

*Acremonium byssoides*¹: endofita fungino in *Vitis vinifera**

S. BURRUANO e L. TORTA

ABSTRACT - *Acremonium byssoides*: an endophytic fungus in *Vitis vinifera* - An asymptomatic colonization of leaf tissue of grapevine by *Acremonium byssoides* is reported for the first time. The interaction between *A. byssoides* and *Plasmopara viticola* in leaf tissue of *Vitis vinifera* is also discussed. Some morphological and ecological features of *Acremonium* spp. are stressed.

Key words: *A. byssoides*, antagonism, endophitism

Ricevuto il 30 Giugno 1998
Accettato il 25 Luglio 2000

Il genere *Acremonium* Link: Fr. comprende funghi mitosporici, caratterizzati da un esile micelio ialino, a crescita lenta, con fialidi perlopiù semplici, allungate ed appuntite, erette (ortotropiche), emergenti direttamente dal substrato (falacrogene), da fasci di ife aeree (plectonematogene) o da cordoni ifali (sinematogene). Qualora si differenzino fialidi composte, le ramificazioni rimangono confinate nella porzione basale del conidioforo (basitono). I conidi per lo più unicellulari, eccezionalmente bicellulari, possono essere ialini o pigmentati, riuniti da una sostanza mucillaginosa in glomeruli o in catene. I teleomorfi appartengono a numerosi gruppi di ascomiceti (HAWKSWORTH *et al.*, 1995).

Il genere è stato rivisto e delimitato da GAMS (1971, 1975) successivamente da DOMSCH *et al.* (1980) i quali lo hanno caratterizzato e separato dai generi affini.

Al genere *Acremonium*, che si distingue per una complessa ecologia, appartengono oltre cento specie normalmente saprotrofe, capaci d'instaurare anche rapporti di simbiosi mutualistica o antagonistica con un vasto gruppo di organismi autotrofi ed eterotrofi. Al suddetto genere, sino a pochi anni fa, si ascrivevano, quali simbionti mutualistici ecologicamente obbligati di *Lolium* sp. e *Festuca* sp. (SIEGEL *et al.*, 1985), le specie *A. lolii* Latch *et al.* e *A. coenophialum* Morgan-Jones e W. Gams, oggi denominate rispettivamente *Neothyphodium lolii* (LATCH *et al.*) e *Neothyphodium coenophialum* (MORGAN-JONES, W. GAMS) Glenn *et*

al.

L'associazione esistente tra i suddetti funghi ed i relativi ospiti è stata descritta come mutualistica in quanto i funghi, vivendo asintomaticamente all'interno delle piante ospiti, producono alcuni alcaloidi che sembrano conferire resistenza agli insetti nocivi. Più in generale, le piante ospiti mostrano sia un incremento di crescita, sia una maggiore tolleranza verso i diversi stress ambientali (SIEGEL *et al.*, 1985; WHITE, COLE, 1985; JOHNSON *et al.*, 1986; SIEGEL *et al.*, 1987). Le suddette specie endofite producono, inoltre, alcune sostanze ritenute responsabili delle sindromi tossiche riscontrate a carico del bestiame che si nutre di *Lolium* e *Festuca* infette (NEILL., 1940 e 1941; BACON *et al.*, 1977; SIEGEL *et al.*, 1986; JOHNSON *et al.*, 1986).

Tra gli endofiti antagonisti, detti altrimenti patogeni (PETRINI, 1986), si annoverano: *A. strictum* W. Gams, *A. kjiliense* Grutz, *A. zonatum* (Savoda) Gams e *A. diospori* Gams.

A. strictum è stato segnalato come patogeno della carota (LEBEDA *et al.*, 1987), del pisello (KAMLESH *et al.*, 1987), del sorgo (BANDYOPADHYAY *et al.*, 1987) e del crisantemo (CHASE, 1979); in associazione con *Fusarium moniliforme*, è stato, inoltre, isolato da piante di mais affette da marciume dello stelo (RAUL, LAL, 1976). *A. kiliense*, associato ad altri microrganismi, è stato indicato come causa di marciume basale nelle colture di riso (BESSI, DE CAROLIS, 1974), avvizzimento della canna da zucchero (SATTAR, ALI,

¹ Recenti studi in collaborazione con W. Gams, tuttora in corso, inducono a ritenere che l'esatta specie sia *Acremonium persicinum* (Nicot) W. Gams.

