

**Relazione del Dr. Antonio Moretti per il periodo di ricerca svolto dal 3 al 24 Ottobre 2014 presso il Seed Science Center, del College of Agriculture and Life Sciences presso la Iowa State University, nell'ambito del Programma CNR Short Term Mission 2014.**

**Titolo del programma:** “Studio della patogenicità e della diversità genetica di specie fungine tossigene del complesso di specie *Aspergillus niger* contaminanti il mais”

La ricerca svolta presso il Seed Science Center (SSC) aveva come principale obiettivo la caratterizzazione genetica, attraverso un approccio multi-genico di ceppi fungini isolati da mais in USA e Italia rappresentativi delle principali specie del complesso *Aspergillus niger*. Inoltre, un altro obiettivo era di conoscere il loro grado di patogenicità su mais e il loro contributo ad accumulare nelle cariossidi di mais le fumonisine di tipo B (FBs), sostanze cancerogene legate a numerose malattie dell'uomo e degli animali. Infine, come ultimo obiettivo, bisognava valutare il profilo delle FBs prodotte da ciascuna specie e verificare, per ceppi rappresentativi di ciascuna specie, la presenza/assenza di *fum8*, un gene chiave del pathway biosintetico delle FBs.

Circa 100 ceppi fungini, già isolati da mais coltivato in Italia e USA (50 dall'Italia e 50 dall'USA), disponibili presso ISPA e SSC, identificati morfologicamente come complesso *A. niger*, sono stati sequenziati per i geni *housekeeping* Beta-tubulina, calmodulina e fattore di elongazione-alpha. Le analisi sono partite da DNA già estratto presso SSC. I dati complessivi di sequenza dei tre geni considerati hanno permesso l'identificazione di 3 gruppi principali: *A. welwitschiae* (syn. *A. awamori*, 15%), *A. tubingensis* (40%) and *A. niger* (45%). La composizione delle specie variava in funzione dell'origine geografica essendo *A. niger* predominante fra gli isolati USA (70%), e meno frequente fra quelli Italiani (40%). D'altro canto, *A. tubingensis* e *A. welwitschiae* erano presenti a percentuali più alte nella popolazione Italiana (45% and 15%, rispettivamente) rispetto a quella USA (25% e 5%).

L'analisi della produzione *in vitro* di FB<sub>2</sub>, eseguita tramite HPLC su colture di mais precedentemente inoculate ed estratte dai colleghi del SSC, ha evidenziato che vi era un'alta percentuale di ceppi fungini, circa il 55%, in grado di produrre FB<sub>2</sub>, appartenente alle due specie “sister” *A. niger* e *A. welwitschiae*. Questa capacità a produrre FB<sub>2</sub>, verificata *in vitro*, ha confermato che le specie del complesso *Aspergillus* sect. *Nigri* possono contribuire alla contaminazione finale totale del mais. Comunque, mentre gli isolati produttori di FB<sub>2</sub> appartenenti ad *A. niger* erano intorno al 70%, nell'ambito di *A. welwitschiae* solo circa il 30% dei ceppi è stato in grado di produrre FB<sub>2</sub>. Alcuni ceppi rappresentativi delle due specie sopra indicate sono stati analizzati geneticamente con *primer* specifici per identificare nel genoma l'eventuale

presenza/assenza del gene *fum8*, un gene chiave per la sintesi delle FBs, evidenziando come nell'ambito di *A. niger*, tutti i ceppi, produttori e non produttori di FB<sub>2</sub> *in vitro*, hanno nel proprio genoma il gene *fum8*, mentre in *A. welwitschiae* possono coesistere 2 popolazioni di ceppi fungini, una con ceppi produttori e non di FB<sub>2</sub> *in vitro* e recanti *fum8*, l'altra con ceppi fungini non produttori *in vitro* della micotossina e mancanti *fum8*.

Infine, pannocchie di mais inoculate in campo alla fioritura da parte dei colleghi del SSC con isolati rappresentativi di *A. niger* e *A. welwitschiae*, sono state valutate per la presenza di sintomi da "black Aspergilli" e confrontate con i controlli per quantificare l'accumulo nelle cariossidi di FBs e relative specie produttrici appartenenti sia al genere *Aspergillus*, sia al genere *Fusarium*. Le osservazioni hanno evidenziato una moderata espressione di sintomi da parte di entrambe le specie sulle pannocchie di mais e un accumulo di FB<sub>2</sub> non rilevante rispetto a quello causato dalle specie di *Fusarium* analizzato nei controlli inoculati solo da specie di *Fusarium* produttrici. di FBs.

Bari, 18 Dicembre 2014

In fede



Dott. Antonio Moretti

Primo Ricercatore ISPA