. & Br.) Donk, *Ceriporiopsis rivulosa* (Berk. & M. A. Curtis) Gilb. & Ryvardeen, *Coniophora fusispora* (Cooke & Ellis) Sacc., *Eichleriella deglubens* (Berk. & Br.) Lloyd, *Hyphoderma etrusciae* Bernicchia, *Inonotus rickii* (Pat.) D. A. Reid, *Kavinia himantia* (Schw.) J. Erikss., *Oligoporus mappa* (Overh. & J. Lowe) Gilb. & Ryvardeen, *Phellinus erectus* A. David, Dequatre & Fiasson, *Phellinus pseudopunctatus* A. David, Dequatre & Fiasson, *Phellinus rimosus* (Berk.) Pilát, *Sarcodontia crocea* (Schwein.) Kotl., *Skeletocutis lenis* (P. Karst.) Niemelä, *Trechispora fastidiosa* (Pers. : Fr.) Liberta.

I dati ecologici e distributivi dei suddetti *taxa* vengono più approfonditamente analizzati in questo contributo.

L'applicazione del criterio IPAs (Important Plant Areas) al Regno *Fungi*: l'esperienza toscana

Pamela Leonardi, Elena Salerni, Lorenzo Pecoraro, Claudia Perini

Dipartimento di Scienze Ambientali "G. Sarfatti" - Università degli Studi di Siena, Via P. A. Mattioli 4, 53100 Siena, Italia

I funghi raramente sono considerati nelle azioni nazionali per la protezione della natura e inoltre non sono menzionati negli accordi internazionali di conservazione (per esempio la Convenzione di Berna, Rete Natura 2000, ecc). Infatti nelle politiche di salvaguardia della natura dell'Unione Europea come la Direttiva Comunitaria 43/92 Habitat si parla di conservare Habitat naturali e seminaturali della flora e della fauna selvatiche. Non c'è dubbio che questo possa in parte anche essere positivo per funghi e altri gruppi di specie, ma le richieste ecologiche di diversi gruppi di organismi non sono completamente correlate e misure di salvaguardia che si basano su un certo set di organismi non garantiscono sufficientemente la sopravvivenze della totale diversità.

E' in quest'ottica che è nato il progetto IPA (Important Plant Areas), uno degli obiettivi prioritari dei programmi europei per la conservazione delle piante s.l. (European Plant Conservation Strategy 2002-2007; A Sustainable Future for Europe: the European Strategy for Plant Conservation 2008-2014. Le 2 strategie, sviluppate da Planta Europa e il Consiglio Europeo, si inseriscono nel progetto globale della Convenzione sulla Biodiversità (CBD), il cui obiettivo 5 richiede la protezione, entro il 2010, del 50% delle più importanti aree per la diversità vegetale. Da sottolineare che a livello europeo il progetto IPAs così come tutta la strategia, non si riferisce solo alle piante vascolari, ma include anche briofite e alghe nonché, fuori dal regno vegetale in senso stretto, anche funghi e licheni Il programma IPA ha lo scopo di identificare, all'interno di ciascuna zona biogeografica europea, una rete di siti naturali o seminaturali che presentano popolazioni significative di una o più specie che sono di interesse conservazionistico europeo o globale, flora eccezionalmente ricca e/o un esempio eccezionale di un tipo di habitat. Le IPAs sono aree che si possono identificare, proteggere e gestire come luoghi fisici.

Per quanto riguarda il punto di vista strettamente micologico l'Olanda e il Regno Unito si sono già attivati, individuando aree importanti per i funghi, le IFA (Important Fungi Areas) o le IMA (Important Mycological Areas), mentre lo scopo comune di Estonia, Finlandia e Italia era di entrare a fare parte di una rete collaborando con politici e botanici.

L'Italia, grazie ad una convenzione tra il Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e il Centro Interuniversitario CIRFEP dell'Università di Roma "La Sapienza", ha l'obiettivo di fornire un contributo originale all'identificazione di siti: infatti oltre ai tre criteri classici per l'identificazione delle IPAs (a,b,c) viene introdotto l'approccio paesaggistico.

In questo contesto si inserisce il presente contributo che ricorda un po' la cronistoria, descrive successivamente l'approccio micologico come importante contributo al progetto nazionale IPAs con le diverse difficoltà per l'applicazione dei criteri preposti e che infine riporta alcuni siti toscani già proposti o possibili futuri candidati.

Realizzazione di una prima cartografia della distribuzione potenziale di macrofunghi in aree comprese nel Parco dell'Aveto (GE)

Mirca Zotti*, Mario Pavarino*, Giuseppina Barberis*, Alfredo Vizzini°, Mauro Giorgio Mariotti*

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

e-mail: milla@klaatu.com.dist.unige.it; mario.pavarino@libero.it; giuseppina.barberis@unige.it; m.mariotti@unige.it;

° *MUT- Università di Torino, Dipartimento di Biologia Vegetale Viale Mattioli 25, I10125 Torino (Italia); alfredo.vizzini@unito.it*

Il territorio del Parco dell'Aveto presentando molteplici aspetti vegetazionali strettamente correlati ai diversi gradienti tipici di ambienti temperati freddi e a vari livelli di antropizzazione è caratterizzato da un'elevata biodiversità fungina. Gli studi fino ad oggi condotti riguardano l'analisi della componente macrofungina in plot permanenti (600 - 1000 m²) localizzati in diverse e rappresentative fitocenosi forestali. In particolare, sono stati studiati boschi di conifere (*Picea abies* (L.) H. Karst., *Abies alba* Mill., *Pinus nigra* Arnold), boschi di latifoglie (*Fagus sylvatica* L.), boschi misti (latifoglie e conifere).

In primo luogo si è proceduto alla realizzazione di una carta delle tipologie vegetazionali presenti nei territori di studio. Tale carta è derivata prevalentemente dai sopralluoghi realizzati contestualmente ai primi rilievi micologici ed è stata successivamente integrata con la carta forestale della regione Liguria, la carta degli Habitat e le cartografie relative ai piani del Parco. La rielaborazione del materiale raccolto per la stesura della carta è avvenuta in ambiente GIS. Ad integrazione dei rilievi effettuati sono stati utilizzate immagini telerilevate (elaborate con tecniche di *Remote Sensing*) e dati di archivio relativi ad aspetti quantitativi delle stazioni forestali comprese nelle aree studiate (area basimetrica, biomassa, necromassa, peso, altezza della lettiera ecc.) per verificare la correlazione esistente tra l'assetto forestale e la presenza e distribuzione dei macrofunghi rilevati.

Successivamente si sono messe a confronto diverse tipologie di realizzazione delle carte potenziali utilizzando algoritmi interpolativi con interpolatori di tipo deterministico e statistico al fine di ottenere delle carte potenziali indicative della biodiversità dei macrofunghi.

Gli sviluppi futuri riguarderanno la verifica in campo dell'attendibilità delle cartografie predittive prodotte per le aree che non sono state oggetto di rilievo in campo.

Analisi proteomica di *Boletus edulis* Bull. infestato da *Hypomyces chrysospermus* Tul. & C. Tul.

Mirca Zotti*, Elisa Sanguineti*, Barbara Santamaria**, Erika Pistarino**, Micaela Tiso**, Mauro Giorgio Mariotti*, Maria Elisabetta Cosulich***

* *Università degli Studi di Genova, Dipartimento per lo Studio del Territorio e delle sue Risorse (Dip. Te.Ris.), Polo Botanico, Corso Dogali 1M, 16136 Genova (Italia) e-mail: milla@klaatu.com.dist.unige.it; elisasanguini@alice.it; m.mariotti@unige.it;*

** *Università degli Studi di Genova, Dipartimento di Chimica e Chimica Industriale (DCCI), Via Dodecaneso 31, 16146 Genova (Italia) e-mail: santamaria@chimica.unige.it; pistarino@chimica.unige.it; tiso@chimica.unige.it*

*** *Università degli Studi di Pavia, Dipartimento di Biochimica "A. Castellani", Viale Taramelli 3/B, 27100 Pavia (Italia) e-mail: cosulich@chimica.unige.it*

L'infestazione dei boleti da parte di *Hypomyces* (Fr.) Tul. costituisce un argomento d'interesse sia nel campo della ricerca sia in quello di una gestione più consapevole del prodotto alimentare. L'obiettivo di questo lavoro è quello di verificare come l'interazione tra i due organismi modifichi l'assetto proteico e se eventualmente la presenza del parassita abbia una rilevanza a livello di sicurezza d'uso.

A partire da un basidioma fresco di *Boletus edulis* infestato è stato isolato, su terreno di Sabouraud solido modificato, un ceppo di microfungo micoparassita. Mediante le metodiche di micologia classica il ceppo è stato identificato come *Hypomyces chrysospermus*. L'indagine è proseguita a livello molecolare, e si è articolata in due fasi distinte.

La prima parte del lavoro ha portato alla caratterizzazione proteica delle colture pure di *Hypomyces* tramite analisi elettroforetica bidimensionale; questa tecnica permette di analizzare estratti proteici complessi, separando le proteine in base al loro peso molecolare e punto isoelettrico. Lo studio ha consentito di produrre mappe proteomiche di *Hypomyces* che, analizzate mediante il programma Image Master 2D Platinum, mostrano una marcata variabilità: il grado di omologia che emerge dall'esame statistico non supera il 25%. Queste variazioni nell'assetto proteico potrebbero dipendere dalle condizioni di coltura in vitro ed essere in funzione dell'intervallo di tempo intercorso tra l'inoculo in piastra e il prelievo del campione.

Nella seconda fase della ricerca è stata approfondita l'analisi delle interazioni tra *Hypomyces chrysospermus* e *Boletus edulis*. E' stato possibile valutare, mediante analisi proteomica, le variazioni indotte nel carpoforo del macrofungo in seguito alla presenza del parassita. In campioni di *Boletus edulis* secco è stata evidenziata una correlazione tra la presenza di *Hypomyces* e l'espressione di una proteina del peso molecolare di 15 kDa. Questa proteina appare modulata dal grado di contaminazione: risulta fortemente espressa nel fungo sano ed arriva ad essere scarsamente visibile nei campioni maggiormente parassitati. Il dato presentato potrebbe fornire un possibile marcatore quali-quantitativo quale garanzia di qualità del prodotto.

Mappatura dei macromiceti in Lombardia

E. Savino¹, L. Mangano¹, F. Sartori¹, A. Rampa², F. Castelli³, M. Cervini³, E. Gaggianese³, A. Gatti³, C. Papetti³, A. Prim³, L. Spreafico³, L. Villa³

¹Università degli Studi di Pavia, Dipartimento Ecologia del Territorio (DET), Via S. Epifanio 14, 27100 Pavia; ²Regione Lombardia - Direzione Generale Qualità dell'Ambiente, Milano;

³Federazione Micologica Lombarda (FML – AMB), presidente L. Villa, Via C. Battisti 7, 20041 Agrate Brianza – Milano

Nell'ambito delle problematiche relative alla conservazione ed a un miglior utilizzo del territorio, la Regione Lombardia – Direzione Generale Qualità dell'Ambiente nel 2003 ha promosso un progetto denominato “Carta Naturalistica della Lombardia” che prevedeva sia la raccolta di dati naturalistici sia lo sviluppo di un sistema georeferenziato (1). Inizialmente il database conteneva i dati relativi a fauna, piante vascolari, habitat ed emergenze abiotiche. Nel 2005 la Regione ha deciso di aggiornare tale database e di renderlo visibile in internet; in questo contesto sono stati inseriti anche i macromiceti.

Per funghi, licheni e piante vascolari il territorio lombardo è stato suddiviso in quadranti, ciascuno avente un'area di circa 12 x 11 km². Si è scelto di iniziare con la mappatura dei funghi appartenenti alla classe *Basidiomycetes* e di limitare il territorio di indagine ad alcune aree dove operano esperti micologi, con l'auspicio di ampliare e completare il lavoro via via nel tempo.

In una prima fase è stato messo a punto un catalogo di riferimento, avvalendosi della Checklist Italiana (2), modificata secondo i suggerimenti apportati dal gruppo scientifico lombardo afferente al progetto. Una seconda fase ha previsto l'organizzazione della raccolta dei dati di campo e l'adeguamento del sistema informatico generale per permettere il trasferimento di tali dati in modo che questi fossero poi visibili on-line con informazioni di vario tipo: per ciascun fungo vengono indicati posizione geografica, Gruppo Micologico di riferimento, chi ha raccolto, determinato ed eventualmente rivisto la specie inserita; inoltre possono essere specificati alcuni aspetti ecologici. E' possibile consultare i dati finora immessi sul seguente sito:

www.ambiente.regione.lombardia.it/webqa/carta%20naturalistica/cnat_home.html

A tutt'oggi sono presenti 12207 segnalazioni ma molte altre sono in attesa di essere caricate. La distribuzione non è omogenea: questo dipende soprattutto dall'estensione del territorio di competenza di ciascun gruppo micologico afferente al progetto, oltre che dal lavoro pregresso di informatizzazione dei dati raccolti. La provincia di Varese risulta quella con maggior completezza di dati, sia rispetto alla distribuzione (in quasi tutti i quadranti viene segnalata la presenza di macromiceti) sia rispetto al numero di segnalazioni che risalgono a partire dal 1981. Tutti gli altri gruppi micologici, per il momento, hanno fornito i dati di campo raccolti appositamente per questo progetto, per cui in un arco di tempo compreso tra il 2005 e il 2007.

Confrontando i dati finora disponibili con altri lavori analoghi di mappatura dei macromiceti (3), si evince che il progetto necessita ancora di tempo per avere informazioni adeguate anche in Lombardia. Poiché il sistema prevede che oltre ai dati di campo si possano inserire anche dati d'erbario o bibliografici, ci si auspica di poter implementare il database. Inoltre vi sono province, come per esempio quella di Sondrio, che meritano attenzione sotto il profilo micologico, ma che ancora non sono state censite. Infine si prevede di estendere il catalogo e la mappatura agli ascomiceti.

L'obiettivo finale comune rimane la salvaguardia delle specie e del territorio.