* Lavoro eseguito con fondi dell'Assessorato Regionale Agricoltura e Foreste: "Lotta fitosanitaria integrata".

1981), lesioni su frutti di melo refrigerati (COULOMBE, 1976) e dermatiti nell'uomo (BRADY, 1983). *A. zonatum*, identificato come patogeno di *Eichhornia crassipes*, è impiegato quale agente di biocontrollo nei confronti della suddetta infestante erbacea. Lo stesso è stato rilevato, inoltre, quale agente causale di macchie necrotiche a carico di foglie di caffè e di numerose altre fanerogame (GALBRAITH, 1987). *A. diospyri* è stato indicato come agente del deperimento della quercia (THOMAS, BOZA, 1984). A tale gruppo, potrebbero essere ascritti anche alcune specie di *Acremonium* (in particolare diversi isolati di *A. strictum*) riscontrate in associazione con insetti, ma le cui attività entomopatogene non sono state definitivamente accertate (PELEGATTI *et al.*, 1983). Sono noti anche comportamenti iperparassitari di alcune specie di *Acremonium* verso funghi d'interesse fitopatogeno. *A. alternatum* Link: Fr., *A. acutatum* W. Gams, *A. byssoides* W. Gams e *A. strictum*, sono stati isolati rispettivamente dal micelio di *Sphaeroteca fuliginea* su zucca (MALATHRAKIS, 1985), di *Pseudocercospora atrarginalis* su patata, di *Oidium hevea brasiliensis* (GAMS, 1975) e di *Mucor racemosus* (CHATURVEDI *et al.*, 1990) ed *Helminthosporium* spp. (DOMSCH *et al.*, 1980).

Tra le suddette specie iperparassite, *A. byssoides* è stato recentemente isolato dai tessuti fogliari di vite cv. Regina bianca inoculati in laboratorio con sospensioni di zoospore di *P. viticola* (BURRUANO *et al.*, 1988a).

Le indagini, condotte presso l'Istituto di Patologia Vegetale di Palermo, hanno evidenziato che i filamenti miceliari di *A. byssoides* imbrigliavano i rami sporangiofori di *P. viticola*, contemporaneamente o subito dopo l'evasione del patogeno; successivamente è stato osservato sia un progressivo accrescimento dell'ifomicete sia un'intensa sporulazione (Fig.1), determinanti un completo abbattimento delle fruttificazioni del patogeno sui tessuti fogliari. È stato ipotizzato, quindi, un probabile comportamento antagonista di *A. byssoides* verso *P. viticola* come confermerebbero sia la riduzione della germinabilità dei microsporangii del patogeno, rilevata in vitro in sospensioni conidiche di *A. byssoides*, sia la parassitizzazione diretta delle ife sporangiofore di *P. viticola*, osservata al microscopio ottico (BURRUANO *et al.*, 1988b).

Nel corso delle indagini, inoltre, è stata notata la presenza di *A. byssoides* in prossimità delle nervature, in tessuti fogliari non infetti da peronospora. Nota la presenza di funghi endofiti nel genere *Vitis* (CARDINALI *et al.*, 1984), si è ritenuto opportuno, quindi, indagare sull'effettiva localizzazione del fungo.

A tale proposito, sono stati effettuati isolamenti da foglie di vite apparentemente sane. Le foglie sono state raccolte in due epoche differenti (8/7 e 10/10/1997) da piante delle cv.s Regina bianca e Catarratto, site rispettivamente nel giardino annesso all'Istituto di Patologia Vegetale di Palermo e in un vigneto in località Mazara del Vallo (Trapani). Per entrambe le cultivar sono state scelte a caso dieci

piante sane e da ciascuno di esse sono state prelevate due foglie che, in laboratorio, sono state sterilizzate in superficie secondo la tecnica descritta da PETRINI (1986), lievemente modificata. Da tutte le foglie, mediante un foratappi di 0,6 cm di diametro, sono stati asportati sterilmente dieci dischetti di tessuto fogliare, cinque dalle zone internervali e cinque in corrispondenza delle nervature centrali (CARDINALI *et al.*, 1994). I dischetti sono stati seminati in piastre Petri contenenti 15 ml circa di agar-malto al 2% e posti ad incubare alla temperatura di 22-24 °C.

