

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

Botanica. — *Riproduzione artificiale della Moria dei castagni (Mal dell'Inchiostro)* (1). Nota del Socio G. BRIOSI e di R. FARNETI.

In una Nota pubblicata nel luglio del 1907 (2) dimostrammo che il processo morboso che determina la così detta *Moria dei castagni*, così nei cedui come nelle fustaie, non si inizia nelle estremità delle radici (ove sono le micorize) per procedere verso il tronco, ma segue la via inversa, cioè dal tronco scende alle radici; contrariamente a quanto si riteneva da tutti coloro, e sono molti, che si sono occupati di questa micidiale malattia dei castagni, che ha distrutto intere selve, tanto in Italia quanto in Francia, Spagna, Portogallo ecc.

In essa dimostrammo pure che nei cedui della Toscana la malattia si manifesta sui polloni con la produzione di un cancro che si presenta in forma di una depressione livida della corteccia nella parte attaccata, cancro prodotto dall'azione patogena di un fungo microscopico parassita, che noi descrivemmo sotto il nome di *Coryneum perniciosum* Briosi e Farneti.

In una seconda Nota pubblicata nel giugno 1909 (3), dimostrammo che detta *Moria* presentava in Piemonte, in Liguria e nella Lunigiana, gli stessi caratteri osservati in Toscana, e che ivi pure era dovuta allo stesso parassita, il *Coryneum perniciosum* Briosi e Farneti; anzi, di questo parassita scoprimmo allora anche la forma picnidica (*Fusicoccum perniciosum* Briosi e Farneti) e la forma ascofora (*Melanconis perniciosa* Briosi e Farneti), e le descrivemmo.

Inoltre, in essa si dimostrò pure che ovunque l'andamento del male era identico e tanto negli alberi d'alto fusto, nei polloni dei cedui, salvo lievi differenze dovute al variare delle condizioni dell'ambiente, all'età del albero, allo spessore e allo stato esterno della corteccia della pianta, al vigore di questa e, specialmente, al punto in cui il ramo od il tronco viene attaccato.

Quando l'infezione comincia nei rami, la malattia si manifesta col precoce ingiallire delle foglie e col disseccamento dei rami attaccati, e ciò av-

(1) Il lavoro in esteso, corredato da disegni e fotografie, verrà pubblicato negli *Atti dell'Istituto Botanico* della R. Università di Pavia.

(2) Briosi e Farneti, *Sulla Moria dei castagni (Mal dell'Inchiostro)*. Prima Nota. *Atti dell'Istituto Botanico della R. Università di Pavia*, Ser. II, vol. XIII, Milano, 1907.

(3) Briosi e Farneti, *Intorno alla causa della Moria dei castagni (Mal dell'Inchiostro) ed ai mezzi per combatterla*. *Atti dell'Istituto Botanico dell'Università di Pavia*, Sez. II, vol. XIV, Milano, 1909.

viene senza ordine e senza causa apparente. Da principio, nel suo complesso, la pianta non sembra molto sofferente; ma, negli anni successivi, il male si estende, la pianta tutta intristisce e muore.

Sui rami, più o meno giovani, di un albero d'alto fusto, il male si può seguire come nei polloni di un ceduo, poichè il percorso dell'infezione lascia dietro di sè la caratteristica depressione livida della corteccia, cioè il cancro cosparso più o meno di pustole del parassita.

Quando il male colpisce direttamente il tronco o la ceppa, l'intero albero muore improvvisamente, come preso da apoplezia; senza che l'infezione lasci traccia di cancro sulla corteccia, generalmente grossa e coperta di ritidoma. Allora le foglie e i frutti seccano sui rami ai quali restano attaccati anche durante l'inverno.

Questo modo, non infrequente, di morire degli alberi è quello che più sconvolse le idee degli studiosi e diede luogo alle maggiori controversie, poichè non se ne sapeva trovare la giusta ragione.

Il male, in questi casi, si diffonde sotto il grosso ritidoma che lo nasconde all'occhio dell'osservatore; e soltanto quando il processo morboso ha molto progredito ed è riuscito a circuire il tronco o la ceppa o ad invadere le radici, si rende manifesto. La pianta, nulla di anormale rivela all'esterno; il parassita rimane nascosto sotto la corteccia, limitato più o meno intorno ai focolai d'infezione.