- 1) Isocrono D. *et al.* – “Carta Naturalistica della Lombardia”: a geographic information system for collecting, managing and visualizing data. Boccone, in corso di stampa
- 2) S. Onofri (2005). Checklist dei funghi italiani – Basidiomycota. C. Delfino ed., Sassari
- 3) Senn-Irlet B., Bieri G., Egli S., 2007: Lista Rossa Macromiceti. Conf. Svizzera, UFAM, Berna

Progetto Funghi e Ambiente

Alvaro Gobbini

*Gruppo Micologico Valle Spoletana, viale Belvedere, 4/e – Campello sul Clitunno (PG) – cell.
340.5031061 - e-mail: alvaro2004@tiscali.it*

Gli aderenti ai gruppi micologici di solito vanno alla ricerca dei funghi per scopi alimentari o per la curiosità di individuare il nome scientifico delle specie che incontrano. Nell'uno e nell'altro caso si tratta di persone che sono profondi conoscitori del territorio e degli ambienti dove cresce l'una o l'altra specie di fungo: conoscenze accumulate in anni di esperienze e di osservazioni e destinate ad essere perdute.

Va rilevato, inoltre, che i vari gruppi micologici languono per la mancanza di fondi per cui vengono condotte poche attività spesso dovute al solo entusiasmo di qualche aderente; in questa situazione si verifica anche una progressiva riduzione degli iscritti.

Da queste note nasce l'idea di formulare un progetto semplice, alla portata di tutti i gruppi micologici che possa, da un lato stimolare gli aderenti ai gruppi a esternare le proprie conoscenze, e dall'altro creare le premesse per progetti più ampi che possano, interagendo con il mondo scientifico, portare linfa ai gruppi e di conseguenza un nuovo entusiasmo ed una nuova crescita. Ciò anche perché si ritiene che se si vuole affrontare in modo razionale la salvaguardia dell'ambiente e con esso dei funghi, è necessaria una collaborazione stretta tra i micologici che si interessano di funghi dal punto di vista scientifico ed i micologi amatori che sono profondi conoscitori del territorio.

In questa ottica è nato il progetto che prede:

- a) ogni gruppo micologico individua un'area facilmente raggiungibile e controllabile, sana dal punto di vista ecologico;
- b) nell'ambito dell'area viene individuata e delimitata una superficie di circa 2000 mq;
- c) quest'area viene studiata dal punto di vista ecologico (suolo, clima, vegetazione);
- d) con cadenze periodiche l'area viene visitata per individuare la presenza dei funghi indicando le specie presenti e la loro densità;
- e) la ricerca, nella stessa area e con la stessa metodica, viene ripetuta per più anni.

I dati ottenuti vengono pubblicati nell'insero di Micologia Italiana da parte dei micologi che hanno eseguito le indagini.

Il progetto vuole essere una palestra di studio per i micologi amatori, ma costituisce anche un approccio per valutare le modificazioni ambientali che si verificano nel corso degli anni.

***Choiromyces meandriformis* and *Mattirolomyces terfezioides*: peculiar truffles with new perspectives**

Andrea Gògàn Csorbainé¹, Zoltán Bratek², Zsolt Merényi², Zoltán Illyès², Judit Dimény¹

¹*Szent István University, Faculty of Agricultural and Environmental Sciences, Institute of Horticultural Technologies, Gödöllő, Páter Károly u. 1. 2103, Hungary, gogan.andrea@mkk.szie.hu, Fax: +36-28410804.*

²*Eötvös University, Department of Plant Physiology and Molecular Plant Biology, 1117 Budapest, Pázmány Péter sétány 1/C*

Science and market consider fungi called truffles belonging mainly to the *Tuber* genus; however, there are some symbiotic subterranean mushrooms which also have significant gastronomic value such as *Choiromyces meandriformis* VITT. and *Mattirolomyces terfezioides* (MATTIR.) E. FISCHER. The previous has a long history in the gastronomy of East-Central Europe, as the first occasion of mentioning truffles in the Carpathian basin in the 16th century was presumably white truffle (*Choiromyces meandriformis*). From that time this truffle was mentioned numerous times and was cited that white truffles were often sold in Vienna markets.

Mattirolomyces terfezioides has shorter history being discovered by Hollós in 1926. It is not only a unique mushroom for its fragrance and deliciousness, used to create desserts, like sorbets, cakes because of its strong sweet flavour but also because the species occurs solely on the sandy soils brought by the Danube to the Carpathian basin and covered by *Robinia pseudoacacia* forests. Soil parameters of the habitats can be described as slightly alcalic or neutral ones with high humus, various phosphorous and medium or high potassium content. Lime can be detected in traces in all samples.

Previous studies of phytoindication revealed some submediterranean climate effect, semi-humid and intermediate moisture conditions and indicated slightly basic soils, disturbed, secondary and artificial *Robinietum cultum* habitats. Majority of habitats belongs to *Bromo sterilis-Robinietum* associations.

Choiromyces meandriformis is considered to be rare in the current Hungarian territory, but widely spread in the surrounding Carpathian Mountains. Its habitats can be characterized by acidic, heavy soils covered with hornbeam (*Carpinus betulus*) and spruce (*Picea abies*). It mainly grows in mesophilic leavy forests (Syntaxonomic class: *Quercu-Fagetea*), in its derivatives with *Picea abies* and in different coniferous woods and plantations. This species is a typical summer truffle having the main season between June and September. Currently it is re-discovered in Hungarian gastronomy because it is an easily adjustable material to wide-range of dishes.

Attempts to the development of the cultivation technology of both species have already been made in Hungary and comprehensive marketing strategy should also be built. We believe that these efforts will raise these two species on the sky of European truffling and cookery.

Sulla presenza di alcuni interessanti funghi ipogei in Sicilia

G. Venturella, A. Saitta, M.L. Gargano

Dipartimento di Scienze Botaniche, Università di Palermo, Via Archirafi 38 – 90123
Palermo; email gvent@unipa.it

Nell'ambito degli studi sulla biodiversità dei funghi siciliani, a partire dal 2000, sono state avviate alcune ricerche sul territorio finalizzate alla raccolta di funghi ipogei e semi-ipogei (Venturella *et al.*, 2004a,b; 2006).

Le ricerche, effettuate in ecosistemi forestali di origine naturale e/o antropica, hanno consentito il rinvenimento di 54 *taxa*, tra cui alcuni inediti per la Sicilia e per il territorio nazionale.

In questo contributo vengono riportati i dati ecologici e distributivi relativi ai *taxa* di maggiore rilievo sinora riscontrati nel corso delle raccolte: *Pyrenogaster pityophilus* Malençon et Riousset, *Radiigera atroleba* Zeller, *Sclerogaster compactus* (Tul. & C. Tul.) Sacc., *Gymnomyces xanthosporus* (Hawker) A. H. Sm., *Setchelliogaster tenuipes* (Setch.) Pouzar var. *rheophyllus* (Bertault & Malençon) G. Moreno & M. P. Martin e *Fischerula macrospora* Mattir.

Pyrenogaster pityophilus è un raro gasteromicete, a fruttificazione primaverile, tipico dell'ambiente mediterraneo. Il ritrovamento all'interno di un popolamento artificiale a prevalenza di *Pinus pinea* e *P. halepensis* è il terzo in Europa, dopo quelli effettuati da Malençon e Riousset nel sud della Francia (1977) e da Montecchi e Sarasini (2000) in Sardegna.

Le raccolte di *Radiigera atroleba* all'interno di un popolamento artificiale di *Eucalyptus camaldulensis* e, più recentemente in un bosco di *Quercus suber*, con presenza di *Cistus monspeliensis* e *C. creticus* nel sottobosco, consentono di ampliare l'areale di distribuzione in Italia che sino ad oggi era limitato all'Emilia Romagna.

Viene altresì segnalato un ampliamento dell'areale di distribuzione di *Sclerogaster compactus*, raccolto all'interno di boschi con prevalenza di *Quercus ilex*, e precedentemente soltanto segnalato per l'Emilia Romagna e il Friuli Venezia Giulia su terreni calcarei.

Il ritrovamento, in un bosco di *Quercus cerris*, di *Gymnomyces xanthosporus*, interessante *taxon* caratterizzato microscopicamente dal colore giallo intenso delle spore, rappresenta la prima segnalazione per il territorio italiano e si aggiunge al ritrovamento europeo effettuato nei dintorni di Gerona (Spagna) in un bosco misto di *Corylus avellana* L., *Fraxinus* sp. e *Acer* sp. (Montecchi e Sarasini 2000).

Setchelliogaster tenuipes var. *rheophyllus* è una specie micorrizica, strettamente legata alla presenza di *Eucalyptus camaldulensis*, e che si distingue da *S. tenuipes* var. *tenuipes* per la presenza di numerosi cistidi tibiiformi, facilmente osservabili al microscopio ottico.

Fischerula macrospora infine, è una specie di rilevante interesse, rinvenuta precedentemente in Toscana (Mattiolo 1928), Lazio (Mattiolo 1933), Lombardia (Mattiolo 1935), Emilia Romagna (Montecchi e Lazzari 1988, 1993) e riportata dagli autori come simbionte di *C. avellana* e *F. sylvatica*. La sua presenza in Sicilia è stata, al momento, rilevata esclusivamente all'interno di boschi a prevalenza di leccio.

Influenza della natura del substrato nella micorrizzazione di *Quercus pubescens* Willd. con varie specie di *Tuber*

Donnini D., Baciarelli Falini L., Di Massimo G., Benucci G.M.N., Bencivenga M.

Dipartimento di Biologia Applicata - Università degli Studi di Perugia
Borgo XX Giugno, 74 – 06121 Perugia - domizia@unipg.it

Un aspetto molto importante per la micorrizzazione delle piante tartufigene è la scelta del substrato di allevamento, che ne influenza direttamente lo sviluppo. Anche se la pianta tartufigena non costituisce il componente fondamentale nella tartuficoltura, è comunque necessario utilizzare piantine con percentuale di micorrizzazione medio-alta, con buon sviluppo vegetativo ed equilibrio tra apparato epigeo ed ipogeo. Di solito vengono utilizzati terreni provenienti da zone tartufigene naturali, che però talvolta non si dimostrano ottimali per tutte le specie di tartufo. Inoltre i substrati artificiali risultano di pratica applicazione in quanto non necessitano di sterilizzazione e sono nettamente più leggeri da movimentare sia in vivaio che in campo durante la messa a dimora. Quindi sono state messe in atto sperimentazioni con due diversi tipi di substrato di allevamento di cui uno (To) costituito da: agriperlite, vermiculite e torba in parti uguali, il secondo substrato (Te) è costituito da una miscela di terreno naturale e sabbia in parti uguali. Per il primo miscuglio, si tratta di un substrato ottenuto da componenti artificiali reperibili sul mercato, ai quali è stata fatta un'aggiunta di CaCO_3 per stabilizzare il pH su valori alcalini. Nella primavera 2004 sono state inoculate giovani piantine di *Quercus pubescens* Willd. con diverse specie di *Tuber* in combinazione fra loro, allo scopo di verificare l'influenza del substrato nei confronti dello sviluppo vegetativo e della micorrizzazione. In particolare le tesi inoculate sono state: *Tuber melanosporum* Vittad. vs. *T. aestivum* Vittad., *T. melanosporum* vs. *T. brumale* Vittad., *T. melanosporum* vs. *T. borchii* Vittad., *T. aestivum* vs. *T. brumale*, *T. aestivum* vs. *T. borchii*, *T. brumale* vs. *T. borchii*, *T. melanosporum* vs. *T. aestivum* e *T. brumale*, *T. melanosporum* vs. *T. aestivum* e *T. borchii*, *T. melanosporum* vs. *T. brumale* e *T. borchii* ed inoltre una tesi di controllo senza inoculo. Nell'autunno 2004, nella primavera 2005 e nella primavera 2006 sul 32% delle piante di ciascuna tesi sono stati rilevati l'accrescimento in altezza e diametro al colletto. Per valutare le micorrize di ciascuna specie fungina si è provveduto alla conta degli apici e al relativo calcolo percentuale. Per quanto riguarda lo sviluppo vegetativo, i due substrati non hanno mostrato differenze significative: nel miscuglio artificiale (To) l'andamento è stato più irregolare raggiungendo comunque buoni risultati, mentre in terra (Te) si è notata una maggiore uniformità di accrescimento. Naturalmente il trend di accrescimento al terzo anno risulta in diminuzione almeno per l'altezza, ma ciò è facilmente comprensibile vista la lunga permanenza nel medesimo contenitore. Per quanto riguarda la micorrizzazione, al primo vaso dopo pochi mesi dall'inoculo erano presenti in percentuali notevoli *T. borchii* e *T. brumale* in entrambi i substrati, mentre valori significativi di *T. melanosporum* sono comparsi nel substrato naturale (Te). Dati interessanti riguardano il secondo anno con valori abbastanza elevati soprattutto nel substrato naturale (Te) per *T. brumale*, *T. borchii* e *T. melanosporum*. Sempre nello stesso substrato (Te) iniziano a comparire i primi "inquinanti". Al terzo anno la micorrizzazione è più diffusa fra le varie specie, anche se diventa importante il dato dei funghi competitori e per lo più nel substrato naturale (Te): la sterilità del substrato artificiale (To) è effettiva, dato che non sono presenti altri funghi. Complessivamente, tuttavia, risulta da preferire il substrato a base di terreno e sabbia (Te), sia per l'omogeneità di sviluppo vegetativo che per la micorrizzazione, ad eccezione che per *T. aestivum*, il quale ha mostrato valori di micorrizzazione elevati nel substrato artificiale (To).