Dai primi isolamenti, già dal terzo giorno successivo alla semina, in prossimità delle nervature centrali ed indipendentemente dalla cultivar impiegata, si sono sviluppate colonie di *A. byssoides*, nel 5% dei saggi. Il fungo, inizialmente, produceva filamenti biancastri che tendevano a diramarsi nelle zone epidermiche internervali (Fig.2). Dopo una settimana circa dallo isolamento, il micelio di *A. byssoides* iniziava a colonizzare il mezzo colturale, sporificando nell'arco di ulteriori dieci-quindici giorni. Dieci frammenti fogliari nei quali si erano evidenziate tracce di *A. byssoides* (rari filamenti miceliari in prossimità delle nervature), che dopo quindici giorni dal saggio dello isolamento non aveva ancora colonizzato il mezzo colturale, sono stati inoculati con una sospensione piuttosto concentrata di zoospore di *P. viticola* (4x 10⁴ ml), allo scopo di seguire giornalmente l'eventuale evoluzione dell'infezione. Dopo una settimana dall'inoculazione dei frammenti, soltanto in due di essi, sono comparsi sparuti rami sporangiofori, localizzati limitatamente ai margini delle zone d'inoculo (Fig. 3), mentre nelle porzioni centrali di quest'ultime si notavano ciuffi miceliari di *A. byssoides*; nel contempo è stato osservato un incremento notevole dello sviluppo miceliare dello stesso sia sulle nervature, sia nelle zone internervali. Sembra, quindi, che le ferite provocate nelle foglie mediante il foratappi, abbiano stimolato l'evasione e la crescita di *A. byssoides* anticipandone l'attività antagonista nei riguardi di *P. viticola* già in fase di inoculazione, oltre che in fase di evasione come precedentemente osservato. L'ipotesi di una inibizione anticipata, inoltre, sembra essere confermata dalla presenza di zone di necrosi puntiformi, in corrispondenza di alcune delle rime stomatiche dei suddetti frammenti fogliari (Fig. 4). Tali necrosi, evidenziando l'interruzione del processo infettivo del patogeno, potrebbero derivare da una degenerazione dei tubuli germinativi delle zoospore o delle rime stomatiche.

Nei saggi eseguiti in ottobre la comparsa dell'ifomicete si è avviata sempre intorno al terzo giorno successivo al saggio, ma si è rilevato un incremento notevole del numero totale delle colonie; in particolare nelle foglie della cv. Regina bianca la percentuale di comparsa di *A. byssoides* è stata dello 88% nelle zone nervali e del 57% in quelle internervali, mentre nelle foglie della cv. Catarratto è stata rispettivamente del 98 e 92%.

Questi risultati inducono ad ipotizzare il comportamento endofitico di *A. byssoides* nei tessuti fogliari di vite, rilevando una localizzazione preferenziale in

prossimità delle nervature, come già evidenziato per altri endofiti fungini (CARDINALE *et al.*, 1994). In ogni caso è stato osservato che l'endofita sporula sui tessuti fogliari solo in presenza di fruttificazioni del patogeno; nessuna traccia di fialidi o conidi è stata, infatti, mai osservata nei tessuti fogliari inden-

ni. Di contro *P. viticola* in tessuti fogliari non infetti da *A. byssoides*, in laboratorio, evade più velocemente ricoprendo per intero la zona d'inoculo e, nel contempo, rimane vitale per oltre un mese dopo l'inoculazione.

