# 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<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.
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<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 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-colture 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<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 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 (Azcòn-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<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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 'Amplex  $^{TM}$  Red' fornito dalla 'Molecular Probe' che ha consentito di valutare, con l'ausilio di un fluorimetro, la variazione di  $H_2O_2$  liberata nel sistema.

#### RISULTATI E DISCUSSIONE

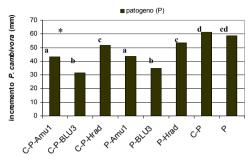


Figura 1- Effetto di funghi ECM (Amu1=*A. muscaria*; BLU3 =*B. luridus*; Hrad=*H. radicosum*) e/o del callo (C) sullo sviluppo di *P. cambivora* (P) dopo 10 giorni di incubazione su PDA.

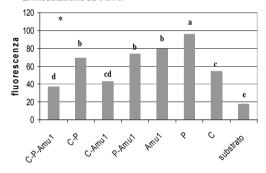


Figura 2 - Produzione di  $H_2O_2$  nelle combinazioni con *A. muscaria* e nei relativi controlli.

\*=Differenze significative secondo il test di Duncan con p≤0.05.

Lo sviluppo sinergico in vitro, fungo micorrizico-patogeno-ospite, rivela 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-coltura una crescita inferiore rispetto agli altri fungi 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. auando 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 soilborne 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.