



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI TORINO

This is an author version of the contribution published on:

Questa è la versione dell'autore dell'opera:

[Acer, 30(5), 2014]

ovvero [Gonthier et al., pagg. 45-50]

The definitive version is available at:

La versione definitiva è disponibile alla URL:

[http://www.ilverdeeditoriale.com/acer_pres.aspx]

Il cerchio di fuoco. Marciume radicale in pinete urbane.

Un patogeno forestale esotico minaccia le pinete urbane: osservazioni su presenza e biologia

Paolo Gonthier, Università di Torino, Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari (DISAFA);

Naldo Anselmi, Università della Tuscia, Dipartimento per l'Innovazione nei Sistemi Biologici, Agroalimentari e Forestali (DIBAF)

Matteo Garbelotto, University of California – Berkeley, Department of Environmental Science, Policy and Management (ESPM)

Un fungo agente di marciume radicale delle conifere originario degli Stati Uniti d'America e considerato uno tra i più dannosi patogeni forestali in assoluto fu introdotto durante la seconda guerra mondiale nei pressi di Roma. Alcune ricerche dimostrano che il fungo, divenuto invasivo, si è insediato anche nelle pinete urbane di pino domestico, costituendo una minaccia per la salute e la stabilità di questi popolamenti.

Il pino domestico (*Pinus pinea*) è una delle specie arboree più rappresentative del paesaggio costiero italiano, sia lungo la costa tirrenica sia lungo quella adriatica. Oltre ad essere coltivato in impianti artificiali per la produzione congiunta di pinoli e legname (Bernetti, 1998), il pino domestico è ampiamente utilizzato come specie ornamentale in ambito urbano e parchi, tanto da connotare, non senza conseguenze per manufatti e cittadini, il verde verticale della città di Roma e di altre importanti città italiane (Morelli e Raimbault, 2011).

Dal punto di vista fitosanitario, la specie è suscettibile tanto ad infestazioni di insetti quanto a malattie, tra cui spiccano la processionaria del pino (*Thaumetopoea pityocampa*), i disseccamenti dei getti da *Diplodia pinea* e alcune ruggini (es. *Cronartium* spp., *Melampsora* spp.). Attualmente una delle principali emergenze è rappresentata dalla cimice americana *Leptoglossus occidentalis*, originaria degli Stati Uniti occidentali, segnalata in Italia nel 1999 e ormai diffusa in diverse parti d'Europa. Tale insetto non è letale per la pianta, ma danneggiando i semi costituisce una vera e propria minaccia alla produzione di pinoli. In ambiente urbano la sua presenza crea disagio poiché durante l'inverno l'insetto cerca rifugio nelle abitazioni.

Heterobasidion irregulare è un patogeno esotico ben più subdolo e potenzialmente nocivo, tanto da essere stato recentemente incluso dalla European and Mediterranean Plant Protection Organisation (EPPO) nella Alert List a livello Europeo. Si tratta di un fungo di origine nordamericana agente di marciume radicale dei pini ed è annoverato tra i più dannosi patogeni forestali a livello mondiale (Garbelotto e Gonthier, 2013). Il patogeno è attualmente diffuso in Lazio in una fascia prevalentemente costiera estesa per oltre 100 km,

dove provoca una rilevante mortalità, che si manifesta a gruppi di piante (centri di infezione o di mortalità), a carico del pino domestico (Gonthier *et al.*, 2007).

Fig. 1

Fig. 2

In questo lavoro sono discusse, sulla base della recente letteratura scientifica, le modalità di introduzione e di invasione del patogeno esotico e sono presentati dati che indicano che il fungo è egualmente frequente tanto negli impianti tipicamente forestali quanto nelle pinete o nei parchi urbani di pino domestico. Saranno inoltre descritte le modalità di infezione e propagazione del fungo, anche alla luce dei risultati di osservazioni e ricerche condotte in parchi urbani.

Modalità di introduzione ed invasione

La prima segnalazione di *H. irregulare* in Italia risale al 2002 nella Tenuta Presidenziale di Castelporziano, situata nei pressi della città di Roma (Gonthier *et al.*, 2004). In base alla biologia del fungo, al luogo di ritrovamento e ad alcune ricostruzioni storiche, gli autori della segnalazione attribuirono l'introduzione del patogeno all'importazione di cassettame, o altro materiale derivante da legname infetto non trattato, come da prassi durante la seconda guerra mondiale, da parte della V Armata statunitense, che occupò i suoli della Tenuta nell'estate del 1944. I risultati di un recente studio di genetica di popolazione di *H. irregulare* in Italia confermano che l'introduzione è riconducibile all'area di Castelporziano ed escludono che vi possano essere state introduzioni multiple in diversi punti dell'attuale areale di distribuzione del patogeno (Garbelotto *et al.*, 2013). Analisi genetiche sul patogeno hanno dimostrato che da Castelporziano, luogo di introduzione e di primo insediamento, il fungo si è poi diffuso verso nord e soprattutto verso sud grazie alla disseminazione delle spore e alla presenza di formazioni boschive anche di modesta dimensione, ma distanti circa 10 km l'una dall'altra. L'assenza di formazioni boschive adatte al suo insediamento in una fascia di circa 50 km tra Fregene e la Toscana ha invece rallentato l'invasione del fungo verso nord (Garbelotto *et al.*, 2013).

Durante l'invasione, il fungo esotico si è ibridato in modo rilevante con *H. annosum* (Gonthier e Garbelotto, 2011), un patogeno nativo simile per biologia ed ecologia, ma presente solo sporadicamente nelle pinete litoranee della costa tirrenica (Gonthier *et al.*, 2007).

Distribuzione e frequenza, con particolare riferimento ai parchi e alle pinete urbane

L'areale di distribuzione di *H. irregulare* si estende dalla pineta monumentale di Fregene a nord fino ad una piccola pineta urbana a San Felice Circeo a sud. Nell'entroterra, il fungo è stato segnalato a Castel di Guido in pinete di pino d'Aleppo (*Pinus halepensis*) e a Fossanova in formazioni forestali miste con pino domestico (Gonthier *et al.*, 2014). L'areale comprende anche la Foresta di Sabaudia nel Parco Nazionale del Circeo e la

città di Roma, dove il fungo è stato segnalato sia a Villa Ada sia a Villa Doria-Pamphili (Scirè *et al.*, 2008). A differenza della specie patogena nativa, *H. irregulare* è presente anche in alcuni popolamenti puri di querce caducifoglie (Gonthier *et al.*, 2012), i quali potrebbero aver funto da formazioni “ponte” favorendo la diffusione del fungo nelle formazioni a pino, che nella zona sono notoriamente molto frammentate.

Dunque, sebbene la maggior parte della mortalità si manifesti in impianti monospecifici di pino domestico, il fungo è stato segnalato anche in pinete parchive tipicamente urbane.

Per verificare se la frequenza del fungo variasse in queste due diverse formazioni, si è proceduto a confrontare, in due annate diverse (marzo 2006 e maggio 2010), la frequenza e il grado di deposizione di spore del fungo in pinete parchive urbane (pineta monumentale di Fregene e pineta di via Terracina a San Felice Circeo) e in formazioni monospecifiche di pino domestico con sesto di impianto regolare (pineta di Castelfusano e pineta La Gallinara di Anzio).

Fig. 3

Fig. 4

I campionamenti di spore sono stati eseguiti utilizzando come captaspore dischi di legno fresco ottenuti dal sezionamento di abeti rossi sani (Gonthier *et al.*, 2007). I dischi, del diametro di circa 12 cm e dello spessore di 0,5 cm, sono stati esposti nelle pinete per 24 ore in capsule Petri aperte contenenti carta assorbente sterile inumidita.

Fig. 5 a e b

In funzione dell'estensione superficiale delle formazioni confrontate, sono stati allestiti da 3 a 23 punti di campionamento, in modo tale da coprire il più uniformemente possibile l'intera superficie delle pinete. Per ciascun punto di campionamento sono stati esposti 4 dischi di legno disposti a 5 m dal centro del punto di campionamento, lungo le direzioni cardinali.

Dopo l'esposizione in pineta, i dischi sono stati incubati nelle capsule Petri chiuse, a temperatura ambiente (24°C), per circa 12-15 giorni. I dischi sono stati quindi ispezionati al microscopio stereoscopico per verificare la presenza di colonie di *Heterobasidion* derivanti dalla germinazione di ogni singola spora depositatasi durante il periodo di esposizione. Occorre precisare che mentre le colonie di *Heterobasidion* sono facilmente riconoscibili da quelle di altri funghi per via di alcune caratteristiche micromorfologiche, le colonie di *H. irregulare* sono morfologicamente indistinguibili da quelle della specie nativa *H. annosum*. Per escludere che le colonie potessero afferire a quest'ultima specie, un congruo campione di colonie (fino ad un massimo di 10 per ciascun disco) sono state isolate in coltura pura mediante espianto su substrato agarizzato. L'identificazione degli isolati di *Heterobasidion* a livello specifico e la conseguente assegnazione

delle spore alla specie esotica sono avvenute mediante una serie di analisi molecolari condotte con PCR e basate sia sul DNA nucleare sia sul DNA mitocondriale (Gonthier *et al.*, 2007).

Per ogni punto di campionamento è stato calcolato il valore normalizzato di numero di colonie (spore), tenendo conto della superficie dei dischi e del tempo di esposizione in pineta. Tale valore, noto come grado di deposizione, è stato espresso in numero di spore $m^{-2} h^{-1}$.

Sebbene la frequenza dei punti di campionamento interessati dalla deposizione di spore e soprattutto il grado di deposizione di spore siano risultati variare anche in modo rilevante a seconda dei periodi di campionamento in uno stesso sito e, nell'ambito di uno stesso periodo di campionamento, da sito a sito (tabella 1), le differenze osservate non sono mai state significative ($P > 0,05$; Kruskal-Wallis test o Mann-Whitney U test, usando come replicati i valori di ciascun punto di campionamento). Inoltre, confrontando il grado di deposizione medio tra pinete parchive urbane e formazioni monospecifiche di pino domestico con sesto di impianto regolare non emergono differenze significative ($P > 0,05$; Mann-Whitney U test).

Il grado di deposizione più basso è stato registrato nella pineta urbana di San Felice Circeo e ciò potrebbe essere imputabile, più che alla connotazione urbana della pineta, alla sua modesta estensione e/o al fatto che essendo localizzata ai margini dell'areale di invasione potrebbe essere stata colonizzata dal fungo solo di recente.

Modalità di infezione e propagazione: ruolo delle ceppaie e delle ferite di potatura

Heterobasidion irregulare è notoriamente in grado di infettare mediante spore superfici fresche di taglio. Considerata la sua rilevante presenza anche in pinete urbane periodicamente sottoposte a potature, alcune ricerche ed osservazioni sono state condotte nella pineta monumentale di Fregene per verificare se le ferite di potatura potessero essere bersaglio di infezione.

Fig. 6

Nel mese di ottobre del 2010, ricorrendo ad un cestello elevatore, si è proceduto a prelevare campioni sia da speroni di grossi rami (20 rotelle di 2 cm di spessore prelevate da altrettanti speroni) potati nel giugno precedente, sia da grossi speroni da potature passate (5-10 anni), con evidenti carie in atto (50 campioni consistenti in rotelle o, in caso di tessuti molto cariati, di opportuni tasselli). Per ciascun campione sono state allestite camere umide e tentati isolamenti *in vitro* per verificare la presenza del patogeno all'interno dei tessuti legnosi.

Negli speroni di potature recenti non è mai stato riscontrato *H. irregulare*, mentre nei vecchi tagli di potatura con carie in atto il fungo è stato isolato in un solo campione (0,014% dei casi), a dimostrazione che il patogeno può insediarsi in via del tutto occasionale in ferite di potatura.

Trattandosi di un agente di marciume radicale è escluso che un'infezione tramite ferita di potatura possa avere conseguenze fitopatologiche rilevanti sulla pianta. Tuttavia la differenziazione di corpi fruttiferi in corrispondenza di ferite di potatura poste in alto potrebbe avere rilevanza epidemiologica, poiché potrebbe consentire una distanza potenziale di disseminazione delle spore assai più elevata rispetto a quella comunemente raggiungibile da spore differenziate in corpi fruttiferi posti al livello del suolo, stimata al massimo in poche centinaia di metri (Garbelotto e Gonthier, 2013). Dalle accurate e numerose osservazioni (300-400 per anno) effettuate dal 2010 al 2012 tramite cestello elevatore sui vecchi tagli di potatura a Fregene, non sono mai stati osservati corpi fruttiferi di *H. irregulare*.

In linea con la biologia di tutte le specie di *Heterobasidion*, decisamente più importante è il ruolo delle ferite alla base dell'albero e soprattutto delle ceppaie fresche di taglio, che possono infettarsi ad opera delle spore e su cui il fungo fruttifica (Garbelotto e Gonthier, 2013). In seguito a tale infezione primaria si osserva quasi sempre un'infezione secondaria di piante limitrofe sane mediante propagazione del micelio tramite contatti radicali tra ceppaia e pianta o tra pianta e pianta. E' stato stimato che questa trasmissione secondaria nel Lazio proceda ad una velocità di circa 40 cm annui (Gonthier *et al.*, 2014). Il fungo è incapace di vivere nel suolo, quindi tale espansione richiede la presenza di contatti o anastomosi radicali tra diversi individui.

