

“MORIA” DEL NOCCIOLO E CARATTERIZZAZIONE MORFOLOGICA DI FUNGHI MICORRIZICI ARBUSCOLARI

Elvira Rea, Monica Tullio

C.R.A. - Istituto Sperimentale per la Nutrizione delle Piante
Via della Navicella, 2-4, I-00184 Roma
e-mail: elvira.rea@entecra.it

Riassunto

Viterbo è, da alcuni anni, la prima provincia italiana per la produzione di nocciole. La stretta dipendenza dell'economia Viterbese dalle vicende di questo comparto produttivo impone il problema dell'individuazione delle strategie atte al mantenimento ed incremento della competitività della corilicoltura di questa zona. Una delle priorità è la lotta alle fitopatie con particolare riguardo alla “moria”, causata da *Pseudomonas avellanae* (Psallidas) Janse *et al.*, essendo questa tra le principali malattie batteriche interessanti i corileti viterbesi. Un possibile ausilio alla risoluzione di questo problema può essere dato dall'uso dei funghi micorrizici arbuscolari (MA), simbiotici obbligati della maggioranza delle piante terrestri. La simbiosi micorrizica con tali funghi, oltre ad indurre nella pianta ospite i più noti benefici, è in grado di diminuire significativamente non solo l'incidenza ma anche la gravità di alcune malattie in diverse piante ospiti.

Scopo della presente ricerca è stata la determinazione della composizione delle popolazioni MA endemiche delle aree di coltivazione del nocciolo site nella provincia di Viterbo. Sono state pre-

scelte in tale area, due aziende corilicole, con presenza o meno di piante affette da “moria”. Sono state, quindi, selezionate sia piante malate che sane sulle quali sono stati effettuati i prelievi di porzioni di micorrizosfera, ed il successivo riconoscimento delle spore MA in funzione delle loro caratteristiche morfologiche.

E' stato calcolato l'indice di diversità ecologica di Shannon-Wiener per la valutazione del grado di diversità ecologica delle popolazioni. Le popolazioni MA presenti nelle due aziende corilicole presentavano un diverso grado di diversità ecologica. La ragione di tale diversità è da imputare a diversi fattori (proprietà fisiche e chimiche del suolo e conduzione della coltura) che hanno agito in sinergia. L'applicazione della metodologia statistica basata sul modello lineare generalizzato mostra che la “moria” non è in grado non solo di differenziare la popolazione fungina delle piante sane e malate ma anche di influenzare il grado di diversità ecologica delle due popolazioni in modo statisticamente significativo.

Parole chiave: “Moria”, *Pseudomonas avellanae*, Micorrize arbuscolari.

Summary

Hazelnut decline and morphological characterization of arbuscular mycorrhizae

Viterbo is the first province for hazelnut production in Italy. Among the several strategies aimed at increasing the hazelnut competitiveness in central Italy, there is the control of diseases. Bacterial canker and decline, caused by *Pseudomonas avellanae* (Psallidas) Janse *et al.*, is a very dangerous threat for hazelnut trees causing the death of the trees in spring and summer.

Arbuscular mycorrhizae (AM) are a symbiotic association between plants and fungi and they are considered one of the most important biological linkage which rules out the ecological communities. They could be a further tool to use in the control of such a pathogen. In addition to the known benefits, some studies showed that the AM symbiosis is able to significantly decrease the incidence and the danger of some pathogens in several pathosystems. The aim of this research was to characterise the endemic AM population of hazelnut in the province of Viterbo. The study was carried out on two hazelnut orchards with or without the presence of

P. avellanae and by taking into account both healthy and diseased trees. AM spores have been isolated from the soil in order to determine their morphological characteristics and the species occurrence. In order to assess the ecological diversity degree of the populations, the Shannon-Wiener ecological diversity index has been calculated

The AM populations in the two hazelnut farms showed differences concerning the ecological diversity. This study showed that many are the factors which can affect such a diversity (physical and chemical properties of the soil and management of the crop) in a particular site. The statistical methodology application, based on generalized linear model, showed that bacterial canker and decline disease is neither able to differentiate the AM population of the healthy and diseased hazelnut trees nor to influence the ecological diversity of the two populations.

Key words: Hazelnut decline, *Pseudomonas avellanae*, Arbuscular micorhyzae.

