



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA  
FACOLTÀ DI AGRARIA

DIPARTIMENTO TERRITORIO E SISTEMI AGRO-FORESTALI  
Sezione di Patologia vegetale

TESI DI LAUREA IN TECNOLOGIE FORESTALI E AMBIENTALI

**PRESENZA DI *CHALARA FRAXINEA* KOWALSKI  
LUNGO IL CONFINE ITALO-SLOVENO**

Relatore:

Prof. Lucio Montecchio

Correlatore:

Dott. Dušan Jurc

Laureando:

Valentino Floreancig

Matricola n. 552049



**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA**  
**FACOLTÀ DI AGRARIA**

DIPARTIMENTO TERRITORIO E SISTEMI AGRO-FORESTALI  
Sezione di Patologia vegetale

TESI DI LAUREA IN TECNOLOGIE FORESTALI E AMBIENTALI

**PRESENZA DI *CHALARA FRAXINEA* KOWALSKI**  
**LUNGO IL CONFINE ITALO-SLOVENO**

Relatore:  
Prof. Lucio Montecchio

Correlatore:  
Dott. Dušan Jurc

Laureando:  
Valentino Floreancig  
Matricola n. 552049

# INDICE

<b>RIASSUNTO</b> .....	5
<b>ABSTRACT</b> .....	7
<b>1. INTRODUZIONE</b> .....	9
1.1 Note legislative .....	9
1.2 I frassini .....	16
1.3 Avversità del frassino .....	21
1.4 <i>Chalara fraxinea</i> .....	24
<b>2. SCOPO DEL LAVORO</b> .....	31
<b>3. MATERIALI E METODI</b> .....	33
3.1 Indagini di campo .....	33
3.2 Indagini di laboratorio .....	35
<b>4. RISULTATI</b> .....	37
4.1 In campo .....	37
4.2 In laboratorio .....	38
<b>5. CONCLUSIONE E DISCUSSIONI</b> .....	41
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	47
<b>ALLEGATI</b> .....	53
Allegato I .....	55
Allegato II .....	57
Allegato III .....	59
Allegato IV .....	61
Allegato V .....	68
<b>RINGRAZIAMENTI</b> .....	77



# Riassunto

Recentemente, nel 2006, è stata descritta una nuova specie fungina: *Chalara fraxinea*. Si ritiene che il deperimento progressivo in atto sulle specie appartenenti al genere *Fraxinus* possa essere spesso associato alla presenza di *C. fraxinea*.

L'infezione porta spesso ad una patogenesi cronica che può essere letale. In Europa questa malattia infettiva, osservata per la prima volta in Polonia negli anni '90, è attualmente in diffusione da est a ovest.

La presenza del parassita in Italia viene per la prima volta descritta nella presente tesi. Si riportano anche esempi di recenti studi condotti su questo fenomeno.

Lo studio di questa nuova malattia lungo la fascia confinaria italo-slovena della Provincia di Udine ha avuto come obiettivo l'accertamento della presenza dell'agente eziologico *C. fraxinea* anche in territorio italiano mediante l'individuazione del fungo su frassini con sintomi propri del deperimento.

Sono stati compiuti diversi sopralluoghi nelle Valli del Natisone, del Torre e nel Tarvisiano durante i quali sono stati raccolti campioni con sintomi sospetti.

I rilievi hanno confermato che il disseccamento del frassino interessa piante presenti in differenti condizioni stazionali e appartenenti a diverse classi di età ma è più comune tra i semenzali e gli alberi giovani.



# Abstract

Recently in 2006 *Chalara fraxinea*, a new fungal species, was described. It is assumed that progressive dieback of the species belonging to the *Fraxinus* genus is often related to the presence of *C. fraxinea*.

The infection in the living tissues often leads to a chronic pathogenesis that can be lethal. This infective disease was first observed in Poland in the nineties and is now spreading from Eastern to Western Europe.

The presence of *C. fraxinea* in Italy is described in this thesis for the first time. Recent studies carried out on this phenomenon are also reported in this work.

