

INTERAZIONI TRA FUNGHI MICORRIZICI E *PHYTOPHTHORA CAMBIVORA* AGENTE DEL MAL DELL'INCHIOSTRO DEL CASTAGNO

L. LANDI, M. MOSCA, M. B. BRANZANTI

Dipartimento di Scienze Ambientali e delle Produzioni Vegetali,
Università Politecnica delle Marche, via Brecce Bianche 60131, Ancona

RIASSUNTO ESTESO

RIASSUNTO

E' stato messo a punto un modello sperimentale costituito da funghi ectomicorrizici (ECM)-*Phytophthora cambivora*-colture cellulari di castagno, allo scopo di analizzare l'azione di bioprotezione esercitata da alcune specie di funghi ectomicorrizici (ECM), *Amanita muscaria*, *Boletus luridus* e *Hebeloma radicosum*, nei confronti di *P. cambivora*, agente del mal dell'inchiostro in castagno. Sulla base del modello *in vitro*, si è analizzata l'azione antagonista esercitata dai funghi ECM sullo sviluppo di *P. cambivora* e le variazioni dell' H_2O_2 . Quest'ultima, infatti, in genere è coinvolta nei meccanismi di difesa. I funghi ECM esercitano un' azione protettiva specie-specifica, limitando l'azione del patogeno, ed evidenziano una diversa capacità nel controllare la produzione del perossido.

Parole chiave: funghi ECM, *P. cambivora*, callo di castagno, H_2O_2 , bioprotezione

SUMMARY

INTERACTIONS BETWEEN MYCORRHIZAS FUNGI AND *PHYTOPHTHORA CAMBIVORA* AGENT OF INK DISEASE IN CHESTNUT

With the aim of determining the ability of three ECM fungi (*Amanita muscaria*, *Boletus luridus* and *Hebeloma radicosum*) to induce protective effect against *Phytophthora cambivora* (Petri), the causal agent of chestnut ink disease, we developed an *in vitro* experimental model constituted by ECM fungi-*P. cambivora*-chestnut cell suspension or callus. The antagonistic capacity was analyzed in co-culture on agar plates. The production of H_2O_2 , known to be activated as a molecular plant defence response, was analyzed by fluorescence bioassay. The ECM fungi exhibit species-specific antagonistic activity against *P. cambivora* and the control of peroxide expression was related to ECM specie.

Keywords: ECM fungi, *P. cambivora*, callus chestnut, H_2O_2 , bioprotection

INTRODUZIONE

I funghi micorrizici, al ruolo di fertilizzanti biologici, associano un effetto di protezione nei confronti di stress biotici e abiotici. In certe condizioni, sono in grado di svolgere un'azione antagonista nei confronti di patogeni e agenti di marciumi radicali quali *Pythium*, *Phytophthora*, *Verticillium*. I sistemi che governano questo effetto protettivo non sono ancora stati completamente chiariti. Nel patogeno inibiscono la germinazione e la penetrazione nella pianta (Branzanti *et al.* 1999) e sulla pianta-ospite hanno azione elicitante i meccanismi di difesa coinvolgendo molecole quali proteine PR, enzimi idrolitici e perossidi, che inibiscono lo sviluppo del patogeno (Azcón-Aguilar e Barea 1996; Jeffries *et al.* 2003)

MATERIALI E METODI

L'azione di bioprotezione esercitata da tre specie di basidiomiceti, *Amanita muscaria*, *Boletus luridus* e *Hebeloma radicosum*, sullo sviluppo di *Phytophthora cambivora* è stata analizzata in un modello sperimentale costituito da fungo ectomicorrizico (ECM)-*P. cambivora*-callo di castagno (*Castanea sativa*. Mill). L'azione antagonista è stata analizzata *in vitro*, su PDA, misurando la crescita morfologica di tutti i componenti del sistema per un totale di 6 tesi per ogni specie di fungo ECM. Parallelamente si è valutata la produzione di H_2O_2 in un modello sperimentale analogo, allestito su substrato liquido idoneo, in relazione a

tutte le combinazioni possibili per ogni specie di fungo ECM a diversi tempi di reazione (h 0,1,5,24,48,53,72,77 e 94). A tale scopo è stato allestito un biosaggio di fluorescenza utilizzando il kit 'AmplexTM Red' fornito dalla 'Molecular Probe' che ha consentito di valutare, con l'ausilio di un fluorimetro, la variazione di H₂O₂ liberata nel sistema.

