

Le piante colpite da agenti di carie, spesso, sono asintomatiche:



Nemici invisibili

Anna Pisapia

I funghi che provocano carie e marciumi radicali possono sopravvivere a lungo nel terreno, infettando anche gli alberi trapiantati in sostituzione di quelli ammalati. Per *Ganoderma* è stata valutata anche la capacità di infettare ippocastani e tigli su fusto e radici

Tra i più diffusi e pericolosi agenti di carie del tronco e di marciume radicale su diverse specie arboree ornamentali si annoverano *Ganoderma* spp. e *Perenniporia* spp. ⁽³⁾. La perdita delle caratteristiche meccaniche del legno, degradato da questi funghi, è la causa principale di schianti e sradicamenti.

Spesso le piante colpite sono asintomatiche, in quanto la chioma manifesta avvizzimenti o disseccamenti solo quando l'intero apparato radicale è cariato, ma la pianta può risultare meccanica- ►

Testo e foto di Giovanni Nicolotti, Paolo Gonthier, Università di Torino, DIVAPRA, Patologia vegetale; Gabriele Amoroso, Piero Frangi, Fondazione Minoprio, Centro MiRt



◀ mente instabile anche molto tempo prima.

In ambiente urbano, tra i più importanti fattori predisponenti le infezioni di questi funghi vi sono le ferite di potatura, la debolezza cronica delle piante, le condizioni anossiche (con mancata o ridotta possibilità di utilizzazione dell'ossigeno) del terreno dovute al compattamento o all'impermeabilizzazione.

Considerando l'elevata incidenza di questi parassiti nell'arboricoltura urbana e i numerosi casi di recrudescenza su nuovi impianti in corrispondenza di vecchi focolai d'inoculo, è stata impostata una ricerca finalizzata a determinare sia la capacità di sopravvivenza nel suolo allo stato saprofitario di alcuni ceppi di *Ganoderma adspersum* (Schulzer) Donk e *Perenniporia fraxinea* (Bull.) Ryvar den in differenti condizioni di copertura del suolo, sia la capacità infettiva di un ceppo di *Ganoderma adspersum* su giovani piante di tiglio e ippocastano stressate dai diversi regimi idrici applicati.

Metodologia adottata

Si riportano di seguito, in dettaglio, le metodologie adottate per le due indagini sulle quali è stato impostato il lavoro sperimentale.

Capacità di sopravvivenza nel suolo dei due agenti patogeni

Nel mese di giugno 2005, tre ceppi per ciascuna delle due specie fungine sono stati selezionati, sulla base della loro attività vegetativa in vitro, tra un campione di circa 15 isolati. L'inoculo vegetativo è stato preparato infettando 200 tasselli di legno di tiglio (2-5 cm Ø; 10 cm lunghezza) per ciascun isolato dei due funghi, per un totale di 1200 pezzi che sono stati incubati per 40 giorni a 22 °C

e al 75% di umidità relativa in sacchi di polietilene posti in camera termostata.

A colonizzazione avvenuta, si è proceduto all'interramento dei tasselli di legno (luglio 2005) a una profondità compresa tra 40 e 50 cm in buche, disposte per blocchi randomizzati, in tre differenti condizioni di pacciamatura del suolo: con corteccia, con compost, non pacciamato.

Per valutare la capacità di sopravvivenza dell'inoculo è stato effettuato il dissotterramento di 360 tasselli all'anno (20 per ceppo per tipologia di copertura del suolo) nei mesi di settembre 2005, 2006 e 2007. Ogni tassello è stato accuratamente ripulito dai residui di terra

e da esso tre piccoli frammenti sono stati prelevati e inoculati in capsula previa sterilizzazione superficiale⁽⁴⁾. La distinzione di *G. adspersum* e *P. fraxinea* da altri funghi contaminanti è avvenuta sulla base delle caratteristiche morfologiche del micelio e delle unioni a fibbia, così come descritto da Stalpers⁽⁵⁾.