Ulteriori indagini sui funghi ipogei lucani e pugliesi

Gian Luigi Rana, Stefano Franco Signore ⁽¹⁾, Rosanna Marino, Simonetta Fascetti

Dipartimento di Biologia, Difesa e Biotecnologie Agro-Forestali, Università della Basilicata, Via Ateneo Lucano, n. 10, 85100 - Potenza; E-mail: rana@unibas.it ⁽¹⁾*Gruppo di Lecce dell'AMB di Trento, Via Mazzini, n. 11, 73022 - Corigliano d'Otranto (Lecce); E-mail: amblecce@libero.it*

Sono riportati i risultati di un'indagine svolta principalmente nell'ultimo biennio sui funghi ipogei della Basilicata e della Puglia. I territori esplorati comprendono alcune località boschive delle province di Matera e Potenza, in Basilicata, e di Lecce e Taranto, in Puglia. La cerca degli ipogei è stata anche effettuata, unitamente a studi vegetazionali, nella Riserva Naturale Biogenetica "Marinella-Stornara" che si estende per 1.456 ha in Puglia (provincia di Taranto) e per soli 45 ha in Basilicata (provincia di Matera). I funghi ipogei trovati per la prima volta nelle due regioni sono di seguito elencati:

BASILICATA

Ascomycetes - Pezizales - Balsamiaceae: *Picoa lefebvrei*; - **Pyronemataceae:** *Stephensia bombicina*; - **Terfeziaceae:** *Pachyphloeus conglomeratus* e *Terfezia areanaria*; - **Tuberaceae:** *Choiromyces magnusii*, *Tuber magnatum* var. *Vittadini* e *T. rufum* fo. *lucidum*;
Basidiomycetes - Agaricales - Gautieraceae: *Gautiera otthii*;

PUGLIA

Ascomycetes - Pezizales - Balsamiaceae: *Picoa juniperi*; - **Geneaceae:** *Genea fragrans*, *G. sphaerica*, *G. vagans* e *G. verrucosa*; - **Pyronemataceae:** *Geopora arenosa* (solo inizialmente ipogeo), *Labirinthomyces donkii* e *Stephensia bombicina*; - **Terfeziaceae:** *Pachyphloeus citrinus*, *P. ligericus*, *P. prieguensis*, *Terfezia boudieri* e *T. olbiensis*; - **Tuberaceae:** *Choiromyces magnusii*, *T. dryophilum*, *T. foetidum* e *Tuber oligospermum*;
Basidiomycetes - Agaricales - Hydnangiaceae: *Hydnangium carneum*; - **Melanogastraceae:** *Melanogaster ambiguus*, *M. broomeanus* e *M. umbrinogleba*; - **Cortinariales - Cortinariaceae:** *Setchelliogaster tenuipes* (basidiomi epigei protetti da foglie secche di eucalipto); - **Hymenogasteraceae:** *Hymenogaster bulliardii*, *H. griseus* e *H. olivaceus*; - **Lycoperdales - Geastraceae:** *Pyrenogaster pityophilus* (= *Schenella pityophilus* **comb. nov.**) (semi-ipogeo); - **Hysterangiaceae:** *Hysterangium crassum*, *H. inflatum* e *H. stoloniferum*; - **Rhizopogonaceae:** *Rhizopogon luteolus* e *R. roseolus*.

I metaboliti secondari come ausilio nella sistematica dei Basidiomiceti

Marco Clericuzio^a, Giovanni Vidari^b, Paola Vita-Finzi^b

^aDip. di Scienze dell'Ambiente e della Vita, Università degli Studi del Piemonte Orientale, Via Bellini 25G, 15100 Alessandria, ^bDip. di Chimica Organica, Università degli Studi di Pavia, Via Taramelli 10, 27100 Pavia.

I corpi fruttiferi di molte specie di Basidiomiceti contengono una serie di metaboliti secondari di varia natura chimica; dal punto di vista evolutivo, queste molecole sono state selezionate per migliorare la capacità di sopravvivenza del fungo nell'ecosistema (servono, p. es., come difesa contro predatori e parassiti).

Il concetto, piuttosto intuitivo, che strutture molecolari simili o uguali siano sintetizzate da specie sistematicamente correlate tra loro (p. es., diverse specie all'interno dello stesso genere), è stato utilizzato dai tassonomi delle piante superiori da lungo tempo. Nei Basidiomiceti, invece, le prime applicazioni di chemiotassonomia risalgono alla fine degli anni '60, grazie soprattutto alla scuola micologica di lingua tedesca (Singer, Moser, Horak), ed in seguito anche a quella francese (Kühner).

Le assegnazioni sistematiche basate esclusivamente sulla presenza di metaboliti analoghi non sono sempre corrette, ed alcune formulate in passato si sono rivelate sbagliate: si pensi alla errata sistemazione del gen. *Omphalotus* nell'ordine Boletales, basata proprio sull'osservazione di pigmenti simili. Oppure alla presenza dell' α -amanitina in *Amanita phalloides* e *Galerina marginata*, due specie completamente non correlate filogeneticamente. In questi casi è probabile che si tratti solo di convergenza evolutiva.

Oggi, la possibilità di ottenere sequenze genomiche in maniera routinaria, consente di poter verificare in maniera assai più affidabile le assegnazioni basate sia sulla morfologia che sulla chimica dei metaboliti secondari. Il campo della chemiotassonomia fungina quindi si presenta, attualmente, ancora più rigoroso e prolifico, visto anche il numero relativamente ristretto di specie indagate, soprattutto su una prospettiva mondiale. Inoltre l'analisi chimica dei carpofori fungini (come pure quella dei miceli in cultura pura) ha consentito di reperire molte molecole di notevole utilità pratica, sia nel campo della medicina, che in quello agro-alimentare.

Nel presente intervento si vuole fare una rapida carrellata sulle attuali conoscenze nell'ambito della chemiotassonomia fungina, per poi passare ad analizzare più in dettaglio i risultati ottenuti per la famiglia delle Russulaceae, i cui rappresentanti sono stati indagati dal nostro gruppo di ricerca per molti anni. In questo studio, alcuni dati derivanti dall'analisi chimica hanno trovato una precisa conferma dalla filogenesi molecolare (come pure dall'analisi morfologica): su tutti l'appartenenza delle Russulaceae alle Aphyllophorales s.l., risultato che viene suggerito dalla presenza dello stesso metabolita, lo stearoil-velutinale, nei carpofori di molte Russulaceae, come pure di alcuni "classici" rappresentanti di quell'ordine, come p.es., *Auriscalpium*, *Lentinellus*, *Artomyces* e altri.

Variazione intraspecifica in *Pleurotus ostreatus* nella produzione di laccasi in risposta a differenti condizioni di crescita

U. Roggero¹, P. Luciano¹, V. Lettera², G. Sannia², G.C. Varese¹

¹ Dipartimento di Biologia Vegetale dell'Università degli Studi di Torino - Viale Mattioli, 25 – 10125 Torino

² Dipartimento di Chimica Organica e Biochimica dell'Università di Napoli Federico II - Complesso Universitario Monte S. Angelo - via Cinthia 80126 Napoli

L'uso di microrganismi capaci di ossidare composti di natura aromatica risulta promettente sia per la produzione di molecole d'interesse commerciale sia nel campo del biorisanamento ambientale. Gli enzimi, infatti, sono eccellenti catalizzatori capaci di riconoscere un ampio spettro di molecole complesse come substrato ed, in alcuni casi, estremamente selettivi catalizzando reazioni con un'ineguagliabile enantio- e regio-selettività risultando quindi una valida alternativa ai catalizzatori chimici e maggiormente ecocompatibili. I basidiomiceti lignicoli sono considerati una fonte microbica in grado di produrre enzimi di elevato interesse biotecnologico; essi sono in grado di produrre un'ampia varietà di enzimi ossidativi tra cui diversi isoenzimi ad attività laccasica, caratterizzati da differente specificità nei confronti di substrati fenolici variamente sostituiti.

Le laccasi sono ossidasi blu contenenti rame che catalizzano l'estrazione di idrogeno radicalico da substrati fenolici ed ammine aromatiche con concomitante riduzione di ossigeno molecolare ad acqua. Esse sono tra i più promettenti biocatalizzatori grazie alla loro versatilità d'impiego: sono caratterizzate da un'ampia specificità di substrato, che può essere estesa dalla presenza di mediatori redox, e possono, perciò, essere utilizzati in modo efficace in numerose biotrasformazioni e per la rimozione di composti inquinanti quali idrocarburi policiclici aromatici, fenoli, pesticidi, e coloranti. La produzione di laccasi può essere ottimizzata, in considerazione delle quantità di enzima richieste per le applicazioni industriali, allestendo colture fungine in opportune condizioni di crescita (fonte di carbonio e azoto, pH, induttori).

Pleurotus ostreatus oltre che un pregiato fungo edule, è un organismo molto studiato per le importanti applicazioni biotecnologiche grazie alla produzione di enzimi ossidativi e in particolare laccasi, enzimi secreti in differenti isoforme caratterizzate da differenti affinità di substrato in relazione al ceppo fungino studiato e alle condizioni di coltura.

Questo lavoro ha come scopo l'analisi di differenti ceppi di *Pleurotus ostreatus* isolati da diversi substrati e aree geografiche e dotati di differenti capacità degradative nei confronti di inquinanti per la produzione di laccasi di interesse industriale in risposta a differenti condizioni di crescita.

Su 7 differenti isolati sono state effettuate analisi di genomica strutturale al fine di valutare la presenza/assenza dei geni putativamente codificanti laccasi in questa specie e la variabilità nelle sequenze nucleotidiche.

Successivamente i diversi ceppi sono stati fatti crescere in condizioni non indotte (terreno GHY a 28°C al buio a 130 rpm) e monitorati per la produzione di biomassa, quantità totale di proteine escrete, attività laccasica e proteasica. Per tutti i ceppi la produzione di biomassa e la quantità totale di proteine escrete hanno raggiunto valori confrontabili, mentre le attività laccasica e proteasica hanno mostrato notevoli differenze sia dal punto di vista qualitativo sia da quello quantitativo.

Quattro ceppi sono stati ulteriormente indagati sia per l'attività laccasica complessiva (analisi quantitativa) sia sulla tipologia di isoforme espresse (analisi qualitativa) in differenti condizioni colturali: in liquido ed in "solid-state", in condizioni basali e indotte sia con induttori chimici (CuSO₄ e acido ferulico) sia con induttori naturali (trebbie d'orzo). Anche in queste condizioni si sono evidenziate sostanziali differenze tra i diversi ceppi riguardo sia l'attività laccasica sia la produzione delle diverse isoforme.

**Attività dell'Ispettorato Micologico della A.S.L. Roma C.
Compiti e prospettive dell'Istituzione Pubblica**

Maurizio Bagnato, Stefano Rizzo

*A.S.L. Roma C, S.I.A.N., Ispettorato Micologico
Via Giuseppe Marotta, 11 - 00142 ROMA
Tel. 06/51005430 - Fax. 06/51005438*

L'Ispettorato Micologico dell'ASL RMC nasce in ossequio alle più recenti normative nazionali (Legge quadro n° 352 del 23-08-1993 e DPR n° 376 del 14-07-1995) e Regionali (L. R. Lazio n. 32 del 5-08-1998), con una delibera la 1707/98, unica nell'ambito nazionale, quale U.O. Ispettorato Micologico. L'originalità sta nel fatto che nasce ben 4 anni prima dell'istituzione presso la ASL RMC del SIAN ed in ambito SIPA (servizio igiene pubblica e ambientale). Altra caratteristica peculiare è la direzione di un Dirigente Medico Micologo e organizzata in senso piramidale ove il minimo comun denominatore fra Medici – T.d.P. – Biologi previsti è il Titolo di Micologo rilasciato ai sensi del DM 376.

Pertanto si pone come centro "A TUTTO TONDO" incentrato sulla Micologia che viene studiata in tutti i suoi aspetti: quindi oltre che tassonomici e scientifico/botanici anche nutrizionali – commerciali e da utilizzo anche terapeutici. In ossequio alla collocazione nel Dipartimento di Prevenzione, già inizialmente nel 1998, è stato dato particolare impulso all'attività d'educazione alla salute con la formazione di più di 5000 raccoglitori tramite corso previsto dalla normativa Regionale in materia con l'intento di prevenire le intossicazioni da funghi. I raccoglitori formati sono stati i principali utenti per l'attività di controllo a privati che in 10 anni d'attività ha visto passare dai 400/500 Kg di funghi provenienti da molte Regioni del centro-sud.

Ma l'educazione sanitaria non si è fermata qui; infatti, è stata individuata e formata la figura del Medico "Sentinella Micologica" con compiti epidemiologici per l'Ispettorato Micologico sui casi d'avvelenamento/reazioni avverse spesso miscosciate e che non arrivano all'ospedale (oltre a compiti d'educazione al consumo di simili alimenti). Già sono stati formati 30 Medici Sentinella e ci apprestiamo a divenire (l'esempio dei C.D.C. di Atlanta forse è azzardato) il punto di riferimento nazionale sulle intossicazioni misconosciute (da funghi).

Tale dato ci permetterà di inserire/togliere specie fungine dalla lista positiva dei funghi eduli ammessi al consumo e di avere indicazioni circa gli effetti sull'uomo anche di quelli coltivati. Un ultimo aspetto è quello terapeutico, dove un gruppo di questi medici, in collaborazione con Università e I.S.S., provvederà alla sperimentazione di protocolli clinici su particolari specie fungine.

La coltivazione di *Agaricus bisporus* su miscele sperimentali a base di reflui oleari: una prova a livello industriale

Lorenzo Pecoraro, *Roberto Altieri, *Alessandro Esposito, **Francesca Parati, **Lorenzo Montesi, Claudia Perini

Dipartimento di Scienze Ambientali “G. Sarfatti” – Università degli Studi di Siena

Via P. A. Mattioli, 4 – 53100 Siena

**CNR - Istituto per i Sistemi Agricoli e Forestali del Mediterraneo*

Via Madonna Alta, 128 - 06128 Perugia

***Azienda Agricola Valfungo*

Frazione Gricignano, 6 - 52037 Sansepolcro (AR)

Nell'ambito del progetto “Soluzioni alternative allo spandimento in campo dei sottoprodotti dei frantoi” (2005-07), svolto con il contributo finanziario dell'ARSIA Toscana, sono state condotte delle prove sperimentali per valutare la compatibilità di ammendanti organici a base di reflui oleari prodotti con una tecnologia innovativa denominata “MATReFO” (Altieri *et al.*, 2005), nella formulazione di substrati per la coltivazione di funghi eduli.

A seguito degli interessanti risultati sia in termini di resa che di qualità dei basidiomi prodotti, ottenuti nelle sperimentazioni di laboratorio condotte su *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. (Pecoraro *et al.*, in stampa), nel 2007 è stata realizzata una sperimentazione a livello industriale, interessando la specie *Agaricus bisporus* (J.E. Lange) Singer. Le coltivazioni sono state condotte presso le strutture di un'importante azienda del settore, la “Valfungo”, situata a Gricignano, nel Comune di Sansepolcro (Arezzo), seguendo i protocolli di produzione messi a punto dall'azienda nella sua ultra decennale esperienza produttiva, opportunamente adattati alle esigenze sperimentali.

