

ATTI  
DELLA  
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCVIII.

1911

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XX.

1° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1911

Patologia vegetale. — *Sul parassitismo di Diaporthe parasitica Murr. per il castagno*. Nota di E. PANTANELLI, presentata dal Socio G. CUBONI.

Se le notizie che pervengono dall'America non sono esagerate, si può dire che la « canker o bark-disease » del castagno prodotta da *Diaporthe parasitica* Murrill = *Valsonectria parasitica* Rehm, sia la più disastrosa malattia che si conosca per gli alberi d'alto fusto. Infatti le malattie fungine più pericolose per gli alberi forestali, sono quelle prodotte da *Trametes pini*, *Armillaria mellea*, *Dematophora* sp. ecc., le quali però non arrivano ad uccidere un albero che in parecchi anni, e, per essere funghi sotterranei, sono legati a condizioni speciali di terreno. Invece, secondo Metcalf e Morrill la *D. parasitica* richiede solo un'estate calda ed umida per espandersi con rapidità simile a quella con cui abbiamo visto diffondersi l'oidio della quercia in Europa, ma con ben più gravi conseguenze: la morte dell'albero in due anni.

La malattia fu osservata per la prima volta nell'estate del 1905 da Merkel (<sup>1</sup>) nel Giardino Zoologico di New-York, e questi richiamò su di essa l'attenzione del dott. W. A. Murrill del Giardino Botanico di quella città. A Murrill si deve lo studio scientifico della malattia, che egli dal 1905 al 1908 ha descritto in diverse Note (<sup>2</sup>), la cui traduzione è stata opportunamente inviata dal cav. Guidi Rossati, R. Enotecnico a New-York, al nostro Ministero di Agricoltura (<sup>3</sup>), il quale incaricò la nostra Stazione di ricerche in proposito, per stabilire se questo fungo sia nuovo per l'Italia, se sia capace di attaccare il castagno europeo nel nostro clima. Infatti il castagno che si coltiva agli Stati Uniti è una varietà differente dalla comune *Castanea vesca* L., e negli Stati in cui si è sviluppata la malattia, l'inverno è estremamente rigido, essendo frequenti minimi di — 25° e — 30° C.

Il Ministero di Agricoltura degli Stati Uniti ha incaricato degli studi della malattia il Laboratorio di Patologia forestale di Washington diretto

(<sup>1</sup>) Merkel H. W., *A deadly fungus on the american chestnut*. Ann. Rept. N. Y. Zool. Society, X (1906), pp. 97-103.

(<sup>2</sup>) Murrill W. A., *A serious chestnut disease*. Journ. N. Y. Bot. Garden, VII (1906), pp. 143-153; Id. *Further remarks on a serious chestnut disease*. Ibidem, pp. 203-211; Id., *A new chestnut disease (diagnosi del fungo)*. Torreya, VI (1906), pp. 186-189; Id., *The spread of the chestnut disease*. Journ. N. Y. Bot. Garden, IX (1908), pp. 23-29; Id., *The chestnut canker*, Torreya, VIII (1908) (estr.).

(<sup>3</sup>) Ne abbiamo già fatto parola in: *Relaz. s. attiv. d. R. Staz. d. Patol. veg. per il 1908-1909*, Roma (G. Bertero, 1910, p. 40).

dal dott. Haven Metcalf. Questi ci ha inviato nel gennaio ed aprile 1909, entro astucci di latta saldati, alcuni rametti di castagno infetti, che ho adoperato per controllare i dati del dott. Murrill.

La malattia si presenta sui rami con chiazze allungate, di color rosso bronzato o scolorite e leggermente depresse, che hanno fatto dare alla malattia il nome di "canker-disease"; questo nome non sarebbe esatto, intendendosi per *cancro* di un albero alterazioni ben diverse.

In queste chiazze la corteccia è tutta seminata di pustule, da cui il fungo erompe in forma di piccoli cuscinetti di colore giallo di Siena. Nel materiale americano raccolto in autunno, questi cuscinetti erano costituiti da un feltro miceliare, da cui in camera umida si formarono entro poche ore innumerevoli microconidii a forma di bastoncino, lunghi  $3,8 \mu$  e grossi  $1,7 \mu$ , dritti, arrotondati alle estremità, i quali tutti insieme costituivano grosse gocce gialle alla superficie delle pustule. Lo stroma miceliare s'insinuava fra i diversi strati della corteccia, e mandava un fitto reticolato di ife fino al cambium, che appariva qua e là imbrunito e distrutto, raramente fino al legno, la cui porzione periferica era in tal caso invasa da ife del fungo ed in preda a gommosi.