I dati, espressi come percentuale di frammenti positivi per tassello, sono stati elaborati statisticamente. Sono stati considerati positivi tutti quei frammenti dai quali è stato possibile isolare nuovamente il fungo inoculato. I tasselli eventualmente non rinvenuti sono stati considerati come completamente degradati e quindi negativi all'isolamento.



Tasselli interrati a una profondità di 40-50 cm presso il Centro di Minoprio.



Nella pagina a fianco, da sinistra a destra, sporocarpio di *Ganoderma adspersum* e sporocarpio di *Perenniporia fraxinea*; sopra tassello colonizzato dal fungo inserito nel foro al colletto della pianta.
A destra, dall'alto in basso, necrosi e decadimento del legno nel tronco (a) e al colletto (b) causato da *G. adspersum*.



Valutazione dell'infettività di *Ganoderma adspersum*

La prova è stata eseguita su 192 piante di tiglio e di ippocastano (96 per specie in classe diametrica 10 cm), inoculate nel mese di giugno 2005 con un ceppo di *G. adspersum*. Sulle piante, disposte secondo uno schema per blocchi randomizzati con due differenti regimi idrici (irrigate e non irrigate), sono stati eseguiti tre diversi tipi d'inoculazione: sul fusto mediante ferita superficiale, sul fusto mediante ferita profonda, a livello del colletto mediante ferita profonda. Sono state impiegate come controlli e pertanto non sono state inoculate 48 piante (24 tigli e 24 ippocastani), anch'esse suddivise in base al tipo di regime idrico.

Inoculazione sul fusto

Per simulare l'infezione aerea tramite ferita, l'inoculazione sul fusto è avvenuta mediante aspersione delle basidiospore del fungo su ferite superficiali (al di sotto del cambio) e su ferite profonde (al di sotto dell'ultima cerchia annuale), eseguite previa disinfezione della corteccia. Tutte le ferite, dopo l'inoculazione, sono state sigillate con parafilm per evitare contaminazioni e l'eccessiva disidratazione dei tessuti legnosi.

Inoculazione su radici

Per ciascuna pianta sono stati praticati due fori a livello del colletto e sono stati inseriti tasselli di legno di tiglio colonizzati dal fungo.

Dopo 27 mesi tutte le piante sono state ▶

GRAFICO 1 - PERENNIPORIA FRAXINEA: PERCENTUALI MEDIE DI ISOLAMENTI POSITIVI PER I DUE TIPI DI PACCIAMATURA E IL SUOLO NON PACCIAMATO

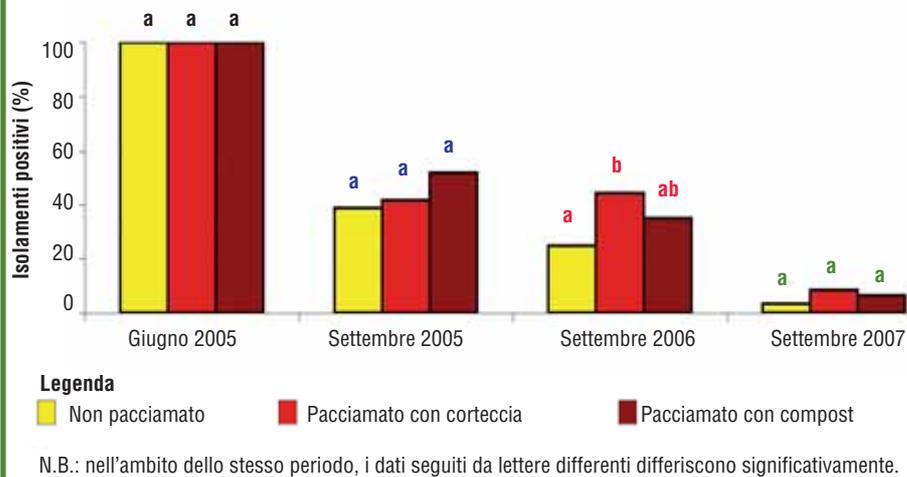
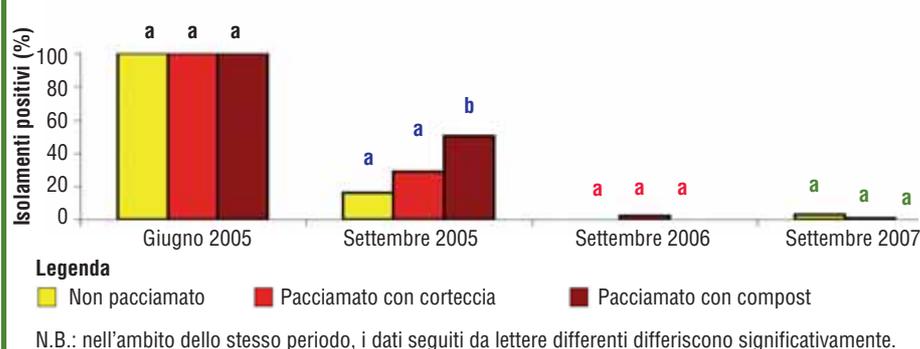