Nello stesso ciclo produttivo sono state messe a confronto due tesi: il substrato sperimentale addizionato con miscela a base di reflui oleari ed il controllo, rappresentato dal substrato standard. Nella prima tesi, la miscela a base di reflui oleari è stata aggiunta al substrato standard in parziale sostituzione della pollina, adattando, di conseguenza, la quantità delle altre fonti azotate in modo da mantenere il rapporto C/N ad un livello ottimale (circa 22). La velocità di crescita del micelio sui diversi substrati, durante la fase di incubazione è stata valutata attraverso prove in piastra, misurando l'accrescimento radiale delle colonie ed è risultata pressoché identica nelle due tesi a confronto. Dall'analisi dei dati quantitativi di produzione, è emerso che la resa media della tesi contenente reflui oleari, riferita alla quantità di substrato impiegato, è stata superiore al controllo del 19,8 %. Anche in termini di efficienza biologica, la resa della tesi sperimentale è stata superiore del 7 % rispetto al substrato standard. Per quanto riguarda la qualità del prodotto, sono stati considerati gli aspetti merceologici della produzione, legati alla forma, pezzatura e assenza di macchie sui carpofori ed è stata anche condotta una prova per valutare il cosiddetto “shelf life”. Poiché al termine della produzione il composto esausto residuo viene in genere impiegato, da aziende specializzate, come materia prima per la formulazione di terricci da florovivaismo, sono state altresì monitorate e confrontate, nel corso della prova, le caratteristiche chimico-fisiche e biologiche dei substrati di coltivazione.

R. Altieri, A. Esposito, G. Fontanazza, 2005. Caratterizzazione chimico-fisica di substrati organici a base di reflui oleari prodotti con una tecnologia innovativa. Atti XXII Convegno SICA, Perugia 21-24 settembre 2004, 279-288.

L. Pecoraro, R. Altieri, A. Esposito, E. Salerni, C. Perini, V. De Dominicis, in stampa. Impiego di substrati sperimentali a base di reflui oleari per la coltivazione di funghi eduli. Micol. Italiana.

Caratterizzazione morfologica e molecolare delle ectomicorrize più comuni in ambienti tartufigeni dell'Emilia Romagna

Mirco Iotti⁽¹⁾, Enrico Lancellotti⁽²⁾, Angelo Macrì⁽¹⁾, Alessandra Zambonelli⁽¹⁾

¹Dipartimento di Protezione Valorizzazione Agroalimentare, Alma Mater Studiorum Università di Bologna, zambonel@agrsci.unibo.it

²Dipartimento di Protezione delle Piante – sezione di Patologia Vegetale, Università di Sassari

La Regione Emilia Romagna è una regione estremamente ricca di tartufi pregiati sia come numero di specie sia come quantità di carpofori raccolti. Nelle medesime aree di sviluppo dei tartufi sono presenti numerose altre specie fungine ectomicorriziche che condividono caratteristiche ecologiche simili. Molti di questi funghi esercitano un'azione competitiva più o meno marcata nei confronti delle specie pregiate di *Tuber* per la colonizzazione degli apparati radicali delle piante ospiti. Altre specie, invece, come ipotizzato da alcuni Autori potrebbero avere una azione sinergica con le micorrize di tartufo favorendone lo sviluppo nel suolo e la fruttificazione.

In questo lavoro sono state caratterizzate morfologicamente e molecolarmente le micorrize più comuni in tartufaie naturali e coltivate dell'Emilia Romagna situate in ambienti diversi e caratterizzate da piante ospiti differenti. La caratterizzazione morfologica è stata effettuata tramite le metodologie descritte da Agerer mentre l'analisi molecolare ha previsto l'amplificazione ed il sequenziamento delle regioni ITS (Internal Transcribed Spacer) del DNA ribosomiale. Le specie fungine ectomicorriziche più comuni appartengono ai generi *Tuber*, *Inocybe*, *Sebacina* e *Tomentella*. Nell'ambito delle ricerche svolte sulle comunità ectomicorriziche delle tartufaie naturali di *Tuber borchii* è stata studiata la distribuzione di alcune di queste specie utilizzando l'analisi canonica delle corrispondenze. In particolare è stata valutata la relazione tra la loro presenza e la distanza dal punto di raccolta degli ascomi, tenendo anche conto dell'influenza dell'ospite vegetale.

Da queste indagini è emerso che *Tuber borchii* e *Tuber dryophylum* pur condividendo i medesimi ambienti di crescita e fruttificando anche in punti estremamente vicini (anche meno di un metro di distanza) occupano nicchie ecologiche nettamente differenti: infatti, non sono mai stati trovati negli stessi campioni. Altri funghi ectomicorrizici, invece, presenti esclusivamente nei punti di raccolta degli ascomi quali *Suillus granulatus*, *Tomentella lapidum* fanno parte di quelle specie che condividono l'habitat di crescita con *Tuber borchii* e che potrebbero favorirne lo sviluppo.

Prime indagini sulle micorrize della vite in Sicilia

Martorana A., Torta L., Burruano S.

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

Nell'ambito di uno studio sulle associazioni micorriziche tra piante coltivate e funghi AM in diversi ambienti siciliani, è stata condotta un'indagine mirata all'accertamento dell'eventuale presenza di tali simbiosi in *Vitis vinifera*. Le osservazioni, avviate nel 2007, sono state effettuate in tre vigneti: due in territorio di Alcamo (TP), rispettivamente in convenzionale e in biologico; uno non coltivato e di modeste dimensioni nel comune di Palermo.

Campioni di radici, prelevati stagionalmente in ciascun vigneto, sono stati sottoposti a tecniche di decolorazione e colorazione (Torta *et al.*, 2003) per l'accertamento e la stima dell'infezione radicale (indice di micorrizzazione IM = % radice colonizzata); contemporaneamente, al fine di valutare l'entità delle popolazioni fungine (n° di spore/g di suolo), da aliquote di micorrizosfera prelevate alla base delle stesse piante sono state estratte spore di funghi AM mediante la metodologia di Jenkins (1964) modificata da Walker *et al.* (1982).

In tutti i campioni radicali è stata rilevata la presenza sia di strutture miceliari endomicorriziche, con valori di IM talvolta prossimi al 100%, che di spore dei generi *Acaulospora*, *Gigaspora*, *Glomus* e *Scutellospora*, la cui identificazione specifica è tuttora in corso. Durante le osservazioni è stata rilevata, inoltre, una contenuta influenza del sistema di coltivazione e dell'andamento stagionale sull'IM e sulla entità delle popolazioni fungine AM.

Confronto tra metodi di campionamento utilizzati nello studio della comunità ectomicorrizica in una sughereta

E. Lancellotti, A. Franceschini, P. Corda

Dipartimento di Protezione delle Piante, sez. Patologia vegetale, Università degli Studi di Sassari, Via E. De Nicola 9, 07100 Sassari. E-mail: lance@uniss.it

Nel definire i disegni sperimentali relativi agli studi sulle comunità ectomicorriziche di popolamenti forestali è fondamentale la scelta del metodo utilizzato per il prelievo dei campioni di suolo da analizzare. In questa nota si riportano i risultati ottenuti applicando due diversi metodi di campionamento in una ricerca effettuata in una sughereta deperente con l'intento di accertare eventuali influenze dello stato sanitario delle piante sulla composizione quali-quantitativa delle comunità ectomicorriziche.

A tal fine, in un'area di saggio individuata in una sughereta situata nel Nord Sardegna, è stata attribuita una classe di deperimento a ciascuna pianta di quercia da sughero presente, utilizzando una scala empirica di valori progressivi compresi tra 0 (pianta sana) e 3 (pianta fortemente deperente). Sono stati confrontati due disegni sperimentali: il primo prevedeva il prelievo con l'ausilio di un carotatore di 8 campioni di suolo ("soil cores"), due per ogni direzione cardinale, rispettivamente a 30 e 60 cm da 5 piante appartenenti a ciascuna delle 4 classi di deperimento; il secondo si basava sul prelievo di cubi di suolo (10x10cm) ("bulk cores") dal centro di 10 transetti rettangolari delimitati da 2 piante appartenenti a ognuna delle 4 classi di deperimento. Da tutti i campioni di suolo sono stati prelevati i frammenti radicali e da ciascuno di essi gli apici micorrizzati che sono stati poi analizzati sotto il profilo morfologico e anatomico.

Dall'esame dei risultati ottenuti con le due metodologie di campionamento si rileva che con il metodo "soil cores" non si può stabilire a priori il numero di apici ectomicorrizici da analizzare; infatti, in alcuni casi i campioni di suolo erano del tutto privi di ectomicorrize. Inoltre, dal confronto delle due curve di rarefazione basate sul campione è emerso che con il metodo "bulk cores" è possibile rilevare un maggior numero di specie fungine.

Per quanto riguarda l'efficienza dei due metodi di campionamento in relazione allo scopo della ricerca, è stato rilevato che il metodo "soil cores" permette di osservare la comunità ectomicorrizica più direttamente legata alle piante di quercia da sughero e, di conseguenza, di valutare meglio l'influenza esercitata dallo stato di salute delle piante. Il metodo "bulk cores", invece, si è dimostrato più efficiente nel mettere in evidenza la biodiversità della comunità, in quanto consente di esaminare sia i simbionti delle piante di sughera, sia quelli delle varie specie arbustive presenti nella sughereta e capaci di formare ectomicorrize.

Le comunità fungine associate ad orchidee fotosintetiche in ambiente prativo e boschivo

Lorenzo Pecoraro, Federica Sirignano, Elena Salerni, Claudia Perini

*Dipartimento di Scienze Ambientali “G. Sarfatti” – Università degli Studi di Siena
Via P. A. Mattioli, 4 – 53100 Siena.*

Nel periodo 2006 - 2007 sono state svolte indagini micologiche, in tre aree protette della Toscana meridionale, caratterizzate da suolo calcareo: Monte Cetona, Monte Penna e Le Cornate di Gerfalco.

Lo studio rientra in un ampio progetto di ricerca intitolato “*Conservazione in situ ed ex-situ di orchidee fotosintetiche spontanee dell’area Mediterranea: impatto dei fattori genetici ed ecologici nelle diverse fitocenosi*”, che coinvolge diversi atenei italiani e che intende affrontare lo studio delle relazioni ecologiche ed evolutive di alcune specie di orchidee di interesse conservazionistico.

Il lavoro da noi svolto punta a fornire una caratterizzazione della compagine fungina presente in zone interessate dalla crescita di orchidee fotosintetiche con lo scopo di approfondire le conoscenze del cosiddetto wood-wide-web (Simard *et al.*, 1997).

Sono state studiate sia stazioni di prateria sommitale, individuate in base alla presenza di orchidee fotosintetiche prative (*Himantoglossum hircinum* L. Spreng. subsp. *adriaticum* (H. Baumann) H. Sund., *Orchis morio* L., *O. pauciflora* Ten., *O. provincialis* Balb., *O. tridentata* Scop. e *Ophrys bertolonii* Mor.), sia stazioni boschive limitrofe a quelle prative, caratterizzate dalla presenza delle orchidee fotosintetiche *Cephalanthera damasonium* (Miller) Druce e *C. longifolia* (Hudson) Fritsch.

Nelle stazioni di studio individuate, è stata condotta un’analisi della comunità fungina above-ground, attraverso indagini micocenologiche, con una valutazione qualitativa e quantitativa dei macromiceti epigei rilevati.

In totale sono state censite 169 specie di macrofunghi appartenenti a 58 generi inclusi nelle divisioni *Basidiomycota* e *Ascomycota*.

La categoria trofica degli ectomicorrizici è rappresentata da 29 *taxa*, tra i quali 8 sono ascrivibili al genere *Russula*. Proprio in questo genere simbionte, rientrano diverse specie che da recenti analisi (Girlanda *et al.*, 2006) sono risultate in grado di associarsi ad orchidee, assumendo un ruolo fondamentale per la loro sopravvivenza.

I risultati delle indagini micocenologiche verranno successivamente confrontati con i dati relativi ad analisi molecolari svolte sulle radici di campioni di orchidee prelevati nelle aree di studio.

M. Girlanda, M.A. Selosse, D. Cafasso, F. Brilli, S. Delfine, R. Fabbian, S. Ghignone, P. Pinelli, R. Segreto, F. Loreto, S. Cozzolino, S. Perotto, 2006. Inefficient photosynthesis in the mediterranean orchid *Limodorum abortivum* is mirrored by specific association to ectomycorrhizal *Russulaceae*. *Molecular Ecology*, 15: 491-504.

S.W. Simard, D.A. Perry, M.D. Jones, D.D. Myrold, D.M. Durall, R. Molina, 1997. Net transfer of carbon between ectomycorrhizal tree species in the field. *Nature*, 388: 579 – 582.

Caratterizzazione delle comunità ectomicorriziche in una pineta percorsa dal fuoco

Erika Buscardo^{1,3,4}, Paolo De Angelis¹, Andrea Vannini², Helena Freitas³, João Santos Pereira⁴,
Anna Maria Vettraino²

¹DISAFRI, Dipartimento di Scienze dell'Ambiente Forestale e delle sue Risorse, Università della Tuscia, Viterbo, ² Dipartimento di Protezione delle Piante, Università della Tuscia, Viterbo, Botany Department, Centre for Functional Ecology, University of Coimbra, Portugal, ⁴Instituto Superior de Agronomia (ISA), School of Agriculture and Forestry, Technical University of Lisbon, Portugal

Tutti i membri della famiglia delle *Pinaceae* instaurano simbiosi mutualistiche con funghi ectomicorrizici ottenendo vantaggi per quanto riguarda l'assorbimento di nutrienti ed acqua, la resistenza alla siccità e la protezione contro agenti patogeni delle radici. La struttura della comunità ectomicorrizica è condizionata sia dal punto qualitativo che quantitativo da fattori ambientali del suolo, sia direttamente che indirettamente attraverso gli effetti sulle piante. Sono altresì fondamentali, la biodiversità microbiologica, la natura degli ospiti e il ripetersi di eventi di disturbo quali ad esempio il fuoco. Scopo del presente studio è stato la caratterizzazione delle comunità ectomicorriziche associate a giovani piante di *Pinus pinaster* Aiton in un bosco naturalizzato in provincia di Imperia. In 9 parcelle caratterizzate dalla presenza di rigenerazione di *Pinus pinaster* variabile in termini di copertura e altezza della rinnovazione sono stati campionati 135 semenzali. Le ectomicorrize sono state identificate in base alle caratteristiche morfologiche principali quali il colore, la struttura della superficie del mantello, i rizomorfi ed il tipo di ramificazione. La diagnosi su base morfologica è stata confermata attraverso l'analisi di sequenza della regione ITS1-5.8S-ITS2 del rDNA utilizzando i primers universali ITS1f e ITS4. La struttura della comunità ectomicorrizica è stata caratterizzata tramite l'uso di indici ecologici quali Shannon, Margalef, Berger-Parker e Evenness. Dai primi risultati ottenuti è chiara la presenza di una sensibile biodiversità delle specie micorriziche sia a livello di singolo semenzale che di sito di studio. L'eventuale associazione fra le comunità fungine riscontrate nelle diverse aree di studio ed il processo di rigenerazione naturale del pino marittimo vengono discusse.