In natura pare che il legno non venga invaso, come si osserva anche in altre Valsacee, e il danno consiste nella morte dei tessuti corticali, che sotto l'influenza del fungo si compie nella stessa estate; la porzione di ramo situata sopra al focolare d'infezione si secca.

Dai microconidii seminati su agar all'estratto di castagno ottenni micelio biancastro, che qua e là produsse noduli stromatici consistenti, dai quali poi si formarono masse di microconidii di color giallo vivo.

Inoculati in rametti di castagno di 5-20 mm. di diametro, sterilizzati a vapore, i microconidii danno subito un micelio, che in un mese a  $25^{\circ}$  C. invadono tutto il substrato, fabbricando cuscinetti stromatici e picnidii concamerati che sollevano i diversi strati di periderma, ed erompendo poi alla superficie con micelio ed una massa tale di microconidii da costituire cordoni attorcigliati, gialli, come si osserva nelle *Valsa*, *Nectria* ecc., in primavera, e come anche Murrill e Metcalf indicano per il fungo in parola. Anche il micelio superficiale è giallo vivo per un lipocromo in gocce che contengono le sue cellule; il micelio interno è gialliccio.

Inoculati i rametti staccati di castagno vivi, lavati con sublimato all'1‰ ed acqua sterile, tenuti umidi in grandi provette sterili o in vasi di vetro coperti, i microconidii danno pure micelio, che dopo due settimane a  $25^{\circ}$  C. ha già invaso il periderma; dopo due mesi erompono alla superficie i noduli stromatici ed i microconidii, ma intanto i rametti erano già imbruniti e morti. Dopo 8 mesi circa la produzione dei picnidii era appena cominciata in questi rami. Tale portamento fa pensare che la *D. parasitica* non formi picnidii sui rami vivi e sani, ma più tardi, dopo la morte del ramo.

Il materiale americano raccolto alla fine dell'inverno portava i peritecii. Essi hanno la forma di fiaschetti con collo lungo fino a 3-4 mm., parete nera esternamente, incolora di dentro, e stanno affondati, in numero di 13-18 per pustula, nello stroma miceliare, sotto al cuscinetto esteriore, in cui si aprono i loro colli.

La dimensione e forma degli asci e delle ascospore bicellulari giustificano a mio avviso la diagnosi ed il nome di *Diaporthe parasitica* dato da Murrill. Rehm invece <sup>(1)</sup> ritiene che sia una *Valsonectria*. Questo genere, stabilito da Spegazzini nel 1883, comprende due sole specie saprofitiche, secondo Saccardo ha affinità con alcune *Diaporthe*, ma possiede peritecii circinanti, asci cilindrici e troncati all'apice, caratteri che mancano nel fungo in parola, che ha tutti i caratteri delle *Diaporthe*.

La forma conidiale ricorda un ifomicete assai comune anche in Europa sui castagni e su parecchi altri alberi, il quale, secondo cortese comunicazione del prof. P. A. Saccardo, sarebbe la *Naemaspora microspora*. Questa a sua volta sarebbe la forma picnidica di *Diatrype stigma*, un'altra sferiacea non molto lontana dalla *Diaporthe*, di parassitismo assai dubbio.

Però lo stato picnidico del fungo in questione non può essere confuso con quello di *Diatrype stigma*, perchè i picnidii sono nel primo racchiusi nello stroma e concamerati, i microconidii o piospore che vi si originano non sono ricurvi, nè lungamente filiformi, nè hanno le dimensioni di quelli di *Naemaspora microspora*. Essi appartengono indubbiamente alla *D. parasitica*, perchè li ho ottenuti identici in cultura pura su rami di castagno tanto partendo dai microconidii, quanto dalle ascospore di *Diaporthe*.

Invece finora non ho potuto osservare la formazione dei peritecii partendo dai microconidii o dalle ascospore, in quasi due anni di cultura su rami o su agar al castagno. Pare che anche Murrill e Metcalf non siano riusciti ad ottenere peritecii in cultura pura. Può darsi che occorra l'azione di ripetuti inverni per determinare la formazione dei peritecii, e certe condizioni di substrato che difficilmente si possono realizzare in cultura pura, quale la grossezza della scorza.