The aims of the study of this new disease along the Italo-Slovenian boundary in the Province of Udine, were to ascertain the presence of the aetiological agent *C. fraxinea* also in the Italian territory, identifying the fungus on ashes showing the typical symptoms of the dieback.

Many surveys were conducted in the Natisone and Torre valleys and in the surroundings of Tarvisio. During these surveys, many samples with suspicious symptoms were collected.

The surveys confirmed that the ash dieback affects plants in different site conditions and ages, but it is more common among seedlings and young trees.



# Introduzione

## Note legislative

Negli ultimi dieci anni in Europa è stato possibile osservare il diffondersi di una malattia causata da *Chalara fraxinea*, una nuova specie fungina descritta nel 2006 da Kowalski (2006). Colpisce le specie *excelsior* e *angustifolia* appartenenti al genere *Fraxinus*. Finora non ne è stata accertata la presenza su *Fraxinus ornus*.

Siccome potrebbe trattarsi di un organismo introdotto, la cui diffusione attuale sta avendo un effetto dannoso per la sopravvivenza del frassino, L'EPPO (*European and Mediterranean Plant Protection Organization*) ha aggiunto *C. fraxinea* alla propria *Alert List*<sup>1</sup>.

L'EPPO ha iniziato ad operare il 5 gennaio 1955 quando è stata approvata la Convenzione per l'istituzione dell'Organizzazione Europea per la Protezione delle Piante, firmata a Parigi il 18 aprile 1951.

Includendo questo patogeno nell'*Alert List*, l'EPPO si propone di portare all'attenzione degli stati membri i rischi legati ad alcuni organismi nocivi e di dare un avvertimento immediato. L'EPPO promuove anche lo scambio e la sintesi di informazioni raccolte nei vari stati membri facilitando così la collaborazione tra i rispettivi Servizi fitosanitari nazionali. Più precisamente cerca di prevenire l'entrata di pericolosi organismi nocivi nella "regione EPPO" o di evitarne la diffusione. In tal caso viene introdotta la cosiddetta quarantena fitosanitaria.

Molte volte l'ingresso di questi organismi va imputato ad una gestione sconsiderata del territorio. Per questo si è affidato a questa organizzazione internazionale il compito di identificare gli organismi nocivi che potrebbero presentare un rischio notevole per

---

<sup>1</sup> [http://www.eppo.org/QUARANTINE/Alert\\_List/fungi/Chalara\\_fraxinea.htm](http://www.eppo.org/QUARANTINE/Alert_List/fungi/Chalara_fraxinea.htm)

l'ambiente e di proporre misure fitosanitarie adeguate. Negli ultimi anni, inoltre, è stata standardizzata la modalità di identificazione di questi organismi.

Nell'*Alert List* gli organismi nocivi che vengono contrassegnati con un asterisco sono quelli in diffusione o in procinto di giungere negli stati membri. La data di entrata corrisponde alla data in cui l'organismo nocivo è stato aggiunto alla lista. Per esempio tra i parassiti fungini per quanto riguarda *C. fraxinea* la data di entrata è 2007/09.

Dopo un certo periodo se il rischio non è più così alto e non sono quindi necessari particolari provvedimenti fitosanitari, gli organismi nocivi vengono cancellati dall'*Alert List*. Al contrario, qualora si ritenga che i rischi siano elevati, gli organismi nocivi vengono trasferiti nelle liste *EPPO A1* o *A2* e nell'*Action List*.

Un'altra lista denominata *List of pests recommended for regulation as quarantine pests* ha lo scopo di assicurare la salute delle piante presenti negli stati membri. Per fare ciò è necessaria una documentazione appropriata per gli organismi nocivi che sono valutati seguendo il sistema proposto dall'*EPPO*. Nella lista sono distinti quelli assenti da quelli presenti nella "regione EPPO" (<http://www.eppo.org/>).

La Commissione Esecutiva e il Consiglio decidono, invece, se una specie deve essere aggiunta o meno a questa lista. Ciò implica che il rischio fitosanitario legato ad una qualsiasi entità nociva si è stato attentamente valutato in base alla cosiddetta *EPPO Pest Risk Analysis (PRA)*. Inoltre è necessario valutare anche l'impatto economico sulla zona a rischio (Ghisoli, 2005). Mentre in passato non veniva specificata l'area a rischio ora, secondo il nuovo approccio, risulta di primaria importanza.