Confronto morfoprodotivo tra isolati di *Pleurotus nebrodensis* e *P. eryngii* var. *ferulae*

Gian Luigi Rana, Daniele Sisto ⁽¹⁾, Giovanni Figliuolo, Stefania Mirela Mang, Teresa De Gioia ⁽¹⁾,
Rosanna Marino

Dipartimento di Biologia, Difesa e Biotecnologie Agro-Forestali, Università degli Studi della Basilicata, via Ateneo lucano, n. 10, 85100 - Potenza (Italia) ; E-mail: rana@unibas.it

⁽¹⁾*Dipartimento di Biologia e Patologia Vegetale, Università degli Studi di Bari, Via G. Amendola, n. 165/A, 70126 - Bari (Italia); E-mail: sistod@agr.uniba.it*

Numerosi isolati di *Pleurotus nebrodensis* ottenuti da basidiomi originari dell'Italia (Sicilia e Puglia) e della Cina (Kawai e Cho) e alcuni isolati di *P. eryngii* var. *ferulae*, raccolti in Puglia, sono stati oggetto di una prova di coltivazione comparativa effettuata in agro di Valenzano (Bari) in ambiente protetto e su substrato standard allo scopo di evidenziarne le principali differenze morfologiche e produttive. Per ogni isolato fungino sono stati registrati i seguenti caratteri quantitativi e qualitativi: precocità di produzione, numero e peso totale di basidiomi per singola busta di substrato del peso di 3 Kg, numero di sporofori con diametro del pileo minore di 3 cm; diametro del cappello, peso dello sporoforo e lunghezza e spessore del gambo, tutti misurati sul basidioma più grande e su quello di dimensioni medie; colore della cuticola del cappello; presenza di eventuali screziature sulla stessa o di disegni a forma di Y sul margine del cappello; colore dell'impronta sporale; forma del cappello; odore e sapore del basidioma fresco; posizione del gambo e sua consistenza; tipo di cuticola del gambo; colore, fittezza e decorrenza delle lamelle; portamento dei basidiomi (cespitoso o, all'opposto, non gregario); margine del pileo (involuta, non involuta, lobato); presenza eventuale di verruche sul pileo; presenza di alterazioni causate da infezioni batteriche, *Cladobotryum dendroides* e/o *Trichoderma viride*. L'analisi statistica è stata svolta con il software SAS-STAT (vers. 9.1) utilizzando l'analisi della varianza prevista per le misure ripetute. Solo alcuni degli isolati saggiati hanno permesso la prima raccolta di basidiomi dopo 20-25 giorni dall'inizio della coltivazione. Il colore della cuticola pileica è risultato bianco-latte o bianco-beige con riflessi rosati in *P. nebrodensis* (rispettivamente, 19 e 16 isolati) e beige con screziature marroncine e/o disegni ad Y sul margine nei pochi isolati di *P. eryngii* var. *ferulae*. Le lamelle dei basidiomi maturi di *P. nebrodensis* sono risultate spesso concolori, variamente decorrenti sul gambo, da spaziate a fitte e, solo raramente, anastomizzate sul gambo (isolati n. 253 e 505). Gli isolati cinesi della stessa specie di *Pleurotus* si sono differenziati da quelli italiani per il portamento non cespitoso, la forma a ventaglio o ad orecchio del cappello, la mancanza di precocità ed il minor numero di basidiomi prodotti per busta di substrato. Gli isolati mediamente più produttivi di *P. nebrodensis* sono risultati sette: n. 434, 435, 442 e 508 di provenienza pugliese, due cinesi (n. 535 e 537) e uno (n. 201) di origine ignota. Le produzioni più elevate (> 1Kg) per singola busta di substrato sono state registrate per gli isolati n. 441, 201, 253 e lo stesso 435. Una particolare menzione meritano gli isolati n. 446, 435 (quest'ultimo caratterizzato da un retrogusto leggermente amarognolo-piccantino della carne), 434 e 508, tra quelli italiani ed il cinese n. 537, che sono risultati molto interessanti, perché hanno prodotto il 75-90% dei basidiomi nella prima volata, superando in peso complessivo l'isolato commerciale n. 415. Le analisi molecolari hanno dimostrato che gli isolati di *P. nebrodensis* sono filogeneticamente differenziati da quelli di *P. eryngii* var. *ferulae*.

Selezione di ceppi fungini potenziali biodegradatori di idrocarburi

Solveig Tosi, Marinella Rodolfi, Anna Maria Picco

Sezione di Micologia, Dipartimento di Ecologia del Territorio, Università di Pavia, via S. Epifanio 14, 27100 Pavia; solveig.tosi@unipv.it

Una quantità pari a circa 6 milioni di tonnellate di rifiuti della lavorazione del petrolio entrano ogni anno nell'ambiente, causando seri problemi ambientali. Nell'Europa Occidentale sono stati individuati oltre 300.000 siti contaminati. Per molti paesi non è disponibile un quadro completo, anche per la mancanza di definizioni univoche. In Italia i siti potenzialmente contaminati sono oltre 12.000 (APAT, 2003 - Annuario dei dati ambientali).

Dall'elaborazione delle informazioni riportate nel Programma Nazionale di bonifica e ripristino ambientale del 2001 si desume che gli idrocarburi di origine petrolifera sono tra i contaminanti maggiormente presenti, insieme all'amianto e ai metalli pesanti. Altri contaminanti frequentemente riscontrabili nei Siti di Interesse Nazionale sono solventi organici, fertilizzanti e pesticidi, PCB, BTEX e diossine (PCDD/PCDF e PCB dioxin-like). Le enormi quantità di idrocarburi introdotte nell'ecosistema dall'attività umana eccedono la capacità autodepurativa dell'ambiente e la contaminazione da idrocarburi è spesso causa di disastri ambientali. Un metodo tradizionale di risanamento è l'escavazione del terreno contaminato con successiva destinazione in discarica sotto condizioni controllate. Negli ultimi decenni sono state proposte tecniche alternative che prevedono un processo di biorisanamento in cui gli idrocarburi vengono degradati da microrganismi del suolo autoctoni o alloctoni in condizioni *ex-situ* o *in-situ*. Per tali tecniche è fondamentale l'individuazione di consorzi fungini e batterici che posseggono batterie enzimatiche capaci di biodegradare tali composti.

In questo lavoro, 30 ceppi isolati da diversi suoli provenienti da siti italiani contaminati da idrocarburi sono stati sottoposti a processi di screening per selezionare gli isolati più promettenti da destinarsi all'ambito delle pratiche di biorisanamento. La selezione è avvenuta mediante l'utilizzo di terreno minerale arricchito all'1% con olio combustibile "uso industria" (B.T.Z.) quale unica fonte di carbonio. Ulteriori prove sono state allestite per valutare la capacità di crescita sulla componente volatile del combustibile usato. Più della metà dei ceppi testati è cresciuta sul terreno arricchito e circa 1/3 non ha mostrato differenze significative rispetto alla crescita su classici terreni nutritivi (Potato Dextrose Agar). I ceppi che hanno mostrato la crescita migliore sui terreni arricchiti appartengono alle specie *Aspergillus versicolor*, *Fusarium sporotrichioides*, *Gliomastix cerealis*, *Paecilomyces aeruginus*, *Penicillium chrysogenum*, *P. griseoroseum*, *P. pinophilum*, *Trichoderma atroviride*. Molte delle specie descritte sono già note in letteratura per essere in grado di degradare diverse molecole recalcitranti e produrre metaboliti secondari di alto interesse industriale. Una percentuale non trascurabile dei ceppi testati ha dimostrato la capacità di crescere anche solo sulla componente volatile del combustibile usato, sulla quale è previsto lo sviluppo di un'indagine mirata.

Impatto di “bioaugmentation” a fini di risanamento sulle comunità fungine telluriche residenti: uno studio in campo

A. Lazzari, S. Perotto, M. Girlanda

Dipartimento di Biologia vegetale, Università di Torino, Viale P.A. Mattioli 25, 10125 Torino

In virtù della loro considerevole diversità genetica, versatilità metabolica e capacità di colonizzazione attiva del suolo, i funghi miceliari rappresentano interessanti candidati per il biorisanamento di suoli contaminati (Tortella et al. 2005). Esperimenti di laboratorio hanno indicato come la “bioaugmentation” attraverso reintroduzione di ceppi indigeni, naturalmente adattati all’ambiente locale, rappresenti una strategia promettente per la bonifica di terreni con inquinamento di vecchia data (vd ad es. Potin et al. 2004, Atagana et al. 2006, D’Annibale et al. 2006). L’introduzione massiva di un inoculo fungino può tuttavia alterare in modo marcato le comunità microbiche residenti (Federici et al. 2007).

Abbiamo indagato l’impatto di interventi di “bioaugmentation” di funghi indigeni sulle micocenosi di suoli contaminati, in condizioni di campo. All’interno di un’area industriale dismessa con una storia quarantennale di inquinamento da contaminanti organici ed inorganici (idrocarburi alifatici ed aromatici e loro derivati, metalli pesanti) sono state allestite parcelle sperimentali in cui sono state introdotte ca. 230 talee di pioppo (*Populus nigra*). Le piante sono state inoculate, a ca. 50 cm di profondità, con ceppi di *Paecilomyces lilacinus*, *Penicillium pinophilum*, *Pen. canescens* e *Pen. restrictum* in precedenza isolati dallo stesso terreno. Il reisolamento in coltura a tempi scalari ha consentito di definire le dinamiche delle specie fungine reintrodotte. L’arricchimento in tali specie ha determinato significativi abbattimenti dei tenori tellurici sia di metalli pesanti sia dell’inquinante organico nonilfenolo, particolarmente abbondante nell’area in esame. Tali abbattimenti sono stati osservati essere costantemente correlati all’incremento del numero di CFU di funghi indigeni appartenenti a specie differenti da quelle dell’inoculo. Gli effetti della “bioaugmentation” sulla biodiversità delle micocenosi residenti sono stati indagati attraverso un approccio metagenomico, coltura-indipendente. L’estrazione diretta del DNA da campioni di suolo nativo, sottoposto a “bioaugmentation”, all’introduzione di sola crusca (utilizzata per la preparazione dell’inoculo fungino), o non inoculato nè ammendato (controllo), seguita da amplificazione tramite le coppie di primers ITS1F/ITS2 e ITS3/ITS4 e sequenziamento mediante tecnica 454, ha consentito l’analisi di oltre 15.000 sequenze fungine.

Bibliografia citata

- Atagana, H.I., Haynes, R.J., Wallis, F.M., 2006. Fungal bioremediation of creosote-contaminated soil: A laboratory scale bioremediation study using indigenous soil fungi. *Water, Air, and Soil Pollution* 172, 201-219
- D’Annibale, A., Rosetto, F., Leonardi, V., Federici, F., Petruccioli, M., 2006. Role of autochthonous filamentous fungi in bioremediation of a soil historically contaminated with aromatic hydrocarbons. *Applied Environmental Microbiology* 72, 28-36
- Federici, E., Leonardi, V., Giubilei, M.A., Quarantino, D., Spaccapelo, R., D’Annibale, A., Petruccioli, M., 2007. Addition of allochthonous fungi to a historically contaminated soil affects both remediation efficiency and bacterial diversity. *Applied Microbiology & Biotechnology* 77 (1), 203-211
- Potin, O., Rafin, C., Veignie, E., 2004. Bioremediation of an aged polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)-contaminated soil by filamentous fungi isolated from the soil. *International Biodeterioration & Biodegradation* 54, 45-52
- Tortella, G.R., Diez, M.C., Duran, N., 2005. Fungal diversity and use in decomposition of environmental pollutants. *Critical Reviews in Microbiology* 31, 197-212

Funghi e loro enzimi per il biorisanamento di reflui colorati dell'industria tessile e conciaria

Antonella Anastasi, Federica Spina, Valeria Prigione, Valeria Tigini, Giovanna Cristina Varese

*Dipartimento di Biologia Vegetale, Università degli Studi di Torino,
viale Mattioli, 25, 10125 - Torino*

Le biotrasformazioni catalizzate da enzimi fungini trovano un vasto impiego nell'industria alimentare, farmaceutica, chimica e tessile e hanno destato negli ultimi anni un crescente interesse per l'applicazione nel biorisanamento di suoli e reflui industriali contaminati con diversi inquinanti. Molti sforzi sono oggi rivolti alla selezione di nuove fonti di enzimi per un impiego industriale e allo studio dei meccanismi utili per adattare questi biocatalizzatori a nuove applicazioni. Secondo il consorzio svizzero delle industrie produttrici di enzimi (Swiss Industrial Biocatalysis Consortium), cui afferiscono importanti aziende quali Ciba, Fluka, Lonza, Novartis, Roche, gli enzimi ossidativi sono probabilmente i biocatalizzatori che vedranno nella prossima decade il maggiore sviluppo applicativo. Enzimi ossidoreduztasici quali diverse perossidasi e laccasi sono importanti classi di enzimi espressi dai funghi, in particolare da funghi ligninolitici classificati tra i basidiomiceti; recentemente, anche i funghi mitosporici sono stati investigati per la produzione di tali enzimi.

Tuttavia, fino ad oggi, l'applicazione delle ossidoreduztasi nei processi biotecnologici è risultata in larga misura limitata a causa sia degli elevati costi di produzione, sia dell'instabilità degli enzimi durante le condizioni chimico-fisiche estreme spesso presenti nei bioprocessi, in relazione in particolare a pH, salinità, temperatura e presenza di solventi organici. Ad esempio, laccasi e perossidasi fungine che, in condizioni colturali standard, si sono dimostrate efficaci nella degradazione di coloranti tessili, quando poste a contatto con reflui industriali, reali o simulati, caratterizzati da valori elevati di pH e concentrazione salina, sono risultate in molti casi inattive o scarsamente efficaci.

L'ottenimento di enzimi stabili e/o attivi in condizioni ambientali estreme è, quindi, un aspetto cruciale per l'applicazione in campo biotecnologico e può essere raggiunto tramite due diversi approcci: da un lato, la trasformazione genica degli organismi, dall'altro la selezione di organismi estremofili naturalmente adattati agli ambienti estremi, e quindi dotati di catalizzatori caratterizzati da stabilità e *optimum* di attività a valori di pH, temperatura, concentrazioni saline estreme e, in alcuni casi, simili a quelle presenti durante diversi processi biotecnologici.