GRAFICO 2 - GANODERMA ADSPERSUM: PERCENTUALI MEDIE DI ISOLAMENTI POSITIVI PER I DUE TIPI DI PACCIAMATURA E IL SUOLO NON PACCIAMATO



◀ analizzate allo scopo di verificare l'eventuale presenza di alterazioni a carico del tessuto legnoso. Le piante inoculate sul fusto mediante ferita superficiale e profonda sono state sezionate con una motosega, 20 cm al di sopra e al di sotto del punto di inoculazione, mentre quelle inoculate a livello del colletto sono state sradicate e tagliate circa 20 cm al di sopra del punto di inoculazione.

Il materiale raccolto è stato sezionato longitudinalmente e sottoposto alla misurazione dell'estensione delle eventuali alterazioni a carico dei tessuti legnosi. Si è quindi proceduto al calcolo della superficie alterata e ad analizzare la significatività statistica dei dati. Il risvolgimento del *G. adspersum* inoculato è stato eseguito, con tecniche tradizionali, da tutte le superfici con alterazioni cromatiche o strutturali del legno. In caso negativo, l'identificazione del fungo è avvenuta con tecniche di biologia molecolare (Nested PCR) ^(1,2).

Risultati

Nel triennio di sperimentazione i dati raccolti hanno consentito di acquisire maggiori conoscenze sia sugli agenti patogeni che sulla reazione all'infezione di ippocastani e tigli.

Capacità di sopravvivenza nel suolo dei due agenti patogeni

La percentuale media di tasselli legnosi risultati positivi a *P. fraxinea* e *G. adspersum* è diminuita significativamente ($p < 0,05$) già tre mesi dopo l'interramento, sebbene *P. fraxinea* abbia mostrato una capacità di sopravvivenza maggiore, essendo in grado di farlo nel suolo per più di 2 anni. Al contrario *G. adspersum* ha praticamente esaurito la vitalità del suo inoculo entro 18 mesi dall'interramento.

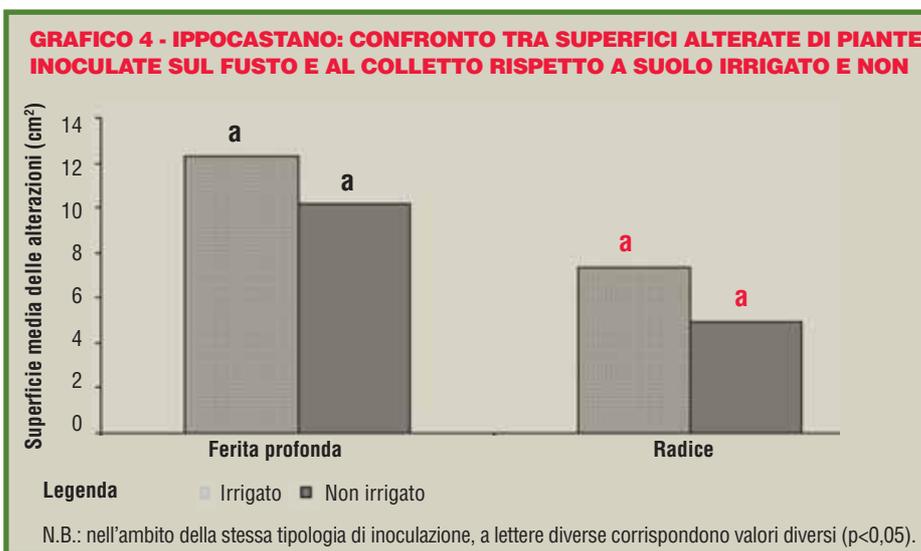
Su *P. fraxinea* la pacciamatura, ininfluente nei primi mesi, acquisisce successivamente un effetto significativo nel favorire la presenza dell'inoculo del fungo. Su *G. adspersum* tale influenza diventa evidente e, nel caso del compost, significativa già a partire dai primi mesi dall'interramento (grafici 1 e 2).

Valutazione dell'infettività di *Ganoderma adspersum*

La vitalità delle spore di *G. adspersum*, utilizzate per l'inoculo al tronco, era di circa l'80% e la concentrazione nella soluzione utilizzata era di $2,66 \times 10^6$ spore/ml.

Al momento dell'abbattimento, l'87% delle piante era vivo e non mostrava alcun sintomo evidente a livello della chioma. L'analisi sullo stato dei tessuti legnosi interni ha rilevato la presenza di alterazioni bruno violacee, a partire dal punto d'infezione, nel 100% delle piante inoculate sul fusto mediante ferita profonda e al colletto. Nessun tipo di alterazione è stata, invece, riscontrata in quelle inoculate sul fusto mediante ferita superficiale e nel controllo.

Non sono state osservate differenze di estensione media delle alterazioni al colletto e al fusto in piante della stessa specie e con mede-



simo regime idrico. Solo nell'ippocastano irrigato le lesioni da ferita profonda sul fusto sono risultate più estese di quelle al colletto.

Suscettibilità di tiglio e ippocastano

Nelle condizioni di suolo irrigato, gli ippocastani inoculati sul fusto (ferita profonda) risultano più suscettibili dei tigli; nessuna differenza significativa è stata, invece, riscontrata fra le due specie nelle condizioni di suolo non irrigato.

Ruolo del regime idrico

Il regime idrico non ha influenzato significativamente l'estensione delle alterazioni né in piante inoculate sul fusto (ferita profonda), né in quelle inoculate al colletto, sia su ippocastano che su tiglio (grafici 3 e 4). Tuttavia, nel caso di quest'ultimo, per entrambe le tipologie di inoculazione, le maggiori alterazioni si sono manifestate negli alberi non irrigati, dove hanno raggiunto valori pari anche a più del doppio di quelli riscontrati nei tigli irrigati. Viceversa, nell'ippocastano, le maggiori alterazioni si sono rilevate nelle piante irrigate, sebbene in questo caso le differenze rispetto a quelle non trattate siano state più conte-

nute, se rapportate a quelle osservate nel tiglio.

L'analisi molecolare mediante Nested PCR ha evidenziato la presenza di *Ganoderma* spp. in corrispondenza delle alterazioni sulle piante inoculate con ferita profonda sul fusto e al colletto, confermando il ruolo attivo del patogeno nelle alterazioni strutturali del legno osservate.

Conclusioni

Di rilievo è la capacità di sopravvivenza dell'inoculo di questi due pericolosi agenti di marciume radicale e carie, risultati ancora vitali, seppure in percentuale ridotta rispetto all'inizio della prova, dopo 2 anni e 3 mesi dall'interramento. Questo dato può contribuire a definire i criteri di trattamento del posto pianta o i tempi di "riposo" del terreno prima di procedere all'impianto di un nuovo albero su un suolo infetto. La persistenza di inoculo vitale nel terreno è anche legata alla massa di legno infetto presente, per cui un intero apparato radicale può garantirne la vitalità fino al suo totale disfacimento. I tasselli utilizzati nella prova erano di ridotte dimensioni.