Introduzione

La corilicoltura è ampiamente distribuita in Italia e riveste un ruolo considerevole nell'economia della Campania, Lazio, Piemonte e Sicilia. Le strategie adottate per incrementare la competitività della corilicoltura nell'Italia centrale sono numerose: il controllo della qualità del prodotto importato, l'introduzione della denominazione di origine protetta per la nocciola dei colli Cimini (Gianlorenzo, 2003), la valorizzazione della variabilità genetica, la razionalizzazione ed esemplificazione del

ciclo produttivo (Bignami, 2002), la lotta alle fitopatie. La “moria” del nocciolo, causata dal batterio *Pseudomonas avellanae* (Psallidas) Janse *et al.*, è una seria malattia per tale coltura, inducendo vistosi avvizzimenti nel periodo primaverile-estivo (Scortichini, 2002; Gianlorenzo, 2003).

Le micorrize arbuscolari (MA) costituiscono una delle simbiosi mutualistiche più antiche ed importanti tra piante e funghi. I funghi vescicolo-arbuscolari, simbionti obbligati che crescono esclusivamente in presenza delle radici delle piante ospiti, colonizzano il parenchima corticale radicale a livello inter ed intra cellulare, formando vescicole (struttura accumulatrici) ed arbuscoli (strutture di scambio). All'esterno delle radici, i funghi formano sia una grande quantità di micelio sia spore vegetative. Sono i funghi più diffusi in natura, assenti solo negli habitat marini (Reid, 1979).

Le piante micorrizzate hanno un maggiore vigore ed un migliorato regime nutrizionale ed idrico in quanto i funghi MA migliorano l'assimilazione sia degli ioni poco mobili che di quelli mobili per mezzo della traslocazione ifale che risulta essere più efficiente della lenta diffusione dal suolo alle radici. Le ife, che i funghi MA formano al di fuori delle radici, colonizzano il suolo formando aggregati ed andando a costituire per la pianta ospite un ulteriore apparato di assorbimento con maggiori potenzialità di sfruttamento del suolo che trasporta agevolmente acqua, fosfati ed altri ioni essenziali alla crescita dell'ospite fino a livello dell'arbuscolo. La quantità di carbonio necessaria per sostenere il fungo è inferiore a quella richiesta dalla stessa pianta per produrre radici fini e per il loro ricambio. Inoltre, le ife sono più competitive rispetto alle radici fini per la captazione degli ioni nel terreno in quanto di dimensioni più ridotte rispetto a quest'ultime. Ciò permette loro di penetrare in pori di dimensioni minime e di superare le zone di esaurimento che si vengono a creare in prossimità della superficie radicale arrivando anche a notevole distanza. Esse risultano essere più competitive anche rispetto ai batteri del suolo per la captazione del fosforo mineralizzato e solubilizzato. Si può affermare quindi che gli apparati radicali micorrizzati possiedono una migliore funzione di esplorazione e di sfruttamento del suolo. Contribuiscono, inoltre, proprio in virtù del migliorato apporto di elementi nutritivi alla pianta, al mantenimento della fertilità dei suoli (Elliot e Coleman, 1988; Bethlenfalvay e Newton, 1991). I funghi MA formando simbiosi con la maggior parte delle piante di interesse agronomico, colonizzano anche molte specie da frutto e da legno, possono essere considerate dei “biofertilizzatori naturali” di estrema importanza in un sistema agricolo sostenibile (Rea e Tullio, 2001). La presenza della simbiosi micorrizica nelle radici della pianta ospite può garantire a questa ulteriori benefici quali la diminuzione significativa, non solo dell'incidenza ma anche della gravità di alcune malattie (Hwang *et al.*, 1992; Thomas *et al.*, 1994; Datnoff *et al.*, 1995; Whipps, 2001; Yao *et al.*, 2002; Whipps, 2004).

Ricerche effettuate in passato presso i nostri laboratori hanno mostrato, laddove si avevano scarse informazioni bibliografiche, la capacità dei funghi MA di suscitare infezione in radici di piante nobili da legno quali ciliegio, frassino, acero e noce. Ciò è di stimolo ad una verifica della possibilità dell'instaurarsi di una tale

simbiosi anche nel *Corylus avellana* L. in quanto essa, favorendo gli assorbimenti degli elementi, potrebbe migliorare la capacità di nutrizione e quindi la salubrità della pianta, mettendo in tal modo questa ultima in condizione di superare con più facilità situazioni di stress ambientale ed attacchi di patogeni, tra i quali anche quelli di *Pseudomonas avellanae*.