* * *

Che il *Male dell'inchiostro* fosse dovuto al parassitismo del *Coryneum perniciosum* e delle sue forme più evolute (*Fusicoccum* e *Melanconis*), per noi non vi era alcun dubbio; poichè centinaia di osservazioni fatte nelle selve di diverse regioni ci comprovavano quanto fin da principio avevamo intuito ed affermato.

Del resto, anche i signori Griffon e Maublanc, della Stazione di patologia di Parigi, che recentemente studiarono questa malattia nei cedui della Francia, hanno trovato le stesse cose da noi osservate, e confermato quanto noi avevamo pubblicato, come risulta dall'ultimo loro lavoro e come essi stessi in persona ne accertarono, in una cortese e gradita visita fattaci al nostro laboratorio in Pavia, nel mese scorso.

In tale occasione noi avemmo il piacere di mostrare ai chiarissimi scienziati francesi i nostri preparati, il materiale che ci aveva servito per lo studio; e potemmo loro dimostrare anche come il male che uccide gli alberi d'alto fusto (da loro non ancora studiato) fosse perfettamente identico a quello che fa morire i cedui.

Se noi non avevamo peraltro alcun dubbio sul parassitismo del *Coryneum perniciosum* e delle sue forme più evolute, e sul fatto che esso fosse la causa efficiente della *Morìa dei castagni* o *Mal dell'inchiostro*, ne mancava peraltro la prova sperimentale diretta, quella che può togliere a chiunque ogni dubbio

e che si ottiene solo con la riproduzione artificiale della malattia. A ciò ottenere, noi iniziammo esperienze sino da due anni or sono; ed ora finalmente esse hanno maturato i loro risultati, ed in modo così evidente che noi ne potemmo mostrare gli effetti chiari e sicuri, e confermantissimi in tutto la nostra opinione anche ai due esimii patologi francesi, in occasione della loro visita a Pavia.

Le esperienze cominciarono sulla fine della primavera del 1909 sopra un grosso albero di castagno d'oltre trent'anni d'età, nel pieno vigore e rigoglio di vegetazione, posto nel R. Orto Botanico di Pavia.

Era un albero posto nelle migliori condizioni, poichè isolato e in mezzo ad una vasta pianura, dove il castagno non è oggetto di speciale coltivazione, e che per di più trovasi a qualche centinaio di chilometri dai più vicini centri infetti.

Le prove furono ripetute nel 1910 sopra giovani pianticelle provenienti da un vivaio di Mariano Comense, trapiantate appositamente in altro angolo del nostro Orto Botanico; ma di queste diremo in altra occasione, essendosi in esse solo da poco iniziata la riproduzione del male.

Le prove di riproduzione furono fatte, come è naturale, col metodo della inoculazione diretta delle spore del parassita.

Nella primavera del 1909 noi stessi andammo a raccogliere cortecce malate nei cedui dei dintorni di Savona, da le quali traemmo i germi per le nostre inoculazioni.

In queste adoperammo spore tanto della forma conidica (*Coryneum perniciosum*) quanto della forma ascifera (*Melanconis perniciosa*), ricavate in parte direttamente dalle pustole delle piante malate, in parte ottenute da colture pure del parassita, da noi convenientemente preparate.

Avendo un solo albero a nostra disposizione, le diverse forme di spore vennero iniettate in settori distinti e ben limitati del suo tronco, a poco più di un metro dal suolo.

Per facilitare l'inoculazione, le spore furono poste in acqua distillata sterilizzata, poscia iniettate nel tessuto erbaceo della corteccia mediante una siringa di Pravaz.

Nelle aree del tronco prescelte per le inoculazioni asportammo da prima il ritidoma, mediante raschiatura e scarificazione col bisturi, su qualche centimetro quadrato di superficie.

Per facilitare la penetrazione dell'ago della siringa e del liquido contenente le spore, si perforò, con un altro ago più resistente e più grosso o con la punta del bisturi previamente sterilizzati, il tessuto erbaceo della corteccia, procurando di non intaccare il cambio e di non provocare sgorgo di linfa; e perchè il foro da infettare percorresse lunga porzione di tessuto, si tenne l'ago molto obliquo, procedendo, come è naturale, dall'alto al basso.