Questo lavoro ha come scopo lo studio e la caratterizzazione di nuovi enzimi ossidoreduztasici fungini, con particolare attenzione a enzimi prodotti da organismi isolati da ambienti estremi e/o habitat specifici, quali compost, suoli inquinati, ambienti marini; l'obiettivo principale è la selezione di nuovi biocatalizzatori con caratteristiche utili di stabilità e robustezza per una possibile applicazione nel trattamento di reflui industriali complessi, contenenti un insieme di composti tossici, in particolare coloranti tessili.

La prima fase del progetto ha previsto uno *screening* di ceppi fungini, riconducibili sia ai basidiomiceti sia ai funghi mitosporici, provenienti da ambienti estremi per almeno un parametro tra pH, temperatura, salinità, elevate concentrazioni di inquinanti e conservati presso la collezione del Dipartimento di Biologia Vegetale *Mycotheca Universitatis Taurinensis* (MUT). I funghi sono stati inoculati su terreno colturale solido in presenza e assenza di 13 diversi coloranti sintetici impiegati nell'industria tessile e conciaria (alla concentrazione di 500 ppm) al fine di individuare i ceppi più promettenti per la capacità di crescere in presenza di elevate concentrazioni di coloranti e di produrre enzimi ossidoreduztasici efficaci nella degradazione di queste molecole. La prova è stata condotta impiegando diversi terreni colturali caratterizzati da un diverso rapporto C/N che, come è noto dalla letteratura, è un parametro che può fortemente influenzare la liberazione di enzimi da parte dei funghi e, quindi, la loro capacità di degradazione.

I migliori ceppi selezionati dallo *screening* sono stati indagati in maniera più approfondita per la capacità di degradare gli stessi coloranti miscelati insieme a costituire 4 diversi reflui che, per concentrazione di coloranti e sali, sono rappresentativi di reflui dell'industria tessile e conciaria. I risultati di questa seconda fase mettono in luce le interessanti potenzialità di questi organismi e dei loro enzimi per il trattamento di reflui industriali: in alcuni casi, il fungo ha determinato la sostanziale decolorazione del refluo in presenza di elevate concentrazioni di coloranti e sali. Prove ecotossicologiche permetteranno di verificare se, all'abbattimento del colore, corrisponda una riduzione della tossicità del refluo.

***Cunninghamella elegans* Lendner, una promettente alternativa ai metodi convenzionali per la rimozione di coloranti e metalli pesanti da reflui industriali**

Valeria Prigione, Valeria Tigini, Antonella Anastasi, Giovanna Cristina Varese

*Dipartimento di Biologia Vegetale, Università degli Studi di Torino,
viale Mattioli, 25, 10125 - Torino*

La tutela della salute dei corpi idrici è attualmente uno dei principali argomenti di discussione e di regolamentazione presso la Comunità Europea, in virtù della crescente consapevolezza che l'acqua diventerà in futuro un bene sempre più prezioso. La depurazione delle acque rappresenta, dal punto di vista economico e sociale, un aspetto ambientale rilevante per numerosi settori dell'industria. Tra gli inquinanti più comuni vi sono coloranti, metalli pesanti, pesticidi, composti fenolici, tensioattivi, cloruri, solfati, ecc. I reflui industriali sono, in realtà, sistemi estremamente eterogenei e complessi poiché, nella maggior parte dei casi, contengono, contemporaneamente, una grande varietà di composti xenobiotici che possono tra loro interagire, con una conseguente variazione delle caratteristiche chimico-fisiche del refluo; inoltre, possono essere presenti ligandi di natura sia organica, sia inorganica, che danno origine a fenomeni di complessazione.

I trattamenti chimico-fisici tradizionalmente impiegati per la rimozione dai reflui industriali di inquinanti quali coloranti e metalli pesanti non danno sempre buoni risultati e risultano piuttosto costosi, comportando un dispendio energetico elevato. Essi, inoltre, possono richiedere l'impiego di reagenti chimici tossici, a loro volta dannosi per l'uomo e per l'ambiente. Il biorisanamento, una branca delle biotecnologie ambientali in notevole espansione, è considerato un'alternativa interessante, di basso costo e di basso impatto ambientale.

Il biorisanamento si può attuare attraverso diversi meccanismi. In alcuni casi si sfrutta il potenziale degradativo di microrganismi, soprattutto batteri e funghi, per convertire i contaminanti organici in composti meno tossici (biodegradazione) e per ottenere la loro mineralizzazione. Un altro aspetto del biorisanamento è il bioassorbimento; esso consiste nella possibilità, da parte di alcuni organismi, di concentrare sostanze tossiche in differenti distretti cellulari, in assenza di trasformazioni metaboliche.

Alcuni funghi, grazie alle particolari caratteristiche chimiche e strutturali della parete cellulare, sono in grado di assorbire sostanze tossiche di varia natura, come ad esempio coloranti o metalli pesanti, presenti nei reflui di vari tipi di industrie, soprattutto tessili e conciari, in molti casi con rese di rimozione maggiori rispetto alle convenzionali metodologie fisiche e chimiche. I meccanismi che regolano l'assorbimento dell'inquinante da parte della biomassa sono ancora poco conosciuti e sembrano variare, sia in funzione della struttura chimica del colorante, sia in funzione della specifica composizione chimica e strutturale della biomassa utilizzata.

I principali vantaggi del bioassorbimento sono l'elevata selettività ed efficacia, la buona velocità di trattamento anche di grandi quantità di reflui e la possibilità di recuperare la biomassa per un eventuale reimpiego; inoltre esso può essere condotto anche con biomasse inattivate, non richiedendo, in questo modo, il controllo di parametri necessari per mantenere le condizioni ottimali per la crescita e l'attività dell'organismo vivo. Tra i diversi tipi di biomassa studiati per il bioassorbimento, le biomasse fungine si sono rivelate particolarmente promettenti, anche se i meccanismi che regolano l'assorbimento non sono ancora stati perfettamente chiariti. Un ulteriore vantaggio, nell'ottica di uno sviluppo sostenibile, è rappresentato dalla possibilità di impiegare biomasse fungine di scarto, provenienti da processi fermentativi industriali, altrimenti destinate allo smaltimento. Fino ad ora, gli studi di bioassorbimento sono stati condotti quasi esclusivamente utilizzando soluzioni sintetiche acquose di coloranti singoli o metalli pesanti.

Nel corso degli ultimi anni, presso la *Mycotheca Universitatis Turinensis* (MUT) del Dipartimento di Biologia Vegetale, è stato condotto un ampio screening con l'intento di individuare isolati fungini dotati di spiccate capacità bioassorbenti. In particolare, lo zigomicete *Cunninghamella elegans* (MUT 2861) è stato selezionato e studiato nel dettaglio al fine di valutarne la capacità di assorbimento nei confronti di coloranti tessili industriali, mediante esperimenti in batch con reflui simulati che per composizione, pH, forza ionica possono essere considerati rappresentativi di reflui reali impiegati per la tintura di lana e cotone. La biomassa di *C. elegans* è stata coltivata impiegando due differenti colturali, inattivata e sottoposta a trattamenti chimici e fisici, nel tentativo di migliorare le rese di bioassorbimento. Oltre alla percentuale di decolorazione e alla capacità di assorbimento (intesa come mg di colorante assorbito per g di peso secco di biomassa), a fine trattamento, sono stati misurati il COD e la tossicità dei reflui. Inoltre, è stata valutata la capacità di *C. elegans* di rimuovere Cr(III) da un reale refluo conciario.

I buoni risultati ottenuti (fino al 100% di colorante rimosso e fino al 40% di Cr(III) rimosso) mettono in evidenza le grandi potenzialità di *C. elegans* per il trattamento di reflui industriali contaminati da coloranti e metalli pesanti. La misura del COD e della tossicità dei reflui al termine del trattamento di bioassorbimento dimostrano, inoltre, che alla decolorazione dei reflui corrisponde un'effettiva diminuzione della tossicità.

Analisi micologica delle pitture murali e della balconata lignea della cappella del Palazz di Campodolcino

Maria Guglielminetti, Chiara Buratti

Sezione di Micologia, Dipartimento di Ecologia del Territorio, Università degli Studi di Pavia

Gli affreschi possono essere soggetti ad estesi attacchi fungini grazie alla presenza della pellicola pittorica che può contenere sostanze organiche. Nell'antichità, infatti, i vari colori erano ottenuti da composti vegetali o animali quali, ad esempio, il tuorlo dell'uovo per utilizzato per ottenere il colore giallo. Naturalmente anche le condizioni ambientali possono influenzare un eventuale attacco microbico: elevata umidità e temperature medie elevate (20C°) favoriscono la crescita dei funghi.

Per quanto riguarda i manufatti lignei entrano in gioco, nel biodegrado da parte di funghi, complessi enzimatici extracellulari che possono degradare sia la parte di cellulosa ed emicellulose contenute nel legno sia la lignina stessa, innescando processi di carie (o marciume).

Il presente lavoro riferisce i risultati relativi ad un'indagine micologica eseguita sulle Pitture Murali e sulla Balconata Lignea della Cappella del Palazz di Campodolcino (SO).

Sono stati eseguiti quattro campionamenti mediante la tecnica del tampone sterile ed un test *in vitro* per valutare l'attività di 4 biocidi usati nel restauro su 8 ceppi isolati, appartenenti ai generi *Penicillium*, *Cladosporium*, *Ulocladium*, *Aspergillus* e *Chaetomium*. Tre biocidi sono risultati avere una buona attività contro gli otto i ceppi testati, mentre il quarto, usato normalmente come antitarlo, è risultato completamente inefficace.

Il primo campionamento (maggio 2005), è stato effettuato prima dell'inizio dei lavori di restauro, sia sull'affresco sia sulla balconata, allo scopo di rilevare eventuali attacchi fungini in atto.

I risultati di tale campionamento hanno messo in evidenza che le problematiche fungine erano a carico della balconata e non dell'affresco, avendo isolato in alcuni punti della stessa un elevato numero di ceppi fungini, appartenenti alla divisione degli Ascomiceti e al gruppo dei funghi Mitosporici. Gli studi successivi si sono incentrati quindi sul quel manufatto con lo scopo di ottenere dati utili ai fini di un restauro che potesse risanare la situazione anche da un punto di vista microbiologico, per evitare nel futuro problematiche inerenti il marciume.

Il quarto ed ultimo campionamento è stato effettuato il 19/10/2006, a restauro ultimato, come controllo degli effetti del trattamento con il biocida scelto. L'analisi micologica ha confermato la durata dell'attività del biocida scelto, avendo riscontrato una carica fungina bassa o nulla nella maggior parte dei punti campionati.

Colonizzazione microbica di tele di dipinti antichi, sottoposte all'opera di restauro e consolidamento

Matteo Montanari¹, Monica Recchia², Mirco Iotti¹, Gloria Innocenti¹

¹*Alma Mater Studiorum-Università di Bologna, Dipartimento di Protezione e Valorizzazione Agroalimentare, Via Fanin 46, 40127, Bologna, Italia.*

²*Cesmar7-Centro per lo Studio dei Materiali per il Restauro, Via Mentana 5, 37128, Verona, Italia.*

Nell'ambito del restauro di dipinti antichi, l'opera di consolidamento della tela di supporto prevede l'utilizzo di diversi tipi di sostanze organiche od inorganiche, sintetiche o naturali, che, in determinate situazioni ambientali, possono favorire nel tempo lo sviluppo di microrganismi, innescando un rapido biodeterioramento dell'opera d'arte.

Utilizzando campioni di tela di dipinti del XVIII secolo, trattati o meno con prodotti consolidanti, si è valutata la dinamica di colonizzazione microbica (fungina e batterica), in seguito a contaminazione microbica artificiale, in condizioni controllate di laboratorio.

La contaminazione è stata effettuata con una tecnica standard che prevede l'impiego di estratto di terreno da giardino inoculato con quattro ceppi fungini (due *Penicillium*, un *Aspergillus* e un *Cladosporium*), precedentemente isolati dalla tela di un dipinto dell'ottocento, che mostrava gravi segni di biodeterioramento, e selezionati in base alla loro capacità cellulosolitica. I funghi utilizzati sono stati previamente identificati mediante amplificazione della regione ITS e osservazione microscopica dei caratteri morfologici delle colonie.

La dinamica di popolazione microbica è stata valutata nell'arco di tre settimane, utilizzando la tecnica del conteggio delle unità formanti colonia, in seguito a sonicazione controllata per un efficace estrazione dei microrganismi dalla tela.

Osservazioni preliminari sulle alterazioni delle eritrine di Foro Umberto I (PA) e funghi associati

Leone V., Torta L., Burruano S.

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

Dagli inizi dell'800, *Erythrina viarum* Tod., è stata impiegata come essenza da alberatura stradale o elemento di "arredo" in ville e parchi, pubblici e privati della città di Palermo.

Recentemente, su alcuni di questi alberi plurisecolari presenti nel viale Foro Umberto I, si segnala un progressivo deperimento a carico della chioma, dei rami principali e del tronco. Si è ritenuto, opportuno, quindi, indagare sullo stato vegetativo degli esemplari (57), da maggio 2004 a giugno 2008, valutando sia l'entità del deperimento, che la presenza di eventuali microrganismi fungini associati ai vari sintomi rilevati.

La maggior parte degli esemplari censiti, distinti in giovani e maturi in base alle loro dimensioni e al loro aspetto vegetativo, mostrava, al primo rilievo, un evidente deperimento che si è gradualmente aggravato nel corso delle indagini, due esemplari sono del tutto disseccati, mentre in pochi casi è stato rilevato un miglioramento vegetativo. Le analisi di laboratorio hanno consentito di evidenziare una notevole biodiversità nell'ambito delle colonie fungine isolate. In particolare, tra i generi più interessanti dal punto di vista fitopatologico, si segnalano ceppi di *Phoma*, *Fusarium*, *Verticillium*, *Dothiorella* e *Diplodia*, associati soprattutto a disseccamento dei rami.

Per accertare la natura infettiva di alcuni dei funghi isolati, sono, attualmente, in corso saggi di patogenicità su piante sane.