Le osservazioni effettuate, anche se preliminari ed

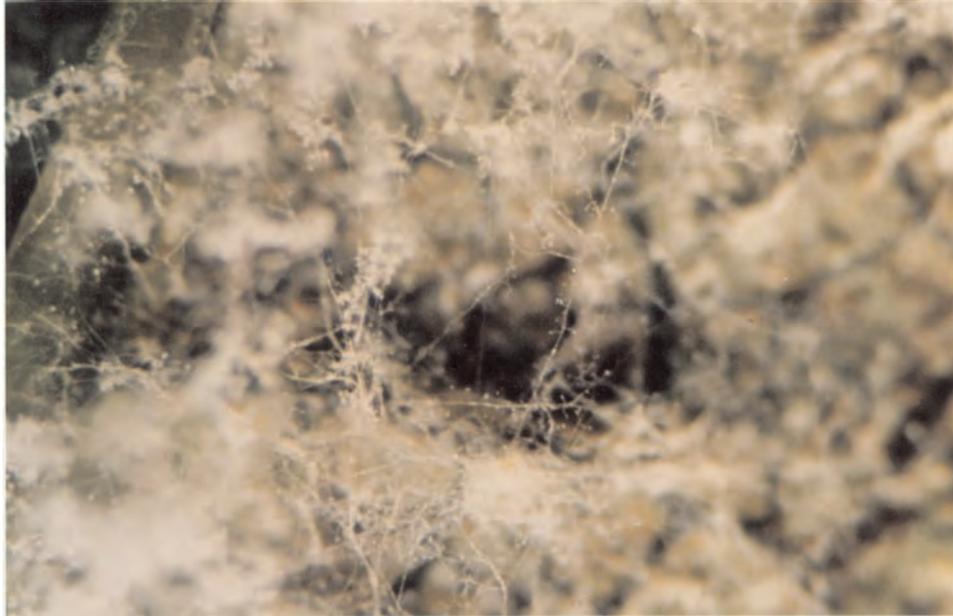


Fig. 1
Micelio di *Acremonium byssoides*, con evidenti glomeruli conidici, imbriglianti rami sporangiofori di *Plasmopara viticola*.
Mycelium of *A. byssoides*, with evident conidial glomerules, enveloping sporangiophores of *P. viticola*.



Fig. 2
Iifa di *A. byssoides* emergente dalla nervatura centrale verso il tessuto epidermico internervale.
Hypha of *A. byssoides* rising from the mid-rib to the epidermic leaf tissue.

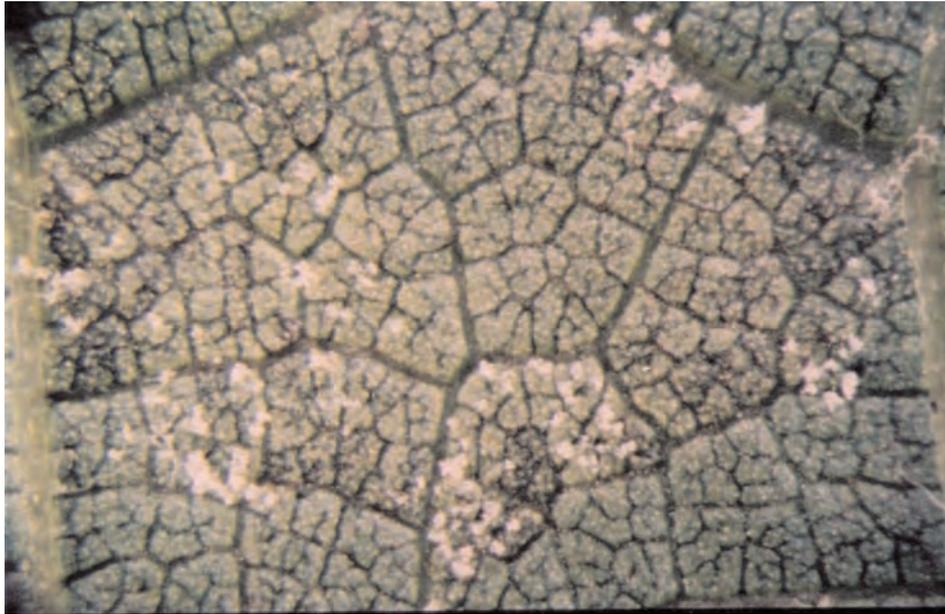


Fig. 3
Rami sporangiofori di *P. viticola* al margine della zona d'inoculo del patogeno.
Sporangiophores of *P. viticola*, at the edge of pathogen inoculated leaf tissue.

