

Bari, 15 Gennaio 2013

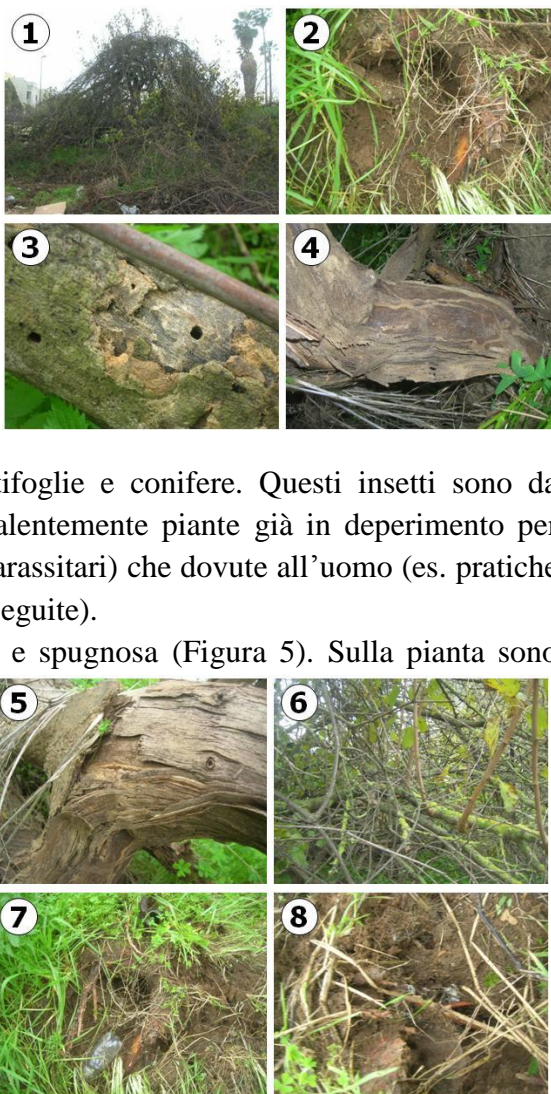
Gent.ma Dott.ssa Roberta Forte,

di seguito riporto le considerazioni riguardanti le osservazioni e indagini fitopatologiche eseguite sul gelso di via Ugo Lisi in Galatina allo scopo di valutare lo stato sanitario della pianta e la sua trapiantabilità in altro luogo.

Al fine di ottenere dati utili per accertare lo stato fitosanitario della pianta, il 15 dicembre 2012 si è provveduto sia all'accertamento visivo delle condizioni generali della pianta, sia al prelievo di materiale idoneo all'esecuzione di analisi diagnostiche atte a identificare eventuali infezioni in atto.

La pianta si presenta riversa sul terreno (Figura 1), con il colletto scalzato e con parte delle radici principali recise (Figura 2) e fuori dal terreno. La porzione della pianta "adagiata" sul terreno evidenzia, sulla corteccia, fori del diametro variabile da 0,4 a 1,2 cm (Figura 3). La corteccia di queste porzioni si distacca facilmente e mostra il lato interno della stessa e il legno adiacente, percorsi da cunicoli e gallerie di proliferazione e larvali (Figura 4) dovute a insetti xilofagi (presumibilmente scoltidi, larve di Rodilegno). Gli scoltidi, insieme a altri insetti xilofagi, sono specie fleofage (utilizzano come sede riproduttiva il floema) o xilomicetofage (si sviluppano nei tessuti legnosi) di disparati organi vegetali su latifoglie e conifere. Questi insetti sono da considerarsi parassiti secondari, perché attaccano prevalentemente piante già in deperimento per cause sia naturali (freddi intensi, stress idrici, attacchi parassitari) che dovute all'uomo (es. pratiche agro-selvicolturali, potature, ecc., erroneamente o non eseguite).

Il legno delle parti morte ha consistenza friabile e spugnosa (Figura 5). Sulla pianta sono presenti le ultime foglie in parte ingiallite e disseccate, segno della stagione vegetativa appena trascorsa. La pianta mostra succhioni oltre che formazioni a rosetta con rami affastellati con internodi raccorciati (Figura 6). L'apparato radicale è in parte esterno al terreno, presenta alcune delle radici principali recise (Figura 7) e avvolte da un feltro biancastro (Figura 8). L'emissione del succhione, nella fisiologia delle piante legnose, è un fenomeno di compensazione tra un principio di squilibrio fra apparato radicale e vegetativo aereo.



Infatti, l'emissione di succhioni avviene in modo intenso quando la chioma subisce una drastica e improvvisa a causa di traumi meccanici, incendi, interventi cesori più o meno drastici. La rosetta è sintomo di alcune malattie parassitarie o di anomale condizioni edafiche.

Campioni sono stati prelevati dai rami principali disseccati, dai polloni, dai rami di 3-5 anni e dalle radici principali recise.