Si conoscono altre cinque *Diaporthe* sul Castagno, di cui quattro in Europa, ed una raccolta presso New-York:

<i>D. castanea</i>	(Tul.) Sacc.	trovata in Italia e Francia su rametti morti:
• <i>leiphaemoides</i>	(Fuck.) Sacc.	• Germania — " "
• <i>innata</i>	(B. e C.) Sacc.	• New-York — " "
• <i>castaneti</i>	Nits.	• Italia e Germania " "
• <i>nigrocincta</i>	Pass.	• Francia — " "

<sup>(1)</sup> Rehm H., Annales mycol., V (1907), pag. 210.

Ma le prime due, che Saccardo crede identiche fra loro (1) hanno asci appendiculati, clavati, ascospore uniseriate; la terza ha peritecii circinanti, con collo breve, ascospore acuminate alle due estremità; la quarta produce linee oscure nella corteccia e nel legno, peritecii disposti in serie, o in 2-5 per pustula, che si affondano talvolta nel legno, con collo breve; la quinta non ha parafisi, ma le ascospore sono disposte in una sola serie nell'asco. Le dimensioni sono molto diverse ( $\mu$ ):

	microconidii	asci	ascospore
<i>D. castanea</i>	6-7 × 1,5-2	40-55 × 8-9	14-18 × 3-3,5
" <i>leiphaemoïdes</i>	1-10 × 3-4	48 × 10	16-18 × 3-4
" <i>innata</i>	—	—	7-8 × —
" <i>castaneti</i>	—	70-80 × 10,8	15-18 × 4-5
" <i>nigrocincta</i>	—	110 × 10	12-20 × 7,5
" <i>parasitica</i>	{ sec. Murrill 2-3 × 1	45-50 × 9	9-10 × 4-5
	{ " me (media) 3,8 × 1,7	44,1 × 8,7	8,6 × 4,0

Pare dunque che si tratti realmente di una nuova specie di *Diaporthe*, e certamente essa sarebbe nuova per l'Europa.

Ciò che a noi importa stabilire è, se essa sia tanto violenta da uccidere i castagni adulti in così breve tempo, come affermano i patologi americani (2). Murrill ha inoculato con successo piccoli castagni in vaso ed in vivaio; il fungo si sviluppò, specialmente se le piante erano tenute in luogo molto umido, e i rami inoculati intristirono e si seccarono. Metcalf (3) ha eseguito nel 1909, 500 inoculazioni coronate da successo su castagni in vaso ed all'aperto.

Siccome il castagno edule americano è una varietà diversa dalle nostre, era necessario verificare con maggior sicurezza se la *D. parasitica* possa attaccare il castagno nel nostro clima, perchè a dir vero i risultati del 1909 lasciavano credere che questo fungo si sviluppi solamente sulle parti morenti, ed abbia quindi un carattere più saprofitario che parassitario. Mi sono però limitato ad inoculare piccoli castagni allevati in vaso nel nostro Laboratorio, in una piccola serra ben custodita, prendendo le più rigorose precauzioni per evitare il trasporto dei germi del parassita.

(1) Sylloge, I (1882), pag. 606.

(2) Hodson E. R., *Extent and importance of the chestnut bark disease*. U. S. D. A., Bur. of Plant Ind., Bull. N. 122 (ottobre 1908); Mickleborough, E. S. R., 1910, 22, 652. Metcalf H. e Collins J. F., *The present status of the chestnut bark disease*. Ibidem. Bull. N. 141, parte V (30 VIII, 1909).

(3) Metcalf H., *The chestnut bark disease*. Science, XXXI (1910), pag. 748.