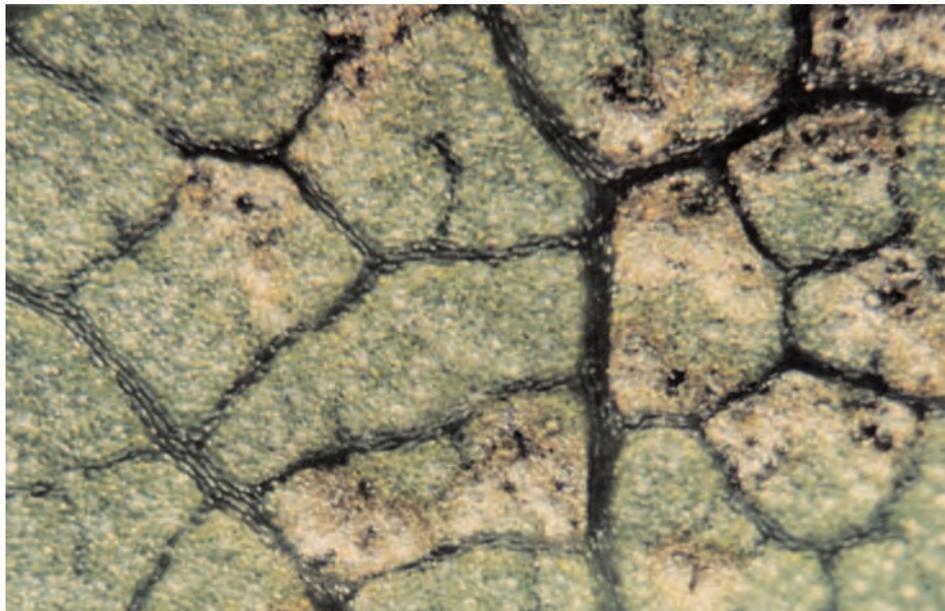


Fig. 4
Zone di necrosi nel tessuto fogliare inoculato con zoospore di *P. viticola*.
Necrotic areas on leaf tissue inoculated by zoospores of *P. viticola*.

incomplete, riconfermano l'associazione antagonista tra *A. byssoides* e *P. viticola*, sottolineando l'importanza della diversa velocità di crescita sull'entità dell'effetto antagonista, ed evidenziano, nel contempo, la probabile simbiosi mutualistica ed endofitica tra *A. byssoides* e *V. vinifera*.
Ulteriori indagini sono in corso, allo scopo di defini-

re le relazioni tra i tre bionti.

LETTERATURA CITATA

- BACON C.W., PORTER J.K., ROBBINS J.D., LUTTRELL E.S., 1977 – *Epichloe thyphina* from toxic tall fescue grasses. *Appl. Environ. Microbiol.*, 34: 576-581.
BANDYOPADHYAY R., MUGHOGHO L. K., SATYANARAYANA M. V., 1987 – *Systemic infection of sorghum by*

