

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCXIII.

1916

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXV.

2° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL DOTI. PIO BEFANI

1916

Patologia vegetale. — *Ricerche sulla malattia del Castagno detta dell'inchostro*. Nota di L. PERRI, presentata del Socio G. CUBONI (1).

Come già ho riferito in precedenti pubblicazioni, le conclusioni, alle quali ero giunto provvisoriamente nelle ricerche sull'etiologia del *mal dell'inchostro*, tendevano ad affermare l'esistenza di un marciume del durame e dell'alburno, che dal colletto in direzione centrifuga si diffondeva contemporaneamente verso il basso dell'apparato radicale e verso l'alto del fusto. Tutte le ricerche microscopiche dirette e quelle colturali mi avevano sempre dimostrato che tanto alla base delle grosse radici, come al colletto e al disopra di questo, la necrosi dei tessuti corticali avveniva in via secondaria in seguito alla morte del cambio. Vi è sempre quindi un più o meno breve periodo di tempo in cui i tessuti necrosati della corteccia non presentano traccia di microrganismi. Questi ultimi sono invece rivelati, sia dall'esame microscopico, sia dalle colture, nel cambio e più facilmente nell'alburno e nel durame.

Da tali ricerche è però risultato che se in molti casi i miceli osservati al microscopio erano coltivabili, in altri le colture sementate con frammenti di durame, alburno o cambio infetti, rimanevano assolutamente sterili. Cosicché anche dopo il risultato negativo di infezioni artificiali su piante sane, fui condotto a ritenere i microrganismi più o meno facilmente coltivabili come dei semplici saprofiti, invadenti i tessuti già uccisi da qualche altro microrganismo prettamente parassita e difficilmente coltivabile. I caratteri del marciume della base del tronco, i caratteri morfologici del micelio invadente il durame inducevano a riguardare la malattia come un caso particolare di infezione del colletto da parte di un fungo superiore, con tutta probabilità un poliporeo.

In questa conclusione confermava il costante sviluppo di micelio, riferibile a questo gruppo di funghi, sul durame e alburno del tronco e delle grosse radici dei castagni morenti in seguito alla malattia. Un simile micelio, oltre a dimostrarsi incoltivabile, è rimasto sempre sterile e quindi difficilmente determinabile sistematicamente. Solo in un caso ho potuto constatarne l'identità con una specie di *Poria* e col *Fomes Ribis*. Si tratterebbe in ogni modo di miceli appartenenti a poliporei diversi che variano da località a località.

(1) Pervenuta all'Accademia il 27 agosto 1916.

Questo fatto, e lo studio ancora più approfondito dell'iniziarsi e propagarsi della necrosi del colletto, mi hanno dimostrato in questi ultimi mesi, che il processo è molto più rapido di quello dovuto all'azione dei poliporei o funghi affini e che d'altra parte esso è indipendente dall'infezione del durame e dell'alburno. Questa, nei casi nei quali la pianta attaccata sia assolutamente immune da marciume preesistente del legno (¹), si presenta solo in via secondaria, quando cioè il cambio è già attaccato. Essa però si inizia e si propaga molto rapidamente e sul principio avviene per opera di forme particolari d'ifomiceti lignicoli ai quali tien dietro il micelio di poliporei.

Sussiste quindi nella gran maggioranza dei casi quell'alterazione del corpo legnoso della regione del colletto a decorso centrifugo, su cui ho sempre insistito, ma essa deve esser riguardata come la conseguenza immediata dell'infezione del cambio da parte di un micelio parassita, che rapidamente si diffonde in senso longitudinale e più lentamente in senso trasversale. È questo micelio che determina la necrosi contemporanea della corteccia e dell'alburno, causando quelle striscie brune, coniche, con la base verso il colletto e spingentisi più o meno in alto sul fusto (²). Simili striscie brune si trovano anche sulle grosse radici, ma in tal caso esse si allargano verso la base delle radici stesse, ed è in corrispondenza a queste striscie che all'esterno compaiono le macchie d'*inchostro*. Basta scortecciare un tronco di pianta ammalata, quasi al livello del terreno, per svelare la presenza di queste zone longitudinali di tessuti imbruniti. La loro localizzazione sul tronco è spesso indicata dai giovani germogli del pedale disseccati. Ho già detto in precedenti Note che queste striscie brune non sono in continuità con quelle prodotte dal *Coryneum perniciosum* Briosi et Farneti. La confluenza di queste zone può solo avvenire quando la pianta è quasi del tutto disseccata.

La necrosi della base del tronco ha il suo punto di origine dalla regione del colletto. Questo fatto è ben dimostrato dal notevole allargarsi delle striscie brune verso il basso e dalla loro direzione di diffusione verso l'alto e verso l'estremità del fittone. Quando si seziona il fusto di una pianta ancora in vita, ma attaccata da qualche tempo, queste striscie brune compariscono come settori imbruniti sul piano di sezione della corteccia e dell'alburno, settori che vanno aumentando di estensione man mano che le sezioni sono condotte più vicino al colletto. La ormai dimostrata insussistente alterazione delle radici nella loro estremità, insieme ai fatti ora riassunti, circoscrivevano sempre più il campo delle indagini sull'origine della malattia.

(¹) Questo caso, di mal dell'inchostro *puro*, è assai raro a trovarsi, ed è d'altra parte necessaria condizione per poter ricercare la causa della malattia.

(²) Si veda a questo proposito la fotografia pubblicata nel riassunto che sulla questione ho fatto ne « L'Alpe » 1914-15.

Si trattava di determinare a quale microrganismo era dovuta l'alterazione progrediente del cambio. La figura qui unita, che rappresenta schematicamente una parte di sezione del fusto in cui l'infezione tende ad invadere il piccolo settore ancora vivente, mostra con tutta evidenza il luogo dove le ricerche dovevano esser condotte.

Solo le sottili sezioni tangenziali del cambio, esaminate in acqua, mostrano delle grosse ife che, generalmente a decorso longitudinale, s'insinuano fra le pareti delle cellule, inviando qua e là rari e brevi rami laterali.

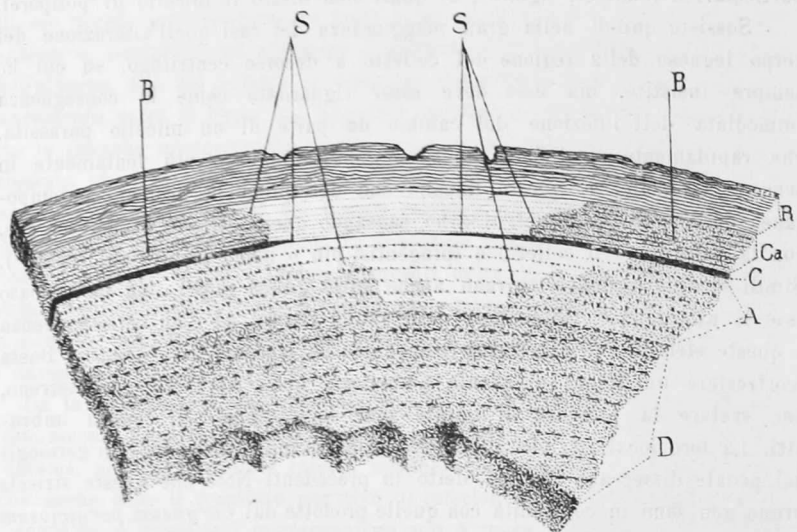


FIG. 1. — Parte di una sezione della base del fusto di un castagno ammalato. *B, B*, settori corrispondenti alle striscie brune longitudinali. *S, S*, limite fra tessuti sani e tessuti infetti (punteggiati) dove deve esser ricercato il parassita. *R*, ritidoma. *Ca*, corteccia vivente e in parte infetta (punteggiata). *C*, cambio (è segnato con grossa linea nera la porzione infetta). *A*, alburo con infezione (parte punteggiata) progrediente in senso centrifugo. *D*, durame.

Anche i preparati, ottenuti con lo spappolamento di piccoli frammenti del cambio imbrunito, mostrano porzioni più o meno lunghe di tali ife. Quando si adoperi un mezzo chiarificante, come la glicerina, il cloratio idrato, ecc., il micelio diventa invisibile.

Come coloranti dei preparati durevoli ho adoperato con soddisfacente risultato il blu di naftilene e safranina, l'ematosilina ferrica (Heidenhain) e safranina.