Il trattamento di pacciamatura ha favorito una maggiore sopravvivenza sia di *P. fraxinea* sia di *G. adspersum* allo stato saprofitario. Le differenze riscontrate tra i due funghi in questa capacità sono, probabilmente, imputabili da un lato al fatto che *P. fraxinea* trae maggior giovamento dalla pacciamatura, che gli consente di essere ancora discretamente frequente dopo 2 anni e 3 mesi dall'interramento dei tasselli, e dall'altro alla più intensa attività degradativa di *G. adspersum*, che ne favorisce il più rapido decadimento dell'inoculo nel suolo.

Per quanto riguarda, invece, l'infettività di *G. adspersum* su ferite superficiali e profonde, i risultati ottenuti indicano che questo fungo è associato a entrambe le specie arboree e che può penetrare indistintamente attraverso le radici o tramite ferite profonde. Al contrario, non penetra mai in corrispondenza di ferite superficiali. Su suolo irrigato l'ippocastano, se inoculato sul fusto mediante ferita profonda, risulta più suscettibile del tiglio, manifestando alterazioni significativamente più estese.

Tra le due specie non emerge alcuna differenza in termini di suscettibilità se inoculate sul fusto mediante ferita profonda su suolo non irrigato; l'estensione media delle alterazioni è infatti molto simile. Situazione opposta, invece, si verifica nel caso di piante inoculate alle

radici. Infatti, su suolo non irrigato, è il tiglio a essere più suscettibile dell'ippocastano, mentre nessuna differenza emerge tra le due specie su quello irrigato. ■

*) Attività svolta nell'ambito del progetto di ricerca Tecogest "Tecniche eco-compatibili di gestione del vivaismo e del verde ornamentale" (Regione Lombardia, Piano per la ricerca e lo sviluppo 2004). Estratto dagli Atti del 3° Congresso europeo di arboricoltura, Torino 16-18 giugno 2008.

Bibliografia

- 1) GARDES M., BRUNS T.D., 1993. *ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes - application to the identification of mycorrhizae and rusts*. Molecular Ecology 2: 113-118.
- 2) GUGLIELMO F., BERGEMANN S.E., GONTHIER P., NICOLOTTI G., GARBELLOTTO M., 2007. *A multiplex PCR-based method for the detection and early identification of wood rotting fungi in standing trees*. Journal of Applied Microbiology 103: 1490-1507.
- 3) NICOLOTTI G., GONTHIER P., PECOLLO D., 2004. *Ecologia e grado di preferenza*

d'ospite dei funghi agenti di carie / I parte. ACER 20 (1): 47-51.

- 4) PROSPERO S., RIGLING D., HOLDENRIEDER O., 2003. *Population structure of Armillaria species in managed Norway spruce stands in the Alps*. New Phytologist, 158: 365-373.
- 5) STALPERS J.A., 1978. *Identification of wood-inhabiting Aphyllophorales in pure culture*. Studies in Mycology n. 16, Centraalbureau Voor Schimmelcultures, Baarn.

Abstract

Invisible enemies

Ganoderma sp. and *Perenniporia* sp. are two of the most important and dangerous root and butt rot agents. In terms of their spread into urban soils and root infections, *Ganoderma* and *Perenniporia* seem to have a strong survival ability in the soil, frequently being carried over to the new tree generations. This study aimed to evaluate the survival ability of the inoculum of some strains of *Ganoderma adspersum* and *Perenniporia fraxinea* in soils covered by mulched matter, among the most common used in urban arboriculture, and the evaluation of the infectivity of *Ganoderma adspersum* on young linden and horse-chestnut trees at different rates of watering.

RICREAZIONI
NATURALI

Pardes

aree verdi - alberi - giochi per parchi



Noi non possiamo creare dal nulla ciò che fa parte del mondo della natura.

Ma con molto impegno possiamo ricreare qualcosa che stiamo perdendo.

Per questo, noi realizziamo aree verdi e giardini di grande naturalezza.

Anche il gioco fa parte della natura dell'uomo.

Per questo, per i nostri bambini noi proponiamo parchi - gioco fatti di materiali naturali in una natura ricreata bella.



Distributore esclusivo per l'Italia di