* * *

Un mese dopo praticata la inoculazione, cioè nell'agosto, incominciò la corteccia ad acquistare, intorno ai centri infettati artificialmente e nei limiti delle aree raschiate e anche un poco più sopra e più sotto, un colore bruno-rossastro che persiste tuttora.

Noi supponemmo che si fosse iniziato il processo d'infezione, ed ansiosi aspettammo la formazione netta del canero ed il suo rapido sviluppo. Ma ciò non avvenne; le piccole macchie non progredirono, e noi rimanemmo col dubbio se esse fossero dovute alla formazione del trauma oppure all'azione del parassita inoculato.

Durante l'autunno e l'inverno, nulla si manifestò intorno alle aree infettate artificialmente, nè alcun disturbo venne fatto di notare nella vegetazione della pianta, la quale maturò perfettamente i suoi frutti, i quali caddero regolarmente insieme con le foglie ad autunno inoltrato.

Nella primavera del 1910 la pianta si rivestì di foglie, e la fioritura e l'allegamento dei frutti furono regolari. Solo si ebbe lo sviluppo di molte gemme avventizie alla base del tronco, fino a circa 60 centimetri dal suolo. Questo fenomeno denota nelle piante, in generale, una perturbazione nel corso ascendente della linfa; ma nel castagno, quantunque questo fatto sia stato anche dato quale sintomo della *Morìa*, si osserva assai di frequente pure nei castagneti floridi e immuni.

Sul finire dell'estate dello anno scorso si ebbe un arrossamento generale e precoce delle foglie, e l'arresto dello sviluppo dei frutti; ma anche a questo fenomeno noi non demmo soverchia importanza, potendo essere prodotto da cause estranee alla *Morìa*, come si verificò appunto l'anno scorso in molti castagneti dell'Emilia e della Toscana.

Nell'autunno ultimo le foglie non caddero come d'ordinario, ma rimasero attaccate ai rami insieme coi frutti immaturi e mummificati.

La persistenza anormale delle foglie e dei frutti è uno dei sintomi che, come si è detto, accompagna qualche volta il *Male dell'inchiostro*, e sul quale gli autori richiamarono più volte l'attenzione, poichè si manifesta in tal modo il caso più grave, e per molti inesplicabile, della malattia.

Un tale fenomeno, peraltro, non si può avere per esclusivo e caratteristico della *Morìa*; esso in fondo denota solo la morte repentina, quasi fulminea, della chioma dell'albero: fenomeno che può avvenire per diverse cause.

La corteccia dei rami non presentava nulla di anormale, ad eccezione di un colore leggermente più scuro ma poco apprezzabile.

Fino a tutto il febbraio ultimo, nulla di nuovo; ma nel marzo inaspettatamente, sulla corteccia del tronco, nella regione ove si erano fatte le inoculazioni, è apparsa una abbondante eruzione di pustole speciali, che l'aspetto esterno e l'esame microscopico dimostrarono essere formate dagli stromi del

Coryneum perniciosum, i quali avevano sollevato e rotto la corteccia. E tale eruzione si estendeva da pochi centimetri sopra il suolo sino a metri 2,20 di altezza.

Il parassita da noi inoculato si è quindi riprodotto, e su larghissima scala, sporificando, fino ad ora, unicamente sotto la forma conidica.

La pianta presenta i sintomi caratteristici della *Morìa* nella sua forma più grave, cioè in quella della apoplezia, poichè tutta la chioma dell'albero è morta e le foglie ed i frutti sono rimasti mummificati sui rami.

Esaminando attentamente l'albero, vedesi che il suo tronco è morto fin quasi a terra, e che il processo morboso sta ora discendendo rapidamente nelle radici.