La microfotografia qui unita mostra un'ifa a percorso intercellulare fra gli elementi del cambio. Non sono stati osservati dei setti in queste ife.

I metodi di isolamento e di coltura tentati, dopo il risultato negativo di quelli usuali, sono stati i seguenti:

1° prelevamento, in modo asettico, di tasselli di corteccia con cambio sano, sterilizzazione per 1 ora in tubi sterili a 55° C. per tre giorni consecutivi, innesto con frammenti di cambio infetto prelevato con ago a lancetta sterilizzato;

2° prelevamento di un tassello di corteccia e albarno con porzione di cambio infetto. Sterilizzazione rapida della superficie esterna del tassello

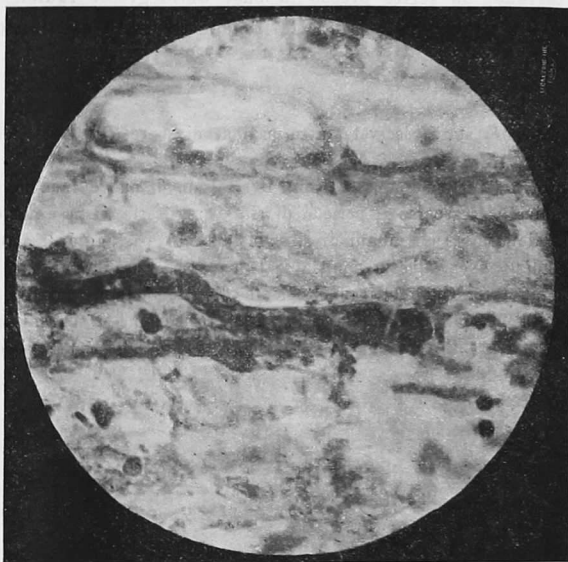


FIG. 2. — Microfotografia di una sezione tangenziale attraverso il cambio infetto (Fiss. picroformolo, col.: blu di naftilene + safranina O) (Ingr. $\times 300$).

con soluzione di sublimato corrosivo al 1 ‰. Lavaggio in acqua sterilizzata nell'autoclave a 120° C. Conservazione dei tasselli in tubi di Roux.

In queste due prove non è stato ottenuto alcun sviluppo di micelio, mentre l'esame microscopico ne aveva nettamente dimostrato la presenza nel cambio imbrunito.

Altri tentativi che ora sono in corso potranno forse riuscire ad ottenere l'isolamento e la coltura di questo micorganismo; ad ogni modo sarà possibile osservarne le varie fasi di sviluppo nei tessuti stessi.

Vi sono alcuni fatti che fanno escludere l'identità di questo micelio con quello del *Coryneum*:

1°) i suoi caratteri morfologici non coincidono con quelli di quest'ultimo fungo;

2°) esso resta localizzato per molto tempo nel cambio, non invadendo subito la corteccia nè l'alburno, ciò che invece fa rapidamente il *Coryneum*;

3°) esso non è coltivabile coi metodi ordinari, mentre il *C.* si sviluppa facilmente sui più comuni mezzi nutritivi;

4°) dopo la morte delle cellule del cambio attaccate dal micelio in questione, muoiono anche le ife di quest'ultimo (1).

Dalle ricerche sin qui eseguite sembra che l'infezione s'inizi sotto il livello del terreno, da ferite presso la base delle grosse radici.

In una prossima Nota sarà riferito sul risultato di ulteriori ricerche ora in corso (2).

(1) Non è ancora stata osservata la formazione di spore o di altri organi di conservazione del micelio.

(2) Durante la stampa di questa Nota, il risultato di nuove indagini rende presumibile che il micelio, trascorso il periodo di vita parassitaria a spese del cambio, provveda alla formazione dei suoi organi di riproduzione col passaggio di alcune ife nella corteccia, a condizione che questa non sia stata ancora invasa da saprofiti. Questo fatto spiegherebbe a un tempo la relativamente lenta diffusione della malattia, verificandosi non troppo facilmente le condizioni adatte per la formazione di organi sporigeni, e la difficoltà di determinare il vero agente patogeno a cui devesi il *mal dell'inchiostro*.

E. M.