I microconidii o le ascospore furono ripartiti in gelatina fluida (5 %) all'estratto di scorza di castagno con 1 % di glucosio, ove anche le ascospore germinano in poche ore a temperatura ordinaria, emettendo un tubo da ognuna delle due cellule che le costituiscono; e questa gelatina fu applicata entro sottili tagli interessanti solamente il periderma, oppure penetranti fino al cambio, o sopra abrasioni che lasciavano a nudo la corteccia viva o addirittura il cambio. In altri casi la gelatina con le ascospore o i microconidii fu deposta all'ascella dei rametti, che secondo Metcalf costituisce una delle porte d'entrata del fungo; in altri casi fu introdotta fra le squame delle gemme. I tagli e le scorticature furono poi coperte, 24 ore dopo la inoculazione, con gelatina sterile al 10 %, perchè non si prosciugassero. Le inoculazioni con microconidii prelevati dalle culture pure su agar all'estratto di scorza di castagno furono eseguite il 15 febbraio, quelle con ascospore prelevate dal materiale americano conservato per un anno all'asciutto il 3 marzo 1910.

Durante l'estate, in due degli 8 castagni inoculati con ascospore si seccarono i germogli, in altri due si seccarono in autunno, e così pure tre degli 8 castagni inoculati con microconidii. In questi 7 casi l'essiccamento dei germogli è stato rapidissimo, senza speciali alterazioni delle foglie, che si prosciugarono in toto al pari del ramo o del fusto fino al punto ove si era sviluppato il micelio nella scorza. In questo punto si è formata qualche tempo dopo la macchia scolorata rossastra, da cui poi in gennaio hanno cominciato ad erompere gli stromi gialli del fungo. In un altro dei castagni inoculati con microconidii dopo la caduta delle foglie si è cominciata a formare durante l'inverno la macchia scolorata; in questa regione il parenchima corticale è imbrunito ed invaso dai filamenti miceliari del fungo.

Il micelio invia qualche filamento fino al cambio; sulla sua traccia il tessuto imbrunisce e muore fino ad una certa distanza, come se fosse avvelenato da prodotti di secrezione del micelio. Finora (gennaio 1910) questo ha prodotto solo stromi, microconidii e picnidii concamerati nelle piante infette. Esso si è sviluppato solo alla base di questi giovani castagni, dove la scorza aveva già 3 anni; le iniezioni sui rami di 1-2 anni non hanno dato alcun risultato, e così pure le infezioni per semplice contatto. Occorre una ferita perchè il fungo penetri nel tessuto vivo. Sotto la zona invasa il fusto è rimasto vivo ed anzi nei due castagni seccati per i primi ha cacciato nuovi germogli in autunno.

L'elevata proporzione d'infezioni con esito positivo e la rapida morte dei castagni in vaso mostrano che questo fungo è realmente un parassita pericoloso non solo per la *Castanea vesca* var. *americana* Michaux, ma anche per il nostro castagno, tanto più che molte delle sue ascospore si sono conservate germinabili all'asciutto per due anni. La loro germinazione comin-

ciava in 2-3 ore a temperatura ordinaria in estratto di scorza di castagno addizionato di 1% di glucosio quando erano fresche, dopo due anni richiede 1-2 giorni. I microconidii si sono mostrati altrettanto virulenti, sebbene da un anno fossero coltivati su agar all'estratto di castagno, e la facilità con cui si formano i picnidii anche in rami sottili dà a pensare, perchè ognuno di essi produce un numero sterminato di conidii che si spandono alla superficie del fusto durante la stagione umida e resistono all'essiccamento anche per 2 anni.

Quanto alle cause fisiologiche che predispongono la corteccia del castagno alla penetrazione della *Diaporthe parasitica*, Clinton (1) ritiene che i freddi invernali abbiano la massima importanza, opinione già manifestata anche da Murrill. Metcalf invece dà più peso alle ferite (1910). Nelle mie prove il fungo penetrò solamente per i tagli; il suo sviluppo nei tessuti dell'ospite si è compiuto in piena estate, i picnidii però si sono formati dopo i primi freddi. Ambedue questi fattori hanno probabilmente importanza per il ciclo biologico del fungo, e certo l'età e lo stato della scorza hanno una importanza non minore, perchè la scorza di un anno non viene attaccata, e i peritecii si formano solamente nelle corteccie di diversi anni.