Fig. 7

Interpretare e gestire l'emergenza

Trattandosi di una specie esotica agente di una delle principali malattie forestali, lo stato di allerta è massimo soprattutto per il comparto forestale. La sua rilevante presenza nelle pinete e nei parchi urbani indica però che il patogeno può insediarsi efficacemente anche in questi contesti. Tale presenza non dovrebbe essere sottovalutata poiché il patogeno è letale e, portando a morte le piante, può vanificare investimenti di durata decennale. Inoltre la presenza del patogeno, spesso in pini ancora asintomatici, può essere un grave fattore di instabilità della pianta e può favorire schianti anche in presenza di vento debole (Gonthier *et al.*, 2014). Tale instabilità è un elemento notoriamente importante in ambiente urbano e parco. Va sottolineato che la diagnosi precoce (prima della comparsa dei sintomi) è assai difficile, se non avvalendosi di tecniche di biologia molecolare. Inoltre i primi sintomi potrebbero comparire solo quando oltre i due terzi dell'apparato radicale è già compromesso (Garbelotto e Gonthier, 2013).

Considerata la notevole estensione dell'areale di distribuzione del patogeno e la sua associazione con gli apparati radicali, l'eradicazione del fungo è improponibile (Gonthier *et al.*, 2014). Le risorse economiche devono essere utilizzate per intense campagne di monitoraggio volte a contrastare la diffusione del patogeno. Nei parchi e nelle pinete urbane colonizzate da *H. irregulare* occorre procedere al tempestivo abbattimento delle piante morte e sintomatiche e al loro interrimento in discarica. Le ceppaie delle piante infette, ivi comprese le radici con diametro superiore ai 5 cm, vanno estratte e smaltite come descritto in precedenza. Poiché è probabile che il patogeno sia stato introdotto tramite legno infetto, il legname

(inclusa la legna da ardere) proveniente da zone colonizzate non deve essere trasportato al di fuori dell'attuale zona di invasione, per evitare nuove introduzioni.

Per impedire l'infezione delle ceppaie derivanti dall'abbattimento di piante sane e interrompere quindi il ciclo biologico del patogeno, la superficie fresca di taglio deve essere trattata tempestivamente con urea in soluzione acquosa al 30% di concentrazione. Sebbene il patogeno esotico produca spore tutto l'anno (Garbelotto *et al.*, 2010), la loro concentrazione nell'aria è minore in estate che in autunno. Per limitare il rischio di nuove infezioni, i tagli e le potature dovrebbero quindi essere effettuate di preferenza nel periodo tardo estivo anziché in quello autunnale. Nella realizzazione di nuovi impianti o di reimpianti, occorrerebbe distanziare le piante quanto più possibile per ridurre la probabilità di contatti radicali e conseguentemente il rischio di trasmissione della malattia in età adulta.

Fig. 8

E' infine opportuno sottolineare che nonostante la velocità di invasione del fungo sia stata stimata in meno di 2 km annui (Gonthier *et al.*, 2007), tutti i calcoli si basano sul territorio laziale, dove i popolamenti boschivi sono rari e frammentati. In assenza di frammentazione, come per esempio nelle pinete costiere che dalla Toscana giungono fino alla penisola iberica, la velocità di invasione subirebbe una significativa accelerazione (Garbelotto *et al.*, 2013). E' quindi fondamentale impedire che il patogeno si diffonda al di fuori del Lazio, dove la frammentazione degli habitat forestali gioca a nostro favore.

Ringraziamenti

Gli autori ringraziano tutti i collaboratori che hanno coadiuvato i lavori di ricerca in campo e in laboratorio. La ricerca è stata finanziata dal Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca nell'ambito del programma PRIN (Progetti di Ricerca di Rilevante Interesse Nazionale).

Bibliografia

Bernetti G., 1998. Selvicoltura speciale. UTET, Torino, 415 pp.

Garbelotto M., Linzer R., Nicolotti G., Gonthier P. 2010. Comparing the influences of ecological and evolutionary factors on the successful invasion of a fungal forest pathogen. *Biological Invasions* 12, 943-957.