L'introduzione di tale tecnica potrebbe rivelarsi utile anche nella fase di acclimatazione delle piantine di nocciolo, moltiplicate vegetativamente o micropropagate, in quanto la simbiosi micorrizica predisporrebbe le piante in una condizione tale da permettere loro di superare più facilmente lo stress da trapianto, favorendo una migliore radicazione ed accrescimento vegetativo ed agendo anche in qualità di agente di controllo biologico per alcune malattie. Scopo della presente ricerca è stato quello di determinare la composizione delle popolazioni MA endemiche delle aree di coltivazione del nocciolo site nella provincia di Viterbo.

Materiali e Metodi

Sono state selezionate nella provincia di Viterbo (Lazio) due aziende corilicole:

- Azienda M: *Corylus avellana* L.; cultivar Tonda Gentile Romana (21 anni); estensione del nocciolo: 3 ha; Concime misto organico (titolo NPK: 12-6-8): 8-9 q/ha; presenza di piante affette da “moria del nocciolo” (*Pseudomonas avellanae*).
- Azienda NM: *Corylus avellana* L.; cultivar Tonda Gentile Romana (40 anni); estensione del nocciolo: 1 ha; Concime misto organico (titolo NPK: 20-10-10): 6 q/ha; assenza di piante affette da “moria del nocciolo” (*Pseudomonas avellanae*).

Sono stati determinati i parametri fisico-chimici dei due suoli (A. Benedetti; comunicazione personale.). Sotto gli alberi prescelti, con presenza della malattia e non, sono state individuate due circonferenze. La prima è la proiezione ortogonale della chioma sul suolo sul cui raggio, nel punto di mezzo, viene individuata la seconda circonferenza. Su quest'ultima sono stati effettuati con trivella, tre prelievi di suolo, radici e spore di funghi micorrizici arbuscolari, distanziati tra loro di circa 120° ed interessanti una profondità di circa 30 cm ed isoorientati. La micorrizosfera così prelevata (circa 1 Kg) è stata sospesa in acqua corrente, posta in agitazione, dopo decantazione, e setacciamento multiplo su setacci con diverse dimensioni (2 mm, 180 µm, 125 µm, 63 µm) sono state separate le spore fungine dal terreno. In seguito, queste sono state esaminate allo stereoscopio ed identificate sulla base delle loro caratteristiche morfologiche quali grandezza, colore, parete spongina ed attacco dell'ifa portante. Sono state consultate sia le descrizioni originali (Schenk e Perez, 1990) sia il database on-line formulato da Morton (http://invam.caf.wvu.edu/Myc_Info/Taxonomy/species.htm) (Fig. 1).

È stato calcolato l'Indice della diversità ecologica di Shannon-Wiener (H'). Esso è un indice di diversità che riporta, in un valore unico, le informazioni sulla ricchezza di specie e l'abbondanza relativa. I risultati sono stati sottoposti ad analisi statistica (metodo ANOVA; $p < 0.05$).

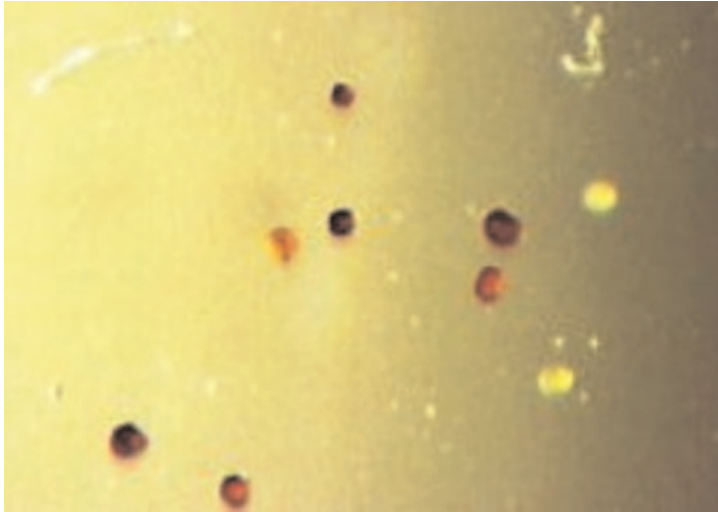


Fig. 1 – Spore asessuali di funghi micorrizici arbuscolari rinvenute nella rizosfera delle piante di nocciolo coltivate nella azienda M, con alberi di nocciolo affetti da “moria”.

Risultati

La popolazione MA endemica dell’azienda corilicola M, con presenza di piante affette da “moria” e piante sane, è composta da sette specie appartenenti all’ordine delle *Glomerales* (*Glomus ambisporum*, *G. claroides*, *G. deserticola*, *G. etunicatum*, *G. luteum*, *G. macrocarpum*, *G. mosseae*), una appartenente all’ordine delle *Paraglomaceae* (*Paraglomus occultum*) ed una all’ordine delle *Diversisporales* (*Gigaspora versiforme*), con un valore dell’indice di diversità ecologica di Shannon-Wiener analogo: 1.485 e 1.487 per le piante affette da “moria” e sane, rispettivamente.

La popolazione MA endemica presente nella micorrizosfera delle piante di nocciolo della azienda corilicola NM, dove non era presente la “moria”, è risultata composta dalle stesse specie presenti nell’azienda M, anche se con un grado di diversità ecologica di Shannon-Wiener significativamente inferiore (Fig. 2).

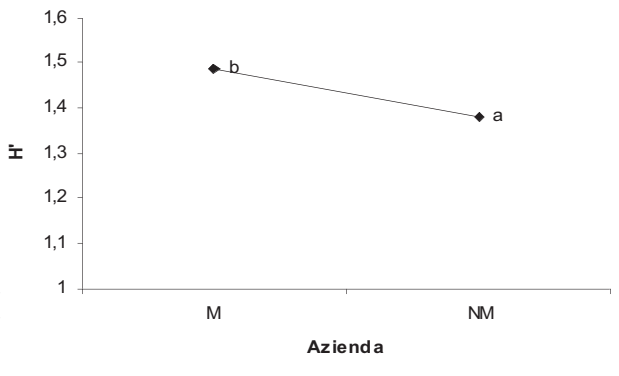


Fig. 2 – Valori dell’Indice di diversità ecologica di Shannon-Wiener (H') delle popolazioni fungine micorriziche arbuscolari presenti nella rizosfera delle piante nelle due aziende (azienda M: presenza di “moria”; azienda NM: assenza di “moria”).

Discussione

Nell'area di Viterbo sono state scelte due aziende corilicole rappresentative per la presenza o meno di piante di nocciolo affette dalla “moria” causata da *Pseudomonas avellanae*. Il riconoscimento delle specie che compongono le popolazioni MA endemiche delle due aziende corilicole ha messo in evidenza che le due popolazioni, pur composte dalle stesse specie di funghi arbuscolari, presentano gradi di diversità ecologica diversi. Ciò è dovuto al diverso peso che le singole specie hanno nelle due popolazioni in quanto l'indice di diversità ecologica di Shannon-Wiener riporta, in un valore unico, le informazioni sulla ricchezza di specie e l'abbondanza relativa di queste. All'interno delle due aziende sono state quindi individuate due diverse popolazioni, rappresentate come α , per l'azienda M affetta dalla malattia; β , per l'azienda NM non affetta dalla malattia.

La ragione di tale diversità non è da imputare alla “moria”, in quanto l'applicazione della metodologia statistica basata sul modello lineare generalizzato, mostra che essa non è in grado non solo di differenziare le popolazioni fungine delle piante sane e malate ma anche di influenzare il grado di diversità ecologica delle due popolazioni in modo statisticamente significativo. Quindi altri sono stati i fattori che hanno agito sulla composizione delle due popolazioni. Dati presenti in letteratura infatti, indicano che alcune caratteristiche chimico-fisiche del suolo possono influenzare, in senso positivo o negativo il grado di infezione micorrizica (Frey ed Ellis, 1997). La popolazione con il più basso grado di diversità ecologica è stata riscontrata nel suolo dell'azienda NM che presentava i più alti contenuti in argilla. Questo risultato è in accordo con quanto ipotizzato da altri autori che hanno trovato una significativa correlazione negativa tra contenuto in argilla del suolo e dimensioni della popolazione MA (Rhetore e Singh, 1995).

Nelle due aziende corilicole, inoltre, sono stati effettuati diversi trattamenti con insetticidi (rame, piretroidi e clorato di carbonio idrato). Studi hanno mostrato un effetto inibitore degli insetticidi con principi attivi simili sulla crescita e sviluppo delle ecto ed endomicorrize (Reddy e Natarajan, 1994; Veeraswamy *et al.*, 1992; Wan e Rahe, 1998). I risultati della ricerca mostrano che il grado di diversità ecologica di una popolazione MA in un particolare sito è influenzata da diversi fattori, come alcune proprietà fisiche e chimiche del suolo e, in generale, la conduzione della coltura *sensu lato*.

L'introduzione della pratica di inoculazione con funghi MA nelle radici di nocciolo potrebbe, comunque, costituire una valida soluzione ai molti problemi che affliggono questo comparto, in particolare alla lotta alle fitopatie in quanto le piante micorrizzate, avendo una migliore salubrità, sarebbero in grado di resistere e di superare più facilmente gli attacchi di patogeni, anche quelli da parte di *P. avellanae*. Questo presuppone la preparazione di un inoculo fungino costituito preferibilmente da popolazioni endemiche in quanto l'uso di inoculi commerciali, costituito quindi da popolazioni diverse, potrebbe presentare problemi relativi a fenomeni di competizione tra le specie (Bethlenfalvay, 1992). Ne consegue che la determinazione della composizione della popolazione endemica MA delle aree di coltivazione del nocciolo costituisce un indispensabile base conoscitiva per la successiva produzione dell'inoculo.

Lavori citati

- A.A. 2002. Incontro bilaterale UE-Turchia per l'accordo nocciole. Nuova Agricoltura. Agenzia di informazione della Confederazione Italiana Agricoltori, 6, ([www.cia.it/nuova agricoltura.htm](http://www.cia.it/nuova_agricoltura.htm)).
- ABBOT L.K., A.D. ROBSON, 1984. The effect of VA mycorrhizae on plant growth. *In: VA Mycorrhiza*. (C.L. Powell, J. Bagyaraj, Eds). pp 113-130. Boca Raton, Florida.
- ABBOT L.K., A.D. ROBSON, 1991. Factors influencing the occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **35**, 121-150.
- BARON L.C., C. RIGGERT, R.L. STEBBINS, 1985. Growing Hazelnut in Oregon. Ed. Oregon State University Extension Service. 20 pp.
- BEGON M., C.R. HARPER, L.J. TOWNSEND, 1998. Ecology: individuals, populations and communities, 3rd edition. Blackwell Science, Oxford.
- BETHLENFALVAY G.J., W.E. NEWTON, 1991. Agro-ecological aspects of the mycorrhizal, nitrogen-fixing legume symbiosis. *In: The rhizosphere and plant growth*. (D.L. Keister, P.B. Cregan, Eds). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands pp 349-354.
- BETHLENFALVAY G.J., 1992. Mycorrhizae and crop productivity. *In Mycorrhizae in sustainable agriculture*. (G.J. Bethlenfalvay, R.G. Linderman Eds). pp 1-28. WI, USA.
- BIGNAMI C., 2002. Attualità e problematiche della nocciolicoltura nel Lazio. *Atti del Secondo Convegno Nazionale sul Nocciolo*, Giffoni Valle Piana (SA), pp 122-132.
- BRAGALONI M., R. PIRAZZI, E. REA, G. PUPPI, 1999. Infection of valuable broadleaf hardwood trees by *Glomus mosseae*: growth and mineral nutrition. *Sciences of Soils*, **4**,1.
- CHAMPAWAT R.S., V.N. PATHAK, K.R. KRISHNA, 1987. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nutrition uptake in barley (*Hordeum vulgare*). *Current Science*, **56**, 1924-1925.
- DATNOFF L.E., S. NEMEC, K. PERNEZNY, 1995. Biological-control of *Fusarium crown* and root-rot of tomato in Florida using *Trichoderma harzianum* and *Glomus intraradices*. *Biological Control*, **5**, 427-431.
- DONO G., S. FRANCO, 2002. Politiche agricole e risultati economici delle aziende corilicole dei monti Cimini. *Atti del Secondo Convegno Nazionale sul Nocciolo*. Giffoni Valle Piana (SA), pp 75-89.
- ELLIOTT E.T., D.C. COLEMAN, 1988. Let the soil work for us. *Ecological Bulletin*, **3**, 23-32
- FREY J.E., J.R. ELLIS, 1997. Relationship of soil properties and soil amendments to response of *Glomus intraradices* and soybean. *Canadian Journal of Botany*, **75** (3), 483-491.

- GIANLORENZO M., 2003. L'agricoltura e l'agroalimentare nel Viterbese. Atti del “Forum provinciali sui sistemi agroalimentari del Lazio”, *Quaderni di statistica della provincia di Viterbo*. Vol. 1, pp 3-4.
- HARLEY J.L., S.E. SMITH, 1983. Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press, London.
- HWANG S.F., K.F. CHANG, P. CHAKRAVARTY, 1992. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the development of *Verticillium* and *Fusarium* wilts of alfalfa. *Plant Disease*, **76** (3), 239-243.
- KARASAWA T., Y. KASAHARA, A. TAKEBE, 2002. Differences in growth responses of maize to preceding cropping caused by fluctuation in the population of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology and Biochemistry*, **34** (6), 851-857.
- KARASAWA T., Y. KASAHARA, A. TAKEBE, 2001. Variable response of growth and arbuscular mycorrhizal colonization of maize plants to preceding crops in various types of soils. *Biology and Fertility of Soils*, **33** (4), 286-293.
- MARSCHNER H., 1988. Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press Ed., San Diego, CA 92101.
- MOLNE R., 1976. Observaciones para una racionalización y economía en el abonado de los avellanos. *Iº Congreso Internacional de Almendra y Avellana*. Memoria, Reus, Spain. Vol. 1, pp 191-210.
- PAINTER J.H., 1963. A recent leaf analysis service development of importance to nut growers in Oregon. Nut Growers Association. Washington Proc. Vol. 1, pp 496-498.
- RATHORE V.P., H.P. SINGH, 1995. Quantification and correlation of vesicular-arbuscular mycorrhizal propagules with soil properties of some millisoils of Northern India. *Mycorrhiza*, **5**, 201-203.
- REA E., M. TULLIO, 2001. Arbuscular Mycorrhizae: a natural answer to fertilisation need. *Recent Research in Developmental Plant Biology*, **1**, 1-15.
- REDDY M.S., K. NATARAJAN, 1994. Effect of a synthetic pyrethroid on the growth of ectomycorrhizal fungi and mycorrhiza formation in *Pinus-Patula*. *Mycorrhiza*, **5**, 115-117.
- REID C.P.P., 1979. Mycorrhizae: a root-soil interface in plant nutrition. In: Microbial-plant interactions. (R.L. Todd, J.E. Giddens Eds). ASA Special Publication 47, ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI. pp 29-50.
- ROMISONDO P., P. MANZO, A. TOMBESI, 1983. Scelta delle cultivar. aspetti della tecnica colturale e loro riflessi sulla qualità delle produzioni. *Proceedings of the International Meeting on Hazelnut*, Avellino, Italy, pp 395-405.
- SCHENCK N.C., PEREZ Y. 1990. Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi, 3rd edn. Synergistic, Gainesville.
- SCORTICHINI M., 2002. Recenti acquisizioni sulle malattie batteriche del nocciolo in Italia. *Atti del 2º Convegno Nazionale sul Nocciolo*, Giffoni Valle Piana (SA), pp 62-66.
- THOMAS L., B.C. MALLESHA, D.J. BAGYARAJ, 1994. Biological-control of damping-off of cardamom by the VA mycorrhizal fungus, *Glomus fasciculatum*. *Microbiological Research*, **149**, 413-417.

- THOMSON B.D, A.D. ROBSON, L.K. ABBOTT, 1992. The effect of longterm applications of P-fertilizers on populations of Vesicular-Arbuscular mycorrhizal fungi in pastures. *Australian Journal of Agricultural Research*, **43** (5), 1131-1142.
- TOUS J., M. ROVIRA, J. PLANA, 1987. El cultivo del Avellano. *Fruticultura Profesional*, **11**, 115-123.
- VEERASWAMY J., T. PADMAVATHI, K. VENKATESWARLU, 1992. Effect of selected insecticides on plant-growth and mycorrhizal development in sorghum. *Agriculture Ecosystems and Environment*, **43** (3-4), 337-343.
- WAN M.T., J.E. RAHE, 1998. Impact of azadirachtin on *Glomus intraradices* and vesicular-arbuscular mycorrhiza in root inducing transferred DNA transformed roots of *Daucus carota*. *Toxicological and Environmental Chemistry*, **17**, 2041-2050.
- WHIPPS J.M., 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, **52**, 487-511.
- WHIPPS J.M., 2004. Prospect and limitations for mycorrhizas in biocontrol of root pathogens. *Canadian Journal of Botany*, **82**, 1198-1227.
- YAO M.K., R.J., TWEDDEL, H. DESILETS, 2002. Effect of two vesicular arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of micropropagated potato plantlets and on the extent of disease caused by *Rhizoctonia solani*. *Mycorrhiza*, **12**, 235-242.