L'infezione è così rapida e dannosa per la vitalità dell'albero, che se invadesse i nostri castagneti si andrebbe probabilmente incontro a un disastro, come è successo agli Stati Uniti, ove secondo Metcalf, 2 milioni di castagni ne perirono dal 1906 al 1909. Non resterebbe allora altro scampo se non la sostituzione del castagno giapponese, *Castanea crenata* Sieb. e Zucc., che è l'unica specie immune secondo le prove di Metcalf (2). Ma siccome il castagno giapponese, che già è stato sperimentato in Francia contro il mal dell'inchiostro da Prunet (3) come portinnesto resistente (4), dà frutti o legname peggiori del nostro castagno o di quello americano, occorrerebbe ricorrere alla ibridazione per ottenere varietà nuove di castagno, che alla immunità contro la *Diaporthe* uniscano la squisitezza del frutto e le buone doti del legname, compito a cui si è accinto il Laboratorio di Patologia forestale di Washington.

(1) Connecticut State Agric. Exp. Station, Report of the Botanist for 1907-1908.

(2) *The immunity of the chestnut to the bark disease* U. S. Dep. Agric. Bur. of Plant Ind., Bull. N. 121 (febbraio 1908).

(3) Prunet et Gigord, *La reconstitution des châtaigniers à l'aide de châtaigniers exotiques*. Bull. Soc. Nat. Agric., 1907, pp. 64-65; Prunet, *Comptes rendus*, CLI, 1909, pag. 19-46; *Progrès agr. et vit.*, XXVII (1910), I Sem., pag. 124 e 634; cfr. anche J. da Camara Pestaña, *Bul. R. Soc. Port. Agric.*, IX (1907), pp. 686-687.

(4) Farcy, *Progrès agr. et vit.*, XXVII (1910), I Sem., pag. 592, dice che si ottengono migliori risultati contro il mal dell'inchiostro innestando il castagno sulla quercia, ma ciò non varrebbe contro la *Diaporthe*.

Intanto, dopo aver trovato che questo nuovo nemico americano è infesto anche ai nostri castagni, non possiamo che associarci a Metcalf ed Henry (1) nel richiamare su di esso l'attenzione dei paesi castanicoli, affinchè invitino i rispettivi Governi ad unirsi per impedire l'importazione di qualunque materiale di castagno, soprattutto della scorza, dagli Stati Uniti.

**Fisiologia.** — *Contributi alla Fisiologia del Labirinto* (2).  
II. *Un metodo operativo per la distruzione dei canali semicircolari del cane.* Nota del dott. M. CAMIS, presentata dal Corrispondente V. ADUCCO.

Tra le numerosissime ricerche eseguite sopra i canali semicircolari, relativamente poche sono quelle condotte sopra il cane. La ragione per cui quasi tutti gli sperimentatori predilessero per le loro esperienze il piccione, o la rana, o i pesci, risiede nella maggiore facilità con cui si possono in questi animali aggredire i canali semicircolari, sia per distruggerli che per portarvi lesioni o stimoli localizzati. La maggiore opportunità che il cane offre allo studio di alterazioni di moto e di senso, quali possono determinarsi con l'intervento sperimentale sui canali semicircolari, mi ha però indotto a scegliere questo animale per una serie di ricerche che verrò esponendo. Senonchè, il metodo seguito da quelli autori che fin qui vollero distruggere o ledere i canali semicircolari nel cane, presenta, a mio avviso, un grave inconveniente: quello di portare alla distruzione anche della chiocciola e dell'orecchio medio. Ricorderò, a questo proposito, solo la descrizione data dall'Ewald (3) del suo metodo operativo sul cane, dalla quale appare che, aperta la bolla timpanica, ed asportato il timpano e gli ossicini dell'udito, egli passava alla distruzione della chiocciola. Ciò fatto, egli apriva e svuotava il vestibolo penetrando dalla finestra ovale, e terminava con l'asportazione dei canali semicircolari.

E vero che Fano e Masini (4) descrissero alcune esperienze, nelle quali, aperta la bolla mastoidea, distruggevano solo i canali semicircolari pene-

(1) Henry E., *La maladie des Châtaigniers aux Etats-Unis et en Europe*. Ann. sc. agron. (3), vol. IV (1909), pp. 241-251.

(2) Lavoro eseguito nel Laboratorio di Fisiologia della R. Università di Pisa.

(3) R. J. Ewald, *Physiologische Untersuchungen über das Endorgan des Nervus Octavus*. Wiesbaden 1892 (cfr. pagg. 197-200).

(4) G. Fano e G. Masini, *Intorno agli effetti delle lesioni portate sull'organo dello udito* (Lo Sperimentale, 1893, XLVII, pagg. 353-405).