Microfunghi non dermatofiti in patologie ungueali

Mirca Zotti*, Gianfranco Barabino^{°°}, Mauro Giorgio Mariotti*, Agostino Persi[°]

* *Università degli Studi di Genova, Dipartimento per lo Studio del Territorio e delle sue Risorse (Dip. Te.Ris.), Polo Botanico, Corso Dogali 1M, 16136 Genova (Italia); e-mail: milla@klaat.com.dist.unige.it; m.mariotti@unige.it;*

[°] *Università degli Studi di Genova, Dipartimento di Scienze della Salute, Sezione di Dermatologia Sociale. Viale Benedetto XV, 7, 16132 Genova (Italia); e-mail: agostino.persi@unige.it*

^{°°} *U.O. Dermatologia Sociale. Azienda Ospedaliera Ospedale San Martino e Cliniche Universitarie Convenzionate. Largo Rosanna Benzi, 10. 16132 Genova.*

Le onicomicosi rappresentano una delle più frequenti patologie ungueali e nella loro genesi sono sempre più spesso coinvolti agenti fungini non appartenenti al gruppo dei dermatofiti. I microfunghi che si riscontrano sono generalmente dei saprotrofi, termotolleranti o termofili, comunemente presenti nel suolo, su materiale organico in decomposizione, nell'aria ecc., nella maggior parte dei casi però sono specie la cui identificazione richiede procedure difficili da applicare nella routine di un laboratorio ospedaliero. Lo scopo di questo studio è quello di identificare le specie di microfunghi isolati nel corso degli ultimi due anni nel laboratorio di micologia della sezione di dermatologia sociale dell'università di Genova. Sono stati inclusi nello studio solo pazienti che non presentavano patologie concomitanti e che rispettavano i seguenti criteri di selezione: esame diretto positivo, ceppo isolato in coltura pura, coltura ripetuta due volte con lo stesso risultato. Per identificare i ceppi, in alcuni casi, sono state utilizzate oltre alle usuali tecniche micologiche anche l'analisi del DNA. I generi isolati in ordine di frequenza sono i seguenti: *Aspergillus* (oltre 10 specie), *Scopulariopsis* (2 specie) *Acremonium* (2 specie) *Paecilomyces* (1 specie). I risultati ottenuti sottolineano, in particolare, l'aumento delle specie di *Aspergillus* coinvolte nella patologia ungueale e consentono di prevedere ulteriori difficoltà nella gestione delle onicomicosi sia dal punto di vista diagnostico che terapeutico.

Esperimento LIFE-ESA: funghi antartici e licheni nello spazio

Onofri S., Selbmann L., Isola D., Zucconi L.

*Università degli Studi della Tuscia, Dipartimento di Ecologia e Sviluppo Economico Sostenibile,
Largo dell'Università snc, 01100 Viterbo*

Le Valli Secche di McMurdo, l'area priva di ghiacci più estesa dell'Antartide continentale, sono caratterizzate da condizioni ambientali particolarmente stressanti che le rendono l'ambiente terrestre deglaciato più ostile al mondo. La forma di vita dominante è qui rappresentata dalle comunità criptoendolitiche "dominate dal lichene" (Friedmann, 1982), costituite da funghi e alghe lichenizzati, funghi neri meristemati, batteri, cianobatteri e alghe non lichenizzate, che colonizzano l'interno di rocce porose. Tra i componenti di queste micro-comunità vi sono i funghi neri meristemati che, grazie a peculiari caratteristiche morfo-fisiologiche (Sterflinger, 2005; Selbmann *et al.*, 2005), mostrano una elevata resistenza a vari stress ambientali quali l'elevato irraggiamento UV ed il disseccamento (Onofri *et al.*, 2007). Queste loro caratteristiche ne hanno suggerito l'uso come modello per studi di esobiologia (Onofri *et al.*, 2004).

Da una collaborazione tra Italia, Germania e Spagna, nell'ambito di Expose-EUTEF dell'ESA, nasce l'esperimento LIFE (Lichens and Fungi Experiment) volto a saggiare la resistenza a lungo termine (1,5 anni) di organismi criptoendolitici antartici e di licheni epilittici, esponendoli sulla Stazione Spaziale Internazionale (ISS) a condizioni spaziali esterne reali e marziane simulate. Due specie di licheni epilittici, *Rhizocarpon geographicum* (L.) DC. e *Xanthoria elegans* (Link) Th.Fr., hanno già dimostrato, nell'ambito dell'esperimento BIOPAN 2006, di sopravvivere dopo 16 gg di esposizione nello spazio (Sancho *et al.*, 2007). Risulta quindi di estremo interesse verificare le conseguenze su tali organismi di tempi più lunghi di permanenza nello spazio.

Un requisito richiesto per l'invio nello spazio dei funghi neri meristemati antartici, è stato la sopravvivenza a un set di esperimenti di simulazione (Experiment Verification Tests, EVT) di condizioni spaziali e marziane, condotti presso il German Aerospace Center (DLR) di Colonia (D). Qui frammenti di talli lichenici, di rocce antartiche colonizzate da comunità criptoendolitiche, funghi neri meristemati (due isolati di *Cryomyces antarcticus* ed uno di *C. minteri*), ed il micobionte di *X. elegans* sono stati sottoposti a condizioni spaziali e marziane simulate.

La vitalità è stata in seguito verificata con metodi colturali e colorimetrici. Tra i funghi meristemati, un isolato di *C. minteri* è risultato essere il più resistente. I frammenti di roccia colonizzata hanno dato risultati positivi per la maggioranza delle condizioni applicate, risultando vitali ai test colturali: funghi, alghe, batteri della comunità criptoendolitica (Onofri *et al.*, 2008). Gli EVT hanno permesso di identificare i campioni più idonei da sottoporre all'esperimento nello spazio ed effettuare delle prime ipotesi sulla loro capacità di resistere a condizioni extraterrestri. I campioni, installati sulla piattaforma EXPOSE realizzata dall'ESA come componente del laboratorio spaziale Columbus, sono partiti il 7 febbraio 2008 da Cape Canaveral con lo Space Shuttle Atlantis e sono ora sulla stazione Spaziale Internazionale. Il rientro dei campioni è previsto per la fine del 2009; la loro eventuale sopravvivenza potrebbe fornire un contributo a favore dell'ipotesi di trasferimento interplanetario di forme di vita mediante meteoriti (litopanspermia).

Bibliografia

- Friedmann E.I., 1982. *Science* 215: 1045-1053.
- Onofri S., Selbmann L., Zucconi L., Pagano S., 2004. *Planet. Space Sci.* 52: 229-237.
- Onofri S., Zucconi L., Selbmann L., de Hoog G. S., Barreca D., Ruisi S., Grube M., 2007. In: Cockell C.S. & Horneck G. (ed.), *Response of Organisms to the Martian Environment*, ESA Communications, ESTEC, Noordwijk, The Netherlands: 73-86.
- Onofri S., Barreca D., Selbmann L., Isola D., Rabbow E., Horneck G., de Vera J.P.P., Hatton J., Zucconi L., 2008. Resistance of Antarctic black fungi and cryptoendolithic communities to simulated space and Mars conditions. *Stud. Mycol.* (in pubblicazione).
- Sancho L.G., de la Torre R., Horneck G., Ascaso C., de los Rios A., Pintado A., Wierchos J., Schuster M., 2007. *Astrobiol.* 7(3): 443-454.
- Selbmann L., de Hoog G.S., Mazzaglia A., Friedmann E.I., Onofri S., 2005. *Stud. Mycol.* 51: 1-32.
- Sterflinger K., 2005. In: Rosa C., Gabor P. (eds), *Yeast handbook: biodiversity and ecophysiology of yeast*. New York, Springer: 505-518.

Microrganismi fungini isolati da alterazioni e morie di *Rhynchophorus ferrugineus*

Torta L., Leone V., Burruano S.

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

Il punteruolo rosso delle palme (*Rhynchophorus ferrugineus* Olivier), attualmente in crescente espansione negli ambienti mediterranei, non è facilmente controllabile per la peculiare ubicazione delle larve nell'ospite. Tra i vari mezzi di difesa, l'endoterapia e il biocontrollo rappresentano strategie alternative in grado di contenere l'attività del parassita e consentire la ripresa vegetativa delle piante compromesse.

Nell'ambito di uno studio sui limitatori biologici delle popolazioni del fitofago, è stata avviata un'indagine sull'isolamento e la selezione di microrganismi fungini attivi.

Allo scopo, uova, larve e adulti di *R. ferrugineus* con evidenti alterazioni morfologiche (imbrunimenti, torpidità, rigonfiamento o mummificazione, ecc.) e ricoperti, a volte, da efflorescenza fungina sono state prelevati da palme abbattute nel comune di Palermo e da allevamenti in laboratorio. Dai campioni in studio, sottoposti a tecniche di isolamento diretto e indiretto, sono stati frequentemente isolati ceppi di *Beauveria bassiana*, *Metarrhizium* sp., *Fusarium* spp., *Trichotecium* sp., vari aspergilli e penicilli, noti entomopatogeni.

Un ceppo selvaggio di *B. bassiana*, a tal proposito, ha costantemente mostrato una elevata attività antagonistica nei confronti di tutti gli stadi larvali e degli adulti di *R. ferrugineus*.

Interazione collemboli- funghi fitopatogeni- funghi AM: risultati preliminari

Gloria Innocenti (1), Maria Agnese Sabatini (2), Sonia Ganassi (2), Matteo Montanari (2) Maria Barbara Branzanti (3)

(1) *Dipartimento di Protezione Valorizzazione Agroalimentare, Alma Mater Studiorum Università di Bologna, innocent@agrsci.unibo.it*

(2) *Dipartimento di Biologia Animale, Università di Modena e Reggio Emilia*

(3) *Dipartimento di Scienze Ambientali e delle Produzioni Vegetali, Università Politecnica delle Marche, Ancona.*

Il terreno è un serbatoio di organismi che interagiscono fra di loro. Tali interazioni sono molto importanti per lo sviluppo delle piante e per il loro stato sanitario. I collemboli rappresentano una componente importante degli animali del suolo; sono prevalentemente fungivori e si nutrono oltre che dei funghi, della sostanza organica su cui i propaguli fungini si trovano. Fra i funghi del suolo, i collemboli interagiscono sia con i funghi fitopatogeni, sia con quelli micorrizici arbuscolari. Numerosi studi hanno esaminato l'interazione collemboli-funghi fitopatogeni, la maggior parte dei lavori ha evidenziato un effetto di contenimento da parte degli animali dell'attività parassitaria dei funghi patogeni. Meno studiata è l'interazione collemboli- funghi micorrizici arbuscolari (AM).

Nel presente studio è stato valutato l'effetto dell'interazione del collembolo *Protaphorura armata* (Pa), del fungo patogeno *Fusarium culmorum* (Fc) e del fungo AM *Glomus intraradices* (Gi) su piante di frumento duro cv Cresco in prove svolte in vasi di Leonard di plastica posti in ambiente controllato. In ogni vaso (1,5 l) sono stati posti 400 g di substrato costituito da terreno di campo sterile + sabbia di fiume sterile + torba sterile (1:1:0,5 vol:vol:vol), cui è stato aggiunto, quando previsto, l'inoculo commerciale di *G. intraradices* (1% peso). In ogni vaso sono stati trapiantati sei semenzali di frumento. Dopo 4 settimane è stato eseguito il controllo della micorrizzazione, quindi sono stati aggiunti al substrato di crescita delle piante l'inoculo del patogeno (1% in peso; costituito da cariossidi sterili di frumento colonizzate da Fc) e 110 esemplari di Pa. Dopo due settimane, le piante sono state raccolte e sono stati determinati l'indice di malattia ed il peso secco. Dal substrato sono stati estratti per flottazione gli animali che sono stati contati e successivamente fissati per l'esame del contenuto intestinale. Dai dati ottenuti è emersa compatibilità fra la presenza dei collemboli e l'effetto di biofertilizzazione e di biocontrollo del fungo AM.

Ruolo dei funghi entomopatogeni nella difesa dai fitofagi in campo agro-forestale

G. P. Barzanti, P. Rumine

CRA-ABP, Centro di Ricerca per l'Agrobiologia e la Pedologia (ex ISZA) – Firenze

L'esistenza in natura di miceti dotati di proprietà entomopatogene ha consentito lo studio e l'approfondimento di una tematica di rilievo quale è quella che coinvolge il vasto settore della difesa dagli artropodi dannosi che in tutto il mondo sono causa di ingenti perdite di prodotto sia in senso alimentare che agroindustriale, paesaggistico e ambientale. Il modo di intendere la difesa fitoiatrica è andato drasticamente modificandosi negli anni e, più recentemente, è mutato il concetto di impatto sull'ambiente dei sistemi di lotta ai fitofagi. Questa, infatti, viene ora non più mirata all'annientamento delle popolazioni dannose ma inquadrata nell'ottica di un loro contenimento entro limiti di tollerabilità al fine di mantenere il più possibile gli equilibri naturali, altrimenti a rischio di sconvolgimento. I funghi entomopatogeni sono micromiceti che possiedono la capacità di aggredire direttamente gli insetti e pertanto rivestono un ruolo fondamentale nella regolazione degli equilibri esistenti in natura. Essi sono presenti nei più svariati habitat come, in primo luogo, il terreno ed i vari substrati organici (foglie, tronchi e rami) ove possono trovare condizioni di sviluppo favorevoli. L'impiego adeguato di alcuni di essi (*Beauveria bassiana*, *Verticillium lecanii* ecc.) consente il controllo di infestazioni massali in ecosistemi forestali o di più modeste comparse di fitofagi su colture agrarie con buona efficacia e un basso impatto ambientale.

Per tutto quanto considerato, tra i mezzi biologici la difesa microbiologica svolge un ruolo importante anche se, nella pratica fitoiatrica, non ha ancora trovato uno spazio adeguato. Lo studio di metodologie idonee per il controllo di fitofagi specifici con l'impiego di funghi entomopatogeni può costituire un passo determinante per la diffusione di questo tipo di "insetticidi" nella moderna attività di difesa fitopatologica.