RISULTATI E DISCUSSIONE

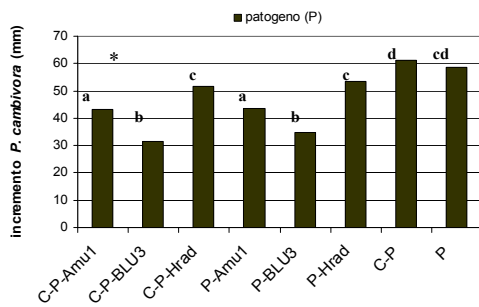


Figura 1- Effetto di funghi ECM (Amu1=*A. muscaria*; BLU3=*B. luridus*; Hrad=*H. radicosum*) e/o del callo (C) sullo sviluppo di *P. cambivora* (P) dopo 10 giorni di incubazione su PDA.

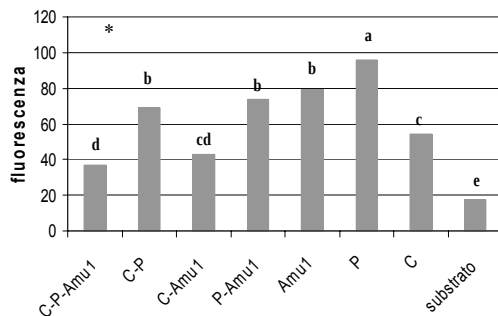


Figura 2 - Produzione di H₂O₂ nelle combinazioni con *A. muscaria* e nei relativi controlli.

*=Differenze significative secondo il test di Duncan con $p \leq 0,05$.

Lo sviluppo sinergico *in vitro*, fungo micorrizico-patogeno-ospite, rivela un'inibizione specie-specifica della crescita del patogeno da parte dei funghi ECM (figura 1), non strettamente legata allo sviluppo del fungo. Infatti, *A. muscaria* pur presentando in co-cultura una crescita inferiore rispetto agli altri funghi ECM, è risultato un ottimo agente protettivo, facendo ipotizzare un coinvolgimento di sostanze con azione fungicida o fungistatica. Sulla base di una stimolazione dei meccanismi di difesa, è emersa una differente capacità dei funghi ECM di tamponare la produzione del perossido, quando aggiunti alla combinazione patogeno-cellule di castagno, più marcata per *A. muscaria* (figura 2). Ciò potrebbe essere in relazione all'azione di protezione dei funghi ECM nell'ospite e alla necessità di abbassare lo stress ossidativo per consentire la simbiosi micorrizica. I funghi ECM studiati esercitano un'azione protettiva di tipo specie-specifica. La conoscenza delle loro potenzialità nel contrastare lo sviluppo di patogeni radicali potrebbe essere di aiuto nel ridurre l'utilizzo di fitofarmaci e l'impatto ambientale che l'uso di quest'ultimi comporta.

LAVORI CITATI

- Azcòn-Aguilar C., Barea J.M., 1996. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens – an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza*, 6, 457-464.
- Branzanti M.B., Rocca E., Pisi A., 1999. Effect of ectomycorrhizal fungi on chestnut ink disease. *Mycorrhiza*, 9, 103-109.
- Jeffries P., Gianinazzi S., Perotto S., Turnau K., Barea J.M., 2003. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Biol. Fert. Soils*, 37, 1-16.

Ricerca svolta grazie al contributo del Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca, PRIN 2003 – prot. n. 2003074533: 'Le malattie causate da specie terricole di *Phytophthora*: epidemiologia, diagnosi e nuovi metodi di difesa.