- Acremonium strictum and its transmission through seed. Plant Disease, 71 (7): 647-650.
- BESSI G., DE CAROLIS C., 1974 – *Funghi correlati al marciume basale del riso*. Riso, 233 (3): 299-307.
- BRADY B.L., 1983 – *Acremonium kiliense*. CMI Description of Pathogenic Fungi and Bacteria. Set 75, N° 741.
- BURRUANO S., CONIGLIARO G., TORTA L., 1998a – *Associazione tra Acremonium byssoides e Plasmopara viticola*. Micologia Italiana, 1: 86-89.
- , 1998b – *Indagini preliminari sull'interazione tra Acremonium byssoides e Plasmopara viticola in foglie di vite*. Atti giornate fitopatologiche 1988, Scicli-Ragusa, 3-7 maggio 1988, 537-540. Edizioni Baiesi snc - Bologna.
- CARDINALI S., GOBBO F., LOCCI R., 1994 – *Endofiti fungini in tessuti fogliari di vite*. Micologia Italiana, 1: 81-84.
- CHASE A. R., 1979 – *Acremonium wilt of Shasta daisy*. Plant Path., 47: 1-3.
- CHATURVEDI A.P., PANDEY R.R., DAYAL R., 1990 – *Morphological abnormalities in Mucor racemosus Fresenius induced by Cephalosporium acremonium Corda during mycoparasitism*. Microbios Letters, 44 (173): 45-49.
- COULOMBE L.J., 1976 – *Acremonium kiliense Grutz and Alternaria alternata (Fr.) Keissler, two casual agents of storage rot in McIntosh apples*. Phytoprotection, 57 (1): 33-35.
- DHINGRA R., EHROTRA R.S., ANEJA K.R., 1980 – *An unrecorded fruit rot of orange (Citrus reticulata Blanco)*. Current Sci., 49 (8): 329.
- DOMSCH K.H., GAMS W., ANDERSON T.H., 1980 – *Compendium of soil fungi*. Academic Press, London.
- GALBRAITH J. C., 1987 – *The pathogenicity of an Australian isolate of Acremonium zonatum to water hyacinth, and its relationship with the biological control agent, Nectochetia eichhorniae*. Austr. J. Res., 38 (1): 219-229.
- GAMS W., 1971 – *Cephalosporium-artige Schimmelpilze (Hyphomycetes)*. G. Fisher, Stuttgart, 262 pp.
- , 1975 – *Cephalosporium-like Hyphomycetes: Some tropical species*. Trans. Br. Mycol. Soc., 64 (3): 389-404.
- GLENN A.E., BACON C.W., PRICE R., HALIN R.T., 1996 – *Molecular Phylogeny of Acremonium and its taxonomic implications*. Mycologia, 88 (3): 369-383.
- HAWKSWORTH D.L., KIRK P.M., SUTTON B.C., PEGLER D.N., 1995 – *Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi*. CAB International, Wallingford, U.K., 4.
- JOHNSON M.C., BUSH I.P., SIEGEL M.R., 1986 – *Aphid feeding deterrence associated with pyrrolizidine alkaloids present in endophyte-infected tall-fescue*. Phytopathology, 76: 1057.
- KAMLESH M., SHEKHAWAT K.S., SIRADHANA, B.S., 1987 – *Acremonium wilt of pea a new record*. Vegetable Sci., 14 (2): 206-208.
- LEBEDA A., MARVANOVA L. BUCZKOWSKI J., 1987 – *Acremonium strictum, a new potential pathogen in carrot flower stems*. Zeit. Pflanzenkr. Pflanzensch., 94 (3): 314-321.
- MALATHRAKIS N.E., 1985 – *The fungus Acremonium alternatum Linct Fr., a hyperparasite of the cucurbits powdery mildew pathogen Sphaeroteca fuliginea*. Zeit. Pflanzenkr. Pflanzensch., 92 (5): 509-512.
- NEILL J. C., 1940 – *The endophyte of Rye-Grass (Lolium perenne)*. N. Z. J. Sci. Technol., 22: 280-291.
- , 1941. – *The endophytes of Lolium and Festuca*. N. Z. J. Sci. Technol., 23: 185-195.
- PELEGATTI O., DEL FRATE G., CARETTA G., 1988 – *Funghi isolati da insetti e acari*. Redia, LXXI (1): 255-266.
- PETRINI O., 1986 – *Taxonomy of endophytic fungi of aerial plant tissues*. In: FOKKEMA N. J., VAN DEN HEUVEL J. (Eds.), *Microbiology of the Phyllosphere*. Cambridge University Press.
- RAYU C.A., LAL S., 1976 – *Relationship of Cephalosporium acremonium and Fusarium moniliforme with stalk rots of maize*. Indian Phytopathol., 29 (3): 227-231.
- SATTAR M.A., ALI S., 1988 – *Etiology of wilt disease of sugarcane*. Sugarcane Pathol. Newslet., 26: 35-37.
- SIEGEL M.R., LATCH G.M., JOHNSON M.C., 1985 – *Acremonium fungal endophytes of tall-fescue and perennial ryegrass: Significance and Control*. Plant Dis., 69: 179-183.
- SIEGEL M. C., LATCH G. C. M., JOHNSON M. C., 1987 – *Fungal endophytes of grasses*. Ann. Rev. Phytopath., 25: 293-315.
- SMITH J. D., DAVIDSON J. G. N., 1979 – *Acremonium boreale n.sp., a sclerotial low-temperature-tolerant, snow mold antagonist*. Can. J. Bot., 57 (20): 2122-2139.
- THOMAS W.D.JR., BOZA C.A., 1984 – *The oak decline complex*. J. Arbor., 10 (6): 170-177.
- WHITE J. F. JR., COLE G.T., 1985 – *Endophyte-host associations in forage grasses. I. Distribution of fungal endophytes in some species of Lolium and Festuca*. Mycologia, 77 (2): 323-326.

RIASSUNTO – Si segnala, per la prima volta, la colonizzazione asintomatica dei tessuti fogliari di *Vitis vinifera* ad opera di *Acremonium byssoides* e si evidenzia il tipo di interazione esistente tra quest'ultimo e *Plasmopara viticola* nei predetti tessuti. Vengono descritte, inoltre, le caratteristiche morfologiche ed ecologiche di alcune specie del genere *Acremonium*.

AUTORI

Santella Burruano, Livio Torta, Istituto di Patologia Vegetale, Università di Palermo, Viale delle Scienze 2, 90128 Palermo