Potenzialità tossinogene di *Fusarium verticillioides* isolato da mais e prodotti derivati

G. Venturini, G. Assante, A. Vercesi

Istituto di Patologia Vegetale, Università degli Studi di Milano, Via G. Celoria 2, 20133 Milano, Italy; Fax: ++390250316781; E-mail: giovanni.venturini@unimi.it

Le micotossine sono prodotti del metabolismo secondario di vari generi fungini frequentemente rinvenute in varie derrate compresi i cereali ed in particolare il mais. Nelle principali aree maidicole Italiane, in questi ultimi anni, ha destato sempre maggiore preoccupazione l'elevato livello di contaminazione da parte di fumonisine, micotossine principalmente prodotte da *Fusarium verticillioides* e *F. proliferatum*. Lo scopo del presente lavoro è stato quello di valutare la potenziale produzione di fumonisina *in vitro* da parte di ceppi di *Fusarium verticillioides* e *F. proliferatum* isolati da campioni costituiti da cariossidi di mais e prodotti derivati. La determinazione del livello di micotossina nei campioni di granella iniziali e nei filtrati colturali dei ceppi saggiati è stata effettuata tramite saggio ELISA. I ceppi di *F. verticillioides* e *F. proliferatum*, sono stati successivamente cresciuti *in vitro* in condizioni adatte alla produzione di fumonisina B₁. Dai risultati ottenuti si evince che tutti gli isolati, indipendentemente dal campione di provenienza, sono tossinogeni, anche se con notevoli variazioni nella quantità di micotossina che ogni individuo saggiato è in grado di sintetizzare. Non è stata evidenziata alcuna correlazione tra quantità di fumonisina ritrovata nel campione iniziale di granella e la produzione *in vitro* dei ceppi isolati.

Caratterizzazione biomolecolare di *Fusarium oxysporum* isolato da seme di *Eruca sativa* e *Diplotaxis* spp.

Tonti S.¹, Rovito D.¹, Dal Prà M.¹, Nipoti P.², Pancaldi D.³, Alberti I.¹

¹Ente Nazionale delle Sementi Elette (ENSE) Via Ca' Nova Zampieri 37, 37057 San Giovanni Lupatoto, Verona; ²Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agroambientali (DiSTA) – Alma Mater Studiorum Università di Bologna - Viale Fanin 44, 40127 Bologna; ³Dipartimento di Protezione e Valorizzazione Agroalimentare (DIPROVAL) – Alma Mater Studiorum Università di Bologna - Viale Fanin 46, 40127 Bologna.

Fusarium oxysporum f. sp. *raphani* è stato definito come agente causale del deperimento della rucola coltivata (*Eruca sativa*) e della rucola selvatica (*Diplotaxis* spp.) in Italia (Garibaldi *et al.*, 2003).

La principale fonte di diffusione, a lunga e a breve distanza, di questa tracheomicosi sembra essere il seme (Garibaldi *et al.*, 2005). L'esatta identificazione degli agenti causali è punto cruciale nella valutazione della sanità delle sementi e nella gestione di questa problematica. Considerando che i miceti riferibili alla specie *F. oxysporum* sono agenti di deperimenti o marciumi radicali su centinaia di ospiti vegetali, distinti sulla base di risposte ospite specifiche in "formae speciales", che la specie è ubiquitaria e cosmopolita, risulta difficile effettuare una identificazione tempestiva e certa con il solo approccio morfologico.

Nel presente lavoro sono stati analizzati 49 lotti di semente, di cui 37 di rucola selvatica e 12 di rucola coltivata, su substrato semiselettivo (Komada's medium) per la ricerca di *F. oxysporum*. Per l'individuazione di *F. oxysporum* f. sp. *raphani*, i 21 isolati collezionati, unitamente a 2 ceppi di riferimento, sono stati saggiati biologicamente tramite prove di patogenicità differenziali in ambiente controllato e caratterizzati molecolarmente sulla base dello studio dei geni ITS e TEF.

Nessun isolato da seme analizzato in questa indagine risulta appartenere a *F. oxysporum* f.sp. *raphani*.

Biopesticidi a base di *Trichoderma* ed altri funghi antagonisti

Claudia Maria Oliveira Longa, Ilaria Pertot

Dipartimento di protezione delle piante, Fondazione Edmund Mach, Via Mach 1, San Michele all'Adige, Trento 38010, Italy

Le preoccupazioni sulle conseguenze dell'utilizzo degli agrofarmaci di sintesi sulla salute dell'uomo e sull'ambiente hanno indotto un interesse sempre maggiore nello sviluppo di prodotti e metodiche per la protezione delle piante a basso impatto ambientale. Nell'ultimo biennio si è registrato un aumento del 25% nel numero di aziende biologiche in Italia, paese che occupa il primo posto in Europa e il quinto posto nel mondo per superficie coltivata con metodo biologico. In base al Regolamento (CEE) N. 2092/91 del 24 giugno 1991, relativo al metodo di produzione biologico di prodotti agricoli, il controllo delle malattie delle piante è consentito, tranne per alcune sostanze considerate "d'uso tradizionale", solamente mediante l'uso di preparati vegetali, minerali e animali e con l'utilizzo di microrganismi antagonisti. Questi ultimi, associati o meno ad altre pratiche colturali, rappresentano un importante strumento per la produzione di alimenti biologici. L'utilizzo di biopesticidi viene proposto anche nell'agricoltura convenzionale come alternativa agli agrofarmaci di sintesi nella lotta integrata. Il British Crop Protection Council (2004) cita 112 differenti agenti di controllo biologico, quali virus, batteri, funghi, protozoi e nematodi, mentre il Manual of Biocontrol Agents (UK), pubblicato nello stesso anno, elenca 373 microrganismi. La lista di biopesticidi, autorizzati dalla Comunità Europea come prodotti per la protezione delle piante (SANCO/2692/2001) include 834 sostanze, di cui solo però 19 sono di origine microbiologica, quali virus (5), batteri (2) e funghi (9). Negli USA, tra i biopesticidi sono registrati 73 microrganismi, di cui 20 sono ceppi fungini. Tra i prodotti commerciali il cui principio attivo è di origine fungina, molti appartengono al genere *Trichoderma*, principalmente le specie *Trichoderma harzianum*, *T. polysporum*, *T. viride*, *T. virens* e *T. stromaticum*. Questi funghi sono noti per il loro antagonismo contro i patogeni vegetali e varie formulazioni a base di *Trichoderma* spp. vengono commercializzate in diversi Paesi. Recenti ricerche evidenziano la capacità di *Trichoderma* spp. di indurre nelle piante, nei confronti di molti patogeni, sia una resistenza di tipo sistemico, sia di tipo localizzato. Altri studi riportano, associati all'uso di isolati di *Trichoderma* spp., un incremento dello sviluppo, della produttività e della resistenza agli stress ambientali delle piante e la miglior capacità d'utilizzo degli elementi nutritivi da parte delle stesse. Molti prodotti a base di *Trichoderma* spp. vengono, infatti, utilizzati non solo come biopesticidi, ma anche come biostimolanti e biofertilizzanti su numerose varietà di piante coltivate. Altri esempi di funghi utilizzati sono: *Ampelomyces quisqualis*, *Aspergillus flavus*, *Clonostachys rosea*, *Coniothirium minutans*, *Gliocladium catenulatum*, *Phlebiopsis gigantea* e *Pseudozyma flocculosa*. Bioinsetticidi a base di funghi antagonisti come *Aschersonia aleyrodalis*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces fumosoroseus* e *Verticillium lecanii*, vengono utilizzati grazie alla loro capacità entomopatogena. Esempi di funghi utilizzati come erbicidi sono: *Alternaria destruens*, *Chondrostereum purpureum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, e *Sclerotinia sclerotiorum*. *Paecilomyces lilacinus* e *Myrothecium verrucaria* sono esempi di sostanze attive come nematocidi. In questo lavoro vengono riunite informazioni sui biopesticidi che utilizzano funghi come sostanze attive, facendo un'analisi del loro stato di registrazione, dell'impatto commerciale e della loro importanza e prospettiva nel mercato mondiale.

Prospettive d'impiego di funghi del genere *Trichoderma* per il controllo di afidi dannosi alle colture agrarie

Sonia Ganassi ⁽¹⁾, Claudio Altomare ⁽²⁾, Maria Agnese Sabatini ⁽¹⁾

¹Dipartimento di Biologia Animale, Università di Modena e Reggio Emilia;

²Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari del CNR, Bari

I funghi e i loro metaboliti bioattivi sono considerati candidati promettenti per l'individuazione di innovative strategie di biocontrollo degli insetti dannosi, finalizzate alla progressiva riduzione dell'impiego dei prodotti chimici ad elevato rischio ambientale, al conseguimento di una maggiore sicurezza alimentare e alla salvaguardia degli ecosistemi naturali attraverso un'agricoltura a basso impatto.

Gli afidi (Homoptera Aphidoidea) rappresentano uno dei più importanti gruppi di insetti nocivi delle piante coltivate. Studi in laboratorio da noi condotti hanno dimostrato che funghi del genere *Trichoderma* e/o i loro metaboliti, sono in grado di influenzare differenti aspetti della biologia, quali la sopravvivenza, la fecondità e le scelte alimentari, degli afidi. Gli studi sono stati condotti con due specie di afidi, *Schizaphis graminum* (Rondani), un fitofago di vari cereali di interesse agrario molto diffuso in natura e *Myzus persicae* (Sulzer), cosmopolita, polifago, considerato tra gli insetti più distruttivi a livello mondiale, in virtù della sua capacità di trasmettere virus vegetali. L'isolato *Trichoderma harzianum* Rifai ITEM 908 ha mostrato una considerevole attività entomopatogena, con effetti statisticamente significativi sulla sopravvivenza e sulla fecondità degli afidi oggetto di studio. Inoltre in entrambe le specie la ricerca ha rilevato una maggior sensibilità delle forme alate, responsabili della dispersione e colonizzazione di nuove piante, all'azione entomopatogena rispetto alle attere: il fungo aderisce e si sviluppa sul corpo delle forme alate determinandone la morte, mentre praticamente non aderisce al corpo delle forme attere.

Nell'ambito delle strategie di biocontrollo un approccio innovativo è orientato alla ricerca di sostanze naturali di origine fungina che interferiscano con il processo di scelta della pianta ospite da parte di insetti fitofagi. Colture degli isolati *T. harzianum* ITEM 908 e *Trichoderma citrinoviride* Bisset ITEM 4484 sono risultate in grado di esercitare un'azione fagorepellente su *S. graminum* e *M. persicae*. Studi comportamentali ed elettrofisiologici hanno permesso di evidenziare che la percezione da parte degli afidi, avviene mediante strutture gustative localizzate sui tarsi non ancora morfologicamente identificate. Uno studio multidisciplinare mirante alla identificazione dei metaboliti di *T. citrinoviride* responsabili di tale effetto, ha condotto alla purificazione di molecole dotate di attività fagorepellente delle quali è stata determinata la struttura chimica e che potrebbero costituire la base per lo sviluppo di nuovi principi attivi da utilizzare per la protezione delle colture agrarie da attacchi di afidi.

L'impiego agronomico di miscele sperimentali a base di reflui oleari: impatto sulla comunità macro- e microfungina

¹Ruocco G., ²S. Chinaglia, ²M. Rodolfi, ¹L. Pecoraro, ¹E. Salerni, ¹C. Perini, ²A.M. Picco

¹Dipartimento di Scienze Ambientali "G. Sarfatti" - Università degli Studi di Siena, Via P. A. Mattioli 4, 53100 Siena, Italia

²Dipartimento di Ecologia del Territorio, Sezione di Micologia - Università degli Studi di Pavia, Via San Epifanio 14, 27100 Pavia, Italia

L'estrazione dell'olio di oliva, qualunque sia la metodologia estrattiva, genera ingenti quantitativi di reflui. Le problematiche riguardanti lo smaltimento, nonché la tendenza a ridurre l'impatto ambientale stanno determinando un sempre più diffuso impiego agronomico dei sottoprodotti dei frantoi oleari. In quest'ottica gli obiettivi che il nostro lavoro si prefigge sono essenzialmente quelli di analizzare le modificazioni indotte dall'uso agronomico di reflui oleari sulla comunità macro e microfungina. In particolare sono state sperimentate sansi vergini in comparazione con miscele sperimentali contenenti reflui oleari, prodotti dal ISAFoM-CNR di Perugia secondo una tecnologia innovativa denominata "MATREFO".

Ad Aprile 2006 presso l'Orto Botanico dell'Università degli Studi di Siena è stata realizzata un'area sperimentale costituita da 25 parcelle separate da zone tampone, sulle quali si è proceduto allo spargimento, a due dosaggi diversi, di sansa vergine e della miscela sperimentale. A cadenza settimanale sono stati effettuati rilievi quali-quantitativi sui macromiceti presenti nelle parcelle. Inoltre, si è valutata la componente microfungina sia sull'ammendante sperimentale, al momento dello spargimento, sia su campioni di suolo raccolti nelle parcelle sperimentali a febbraio e ad aprile 2007.

Nelle parcelle trattate sono state osservate otto specie di macromiceti non rilevate nelle parcelle di controllo. Tra queste, quattro specie sono state riscontrate esclusivamente nei plots sottoposti a spargimento con l'ammendante sperimentale dove è anche emerso il maggior grado di diversità. Da sottolineare la presenza di una rara specie, *Coprinus plagioporus*, che risulterebbe come nuova segnalazione di presenza per la Toscana e come seconda a livello nazionale.

Per quanto riguarda i micromiceti, in termini quantitativi sono state accertate cariche pari a $62,5 \times 10^4$ CFU/gr nella AS e comprese tra $6,5 \times 10^4$ e 182×10^4 CFU/gr nei campioni di suoli provenienti dalle varie parcelle ammendate. In generale, comunque, la componente microfungina delle differenti tesi a confronto non è risultata numericamente correlabile al dosaggio applicato.

Qualitativamente differente, invece, è risultata la colonizzazione microfungina dei suoli nelle varie tesi. In particolare, la più bassa ricchezza in *taxa* è stata osservata nelle parcelle di controllo (5 *taxa* microfungini) e la più alta (18 *taxa*) in quelle con AS alla dose di 8 Kg/mq. Fra le numerose osservazioni microfungine effettuate, si segnala in particolare: l'abbondante riscontro di Zygomycetes (*Absidia spinosa*, *Mortierella isabellina*, *Mucor hiemalis*, *M. mucedo*, *Rhizopus stolonifer*), peraltro recentemente riconosciuti da diversi autori per la loro efficacia in azioni di risanamento e biorimediazione dei suoli inquinati da incaute azioni antropiche; una quasi costante presenza di *Trichoderma* e *Gliocladium* spp., generi già da tempo efficacemente utilizzati in pratiche di lotta biologica; una trascurabile colonizzazione del genere *Fusarium*, micromicete ad ampia diffusione nel suolo, comprendete specie fortemente fitopatogene.

La ricerca è stata svolta con il contributo finanziario dell'ARSIA Toscana nell'ambito del progetto "Soluzioni alternative allo spandimento in campo dei sottoprodotti dei frantoi".