Garbelotto M., Gonthier, 2013. Biology, epidemiology, and control of *Heterobasidion* species worldwide. Annual Review of Phytopathology 51, 39-59.

Garbelotto M., Guglielmo F., Mascheretti S., Croucher P.J.P., Gonthier P., 2013. Population genetic analyses provide insights on the introduction pathway and spread patterns of the North American forest pathogen *Heterobasidion irregulare* in Italy. Molecular Ecology 22, 4855-4869.

Gonthier P., Warner R., Nicolotti G., Mazzaglia A., Garbelotto M., 2004. Pathogen introduction as a collateral effect of military activity. Mycological Research 108, 468-470.

Gonthier P., Nicolotti G., Linzer R., Guglielmo F., Garbelotto M., 2007. Invasion of European pine stands by a North American forest pathogen and its hybridization with a native interfertile taxon. Molecular Ecology 16, 1389-1400.

Gonthier P., Garbelotto M., 2011. Amplified fragment length polymorphism and sequence analyses reveal massive gene introgression from the European fungal pathogen *Heterobasidion annosum* into its introduced congener *H. irregulare*. Molecular Ecology 20, 2756-2770.

Gonthier P., Lione G., Giordano L., Garbelotto M., 2012. The American forest pathogen *Heterobasidion irregulare* colonizes unexpected habitats after its introduction in Italy. Ecological Applications 22, 2135-2143.

Gonthier P. *et al.*, 2014. An integrated approach to control the introduced forest pathogen *Heterobasidion irregulare* in Europe. Forestry, in stampa.

Morelli G., Raimbault P., 2011. Pino domestico in ambito urbano. Un cittadino sconosciuto. Acer 3/2011, 20-30.

Scirè M., D'Amico L., Motta E., Annesi T., 2008 North American P type of *Heterobasidion annosum* shows pathogenicity towards *Pinus halepensis* in Italy. Forest Pathology 38, 299-301.

Tabella 1. Percentuale di punti di campionamento interessati da deposizione di spore di *Heterobasidion irregulare* e grado di deposizione medio del fungo espresso in numero di spore m⁻² h⁻¹ in pinete parchive urbane e in formazioni monospecifiche di pino domestico con sesto di impianto regolare in due diversi periodi. Nell'ambito dello stesso periodo di campionamento, i valori di grado di deposizione contraddistinti dalla stessa lettera non differiscono significativamente (P> 0,05).

	superficie approssimativa (ha)	Campionamenti marzo 2006			Campionamenti maggio 2010		
		n. punti di campionamento	% punti con spore di <i>H. irregulare</i>	Grado di deposizione	n. punti di campionamento	% punti con spore di <i>H. irregulare</i>	Grado di deposizione
Parchi urbani							
Pineta monumentale di Fregene	18,7	6	100	15,171 a	23	65	130,082 a
Pineta di via Terracina a San Felice Circeo	0,3	3	33	3,656 a	-	-	-
Impianti monospecifici							
Pineta di Castelfusano	400,0	13	85	12,738 a	3	100	255,827 a

Pineta La Gallinara di Anzio	124,0	11	91	13,060 a	-	-	-
------------------------------------	-------	----	----	----------	---	---	---

Didascalie figure

Fig. 1. Corpi fruttiferi da mensola di *Heterobasidion irregulare*.

Fig. 2. Centri di mortalità di pino domestico causati da *Heterobasidion irregulare* nella Tenuta Presidenziale di Castelporziano.

Fig. 3. Pineta monumentale di Fregene. Si noti in primo piano la presenza di una ceppaia.

Fig. 4. Pineta di modesta estensione in via Terracina a San Felice Circeo, colonizzata da *Heterobasidion irregulare*.

Fig. 5. a) Disco di legno fresco di taglio di abete rosso esposto in pineta per intrappolare spore di *Heterobasidion* spp. b) colonia di *H. irregulare* (in centro) derivante dalla germinazione di una singola spora del patogeno depositatasi durante l'esposizione. Osservazione effettuata al microscopio stereoscopico dopo l'incubazione del disco di legno.

Fig. 6. Taglio di potatura a carico di un pino domestico a Fregene.

Fig. 7. Ceppaia di pino domestico con abbondanti fruttificazioni di *Heterobasidion irregulare*.

Fig. 8. Antica via romana nei pressi di Nettuno, in una zona colonizzata da *Heterobasidion irregulare*.