In laboratorio, dopo accurata osservazione macro- e microscopica, i campioni, ripuliti della parte esterna, sono stati sottoposti a tecniche di isolamento per l'accertamento della eventuale presenza di funghi fitopatogeni.

Le operazioni di isolamento sono state eseguite in ambiente sterile. Infatti, si è operato in una cappa a flusso laminare e gli strumenti utilizzati (lame, bisturi, coltelli, anse e pinze) sono stati sterilizzati per immersione in alcool etilico e "flambatura" alla fiamma di un Bunsen.

I seguenti substrati sono stati utilizzati: Agar-Acqua (AA), Patate-Destrosio-Agar addizionato con 0,06 g/l di streptomicina per prevenire eventuali contaminazioni batteriche (PDA), Agar-Malto (AM), Agar-Malto selettivo per basidiomiceti con l'aggiunta di tiabendazolo (AMT).

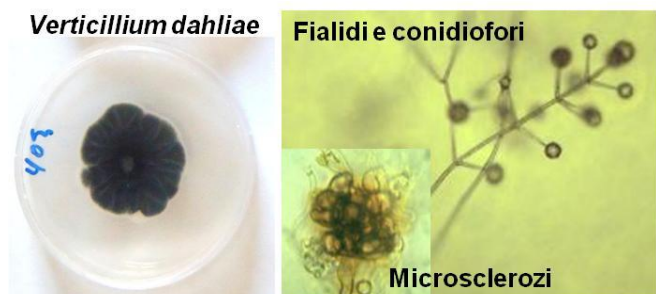
Da ciascun campione di ramo e di radice sono stati prelevati frammenti (circa 2 mm<sup>3</sup>) di tessuto legnoso e trapiantati in capsule Petri (5 frammenti per piastra) contenenti substrato AA, PDA o AM o AMT. Per ciascun campione sono state preparate tre piastre. Tutte le piastre preparate per l'isolamento sono state incubate a 25±1°C, al buio.

Le colonie sviluppatesi dopo 5, 7 e 10 giorni sono state trasferite sui substrati PDA e AM ed incubate in termostato (25 ± 2 °C, al buio) per consentire lo sviluppo di colture axeniche e la produzione di strutture moltiplicative e/o riproduttive.

L'identificazione delle specie fungine isolate è stata effettuata in base ai criteri macro- e microscopici e con l'aiuto di chiavi tassonomiche pertinenti. I caratteri microscopici delle colonie sono stati valutati attraverso osservazioni in campo chiaro utilizzando un fotomicroscopio Zeiss (mod. standard 16) a 250 e 400 ingrandimenti. Sono stati allestiti preparati in goccia d'acqua o in soluzione di acqua-glicerina-acido lattico (1:1:1; v/v/v) o in glicerolo o in lattofenolo blu.

Le colonie prevalenti sono di seguito descritte.

Dai frammenti di ramo sono state isolate colonie che, trasferite su terreno di coltura PDA, si sviluppavano micelio prima biancastro, poi grigio scuro, il cui micelio, osservato al microscopio ottico, appariva costituito da ife ialine e rami conidiofori costituiti da 2 verticilli, ciascuno dotato di 3 fialidi, lunghe 16,8-30,7 × 1,1-2,4 (media: 20,9 × 1,5) µm. I conidi prodotti alle estremità delle fialidi erano unicellulari e ialini, di forma ellittica e dimensioni di 3,9-7,2 × 1,7-2,8 (media: 5,1 × 2,2) µm. Al centro delle colonie producevano numerosi microsclerozi neri, di forma irregolare, da parzialmente sferica ad allungata, con dimensioni di 29-76 × 14-52 (media: 49 × 28 µm). Le osservazioni descritte consentivano di identificare questo fungo come *Verticillium dahliae* Klebahn agente di tracheomicosi.



Alcune delle colonie isolate dal legno degradato, su substrato di AMT mostravano struttura vegetativa costituita da ife ialine e settate, irregolarmente fibulate con ife conidiofore claviformi che si dipartono dalle ife vegetative presenti sulla superficie del substrato. Le ife conidiofore producono conidi sessili, ialini di dimensioni 4,8-6,6×3,6-5,0 µm. Queste colonie sono state identificate come *Spiniger meinekellus* (A.J. Olson) Stalpers la forma anamorfa di specie di *Heterobasidion* agenti di carie del legno.

***Heterobasidion* sp.**



ciuffetti di micelio

Dai frammenti di radice sono state isolate colonie che nelle colture su AM hanno prodotto strutture filiformi riconducibili a tipiche rizomorfe. Queste colonie, individuate come appartenenti al genere *Armillaria*, sono state identificate, dopo le prove di intersterilità con i tester aploidi europei, come *A. ostoyae* (Romagn.) Herink e *A. mellea* (Vahl : Fr.) P. Kummer agenti di marciume radicale fibroso e di carie bianca del legno



**rizomorfe di  
*Armillaria* sp.**



***A. mellea***

Tracheomicosi da *Verticillium dahliae*, carie del legno da *Heterobasidion* e *Armillaria*, e marciume radicale fibroso associato a *Armillaria* rappresentano malattie letali per le non poche piante ospiti dei suddetti patogeni.

*Verticillium dahliae* attacca oltre 300 specie di piante erbacee (per lo più pomodoro, carciofo, patata, peperone melanzana, cotone) e arboree (in particolare olivo, vite, albicocco, gelso). La malattia causa, in genere, il disseccamento di uno o più rami e progressivamente anche dell'intera pianta, soprattutto in giovani piante arboree fino a 10-15 anni di età. Le piante adulte possono anch'esse subire dei danni che sono però limitati ad alcune parti della pianta. I sintomi esterni sono abbastanza appariscenti e iniziano con un parziale disseccamento delle foglie che si piegano a doccia su se stesse, assumono riflessi bronzee e infine seccano. I tessuti legnosi interni mostrano imbrunimenti e necrosi. Il fungo, presente nel suolo, penetra per via radicale, ma può infettare le piante anche per via aerea, utilizzando insetti xilofagi o ferite di vario genere (potatura, grandine, ecc). Nella pianta infetta, il fungo, raggiunge i vasi legnosi e vi si accresce. La pianta risponde alla presenza del fungo con la produzione di tili ce contribuiscono alla chiusura dei vasi. L'ostruzione dei vasi impedisce il regolare flusso della linfa ascendente e quindi si ha il disseccamento di intere parti delle piante a cui non giungono più acqua ed elementi nutritivi in quantità sufficienti.

Interessati alla carie del legno sono gli organi legnosi (*alburno* e *duramen*). Le carie evolvono grazie agli enzimi prodotti dai funghi in grado di demolire la parete delle cellule legnose: alcuni attaccano la cellulosa producendo carie bruna, altri demoliscono prevalentemente la lignina producendo carie bianche. La disgregazione degli organi legnosi produce danni funzionali ed estetici: **a.** disorganizzazione dei tessuti conduttori, che perdono continuità nei punti esterni interessati dalla carie; **b.** alterazione funzionale dei tessuti meccanici, con perdita di resistenza e rischi di rotture e schianti di parti di piante o di piante intere se l'alterazione interessa le radici, il

colletto o la parte bassa del fusto; **c.** formazioni di cavità esterne o interne agli organi legnosi; **d.** disorganizzazione dei *meristemi* cambiali (tessuti le cui cellule, dividendosi, ne generano di nuove) e delle barriere difensive del legno, che non sempre riescono a reagire al processo degenerativo; **e.** lento e progressivo indebolimento fisiologico delle piante colpite; **f.** danni estetici per la formazione di cavità o lesioni esterne nel legno e per l'indebolimento della pianta che manifesta chiome sofferenti. I funghi xilovori, responsabili delle carie, entrano nel legno attraverso le ferite e s'insediano preferibilmente su piante stressate e fisiologicamente non molto efficienti e reattive. All'interno della pianta la diffusione dei funghi xilovori può avvenire sia per via intercellulare, sia attraverso i vasi del tessuto conduttore. Anche molti insetti che aggrediscono il legno delle piante ospiti (Lepidotteri rodilegno e Coleotteri scolitidi) spesso sono attivi propagatori delle carie, passando dai tessuti infetti a quelli sani: questi insetti, spostandosi dalle piante infette a quelle sane, contribuiscono alla diffusione delle carie nell'ambiente. A lungo andare i funghi responsabili delle carie formano i tipici basidiomi (ad esempio, le tipiche mensole sul legno) che producono e diffondono le spore sessuate.

I funghi del genere *Armillaria*, noti con il nome volgare di “chiodini” o “famigliola buona” (per la naturale tendenza a formare cespi di basidiomi), sono tra i più diffusi macromiceti agenti di marciume radicale fibroso e di carie bianca del legno di piante legnose di interesse agrario, forestale ed ornamentale. Il marciume radicale fibroso è caratterizzato da sintomi diversi. Esternamente la corteccia delle grosse radici appare depressa e imbrunita; sotto di essa compaiono placche di micelio di colore bianco-crema, che si insinuano tra il tessuto corticale e il tessuto legnoso, per cui la corteccia finisce per staccarsi facilmente dal legno sottostante. La chioma della pianta appassisce e muore, mentre alla base delle piante attaccate compaiono i corpi fruttiferi del fungo.

A seguito delle suddette indagini e considerazioni si ritiene la pianta fortemente compromessa.

Cordialmente

Dott. Giovanni L. Bruno