Si può seguire il percorso e misurare anche con approssimazione la rapida corsa discendente dell'infezione, poichè da una delle parti del tronco la corteccia è morta fino quasi rasente il suolo, e morti sono i succhioni sopra di essa spuntativi l'anno scorso, mentre dalla parte opposta il processo mortifero è invece ora arrivato a circa 60 centimetri da terra, ma continua. I rimessitici sviluppatisi sopra tale altezza sono pure tutti morti, mentre quelli sottostanti, formatisi l'anno scorso, veggonsi ancora vivi e rigogliosi, come viva mostrasi tuttora da questa parte l'ultima breve porzione sottoposta del pedale dell'albero.

Il male rapidamente discende anche su questo lato: infatti in pochi giorni ha raggiunto il livello dei germogli più alti, or ora spuntati, uccidendone quattro, uno dopo l'altro.

L'eruzione delle pustole del parassita ha determinato sul tronco, delle aree allungate nel senso dell'asse dell'albero, più o meno depresse, sufficientemente manifeste, specialmente all'estremità superiore, dove non confluiscono fra loro, ma terminano a punta ottusa.

Queste aree si estendono al disopra per circa m. 0,60 a 0,70, e per m. 1,20 ad 1,50 al disotto dei luoghi ove si erano fatte le inoculazioni.

Il micelio del parassita, in venti mesi, irradiando dai tre centri delle tre inoculazioni fatte, ha invaso dunque una superficie di circa 8000 centimetri quadrati, avanzandosi verso l'alto in ragione di tre centimetri al mese, discendendo verso la base del tronco con velocità doppia, e trasversalmente estendendosi in ciascun settore colla velocità di circa mezzo centimetro.

L'andamento e la diffusione dell'infezione artificiale nella pianta, quindi, segue lo stesso percorso e si avvanza con la stessa rapidità delle infezioni naturali che abbiamo trovato nei castagni di Cadibona e nei cedui di Sella presso Savona, come dimostreremo nel lavoro definitivo.

* * *

In conclusione, siamo riusciti a riprodurre artificialmente la *Morìa dei castagni (Mal dell'inchostro)* colla semplice inoculazione delle spore del *Co-*

ryneum perniciosum Briosi e Farneti e di quelle della forma ascofora dello stesso micete.

L'albero inoculato ed ucciso era perfettamente sano, in pieno rigoglio di vegetazione, posto a centinaia di chilometri dalle selve infette, quindi nelle condizioni più favorevoli per tali esperienze.

Anche in altre pianticelle giovani, artificialmente infettate, il male si sta riproducendo; ma di queste parleremo quando lo sviluppo della malattia sarà in esse più avanzato.

Il male si sviluppò attorno ai centri delle inoculazioni fatte sul tronco a poco più di un metro dal suolo, e da detti centri si irradiò in alto ed in basso (sino alle radici) invadendo parecchie migliaia di centimetri quadrati di corteccia e riproducendo perfettamente i cancri caratteristici che trovansi negli alberi delle selve naturalmente infette, con sopra riprodotti a decine di migliaia le pustole del *Coryneum perniciosum*.

Considerato che le iniezioni sono state eseguite con tutte le necessarie precauzioni, non v'è alcun dubbio che al *Coryneum* e non ad altri agenti sia dovuta la riproduzione della malattia, perchè deve escludersi ogni altra causa predisponente o determinante, ed anche il minuscolo trauma prodotto dall'ago della siringa non ha potuto, di certo, in alcun modo influire.

Il male si è rivelato solo dopo lungo lasso di tempo, un anno e più, e si è manifestato riproducendovi la forma finora più misteriosa ed inesplicabile della malattia, quella della improvvisa apoplezia con tutti i suoi segni caratteristici, cioè precoce essiccamento delle foglie, mummificazione dei frutti che non si staccano dai rami, tardiva formazione degli organi riproduttori del parassita, ecc.

Il fatto di essere riusciti ad uccidere artificialmente, come abbiamo fatto noi, con semplici iniezioni di spore in alcuni limitatissimi punti del tronco un intero grosso albero sano, d'oltre 10 metri d'altezza in rigogliosa vegetazione (è forse il primo esempio di tal genere), prova quanto sia grande la potenza patogena di certi funghi parassiti; il che non è privo d'importanza altresì per la parassitologia generale, e dimostra anche come sia strana ed errata l'opinione di quella scuola di patologi che vorrebbe negare a questi microrganismi ogni diretta azione sulla produzione delle malattie delle piante.