Nel caso in cui, invece, non sia più giustificato un trattamento proprio di una specie che presenta un rischio fitosanitario reale, il *Panel on Phytosanitary Measures* dovrebbe sollecitare il *Working Party on Phytosanitary Regulations* a cancellare questo organismo dalla lista degli organismi nocivi da disciplinare. Questa raccomandazione viene approvata anche dalla Commissione Esecutiva e dal Consiglio.

Al momento la "regione EPPO" non riesce a soddisfare la reale domanda di *PRA* richieste a causa di problemi legati ai finanziamenti. Per questo l'Organizzazione sollecita una maggiore attenzione sulle urgenti questioni fitosanitarie. Inoltre è necessario adoperare anche le *PRA* nazionali come base per le raccomandazioni *EPPO*. In questo caso queste verrebbero esaminate dal *Panel on Phytosanitary Measures* che può così dare indicazioni, se appropriate, al *Working Party on Phytosanitary*

*Regulations*. A questo punto l'organismo nocivo può essere aggiunto alla *List of pests recommended for regulation*.

Lo scopo dell'*Action List* istituita nel 2005 è invece, quello di attirare l'attenzione degli stati membri sugli organismi nocivi presenti nelle liste *EPPO A1/A2* e delle *pests recommended for regulation* aggiunte di recente o che costituiscono un problema fitosanitario urgente. La lista citata dovrebbe essere mantenuta più corta possibile. L'aggiunta di organismi nocivi è decisa dalla Commissione Esecutiva e dal Consiglio. Il *Panel on Phytosanitary Measures* ha il compito di fare delle proposte al *Working Party on Phytosanitary Regulations* che, se supportate, portano ad una segnalazione rivolta alla Commissione Esecutiva e al Consiglio per l'inclusione di questi organismi nell'*Action List*.

Nel caso un organismo nocivo sia rimasto nell'*Action List* per più di cinque anni e non c'è quindi più motivo di mantenerlo o lo stesso è già regolato da tutti gli stati membri nelle zone a rischio, questo viene tolto dalla lista sulla base di una proposta del *Panel on Phytosanitary Measures* fatta al *Working Party on Phytosanitary Regulations*. Inoltre quando un organismo nocivo è cancellato dalla lista delle *pests recommended for regulation* viene automaticamente rimosso dall'*Action List*. Quando, invece un organismo nocivo viene rimosso dall'*Action List*, continuerà ad essere presente nell'elenco delle *pests recommended for regulation* per la "regione EPPO" ad eccezione del caso precedentemente menzionato.

La cosiddetta *Alert List* ha come scopo principale quello di mettere in allerta le organizzazioni nazionali di protezione delle piante nella "regione EPPO" sui rischi fitosanitari. A partire da questa lista si possono scegliere gli organismi nocivi per i quali sarebbe necessario ricorrere alla *PRA (Pest Risk Analysis)* in base al sistema *EPPO*.

Le specie vengono aggiunte dal Segretariato a cui anche le organizzazioni nazionali per la protezione delle piante sono sollecitate a proporre eventuali aggiunte all'*Alert List*. Esaminate le informazioni fornite, il *Panel on Phytosanitary Measures* esamina le proposte e decide la priorità con cui devono essere condotte le *PRA*. Si è anche proposto che gli organismi nocivi considerati prioritari per la *PRA* vengano contrassegnati da un asterisco. Sempre il *Panel on Phytosanitary Measures* può proporre la cancellazione degli organismi nocivi dall'*Alert List* se il rischio che l'organismo nocivo presenta è relativamente basso oppure se dopo tre anni di permanenza non è stato intrapreso alcun

provvedimento. Infine un organismo nocivo esce dalla lista in entrambe i casi in cui effettuata la *PRA*, l'organismo nocivo risulta soggetto a regolamentazione oppure no.

Come accennato, una delle priorità dell'EPPO è quella di prevenire l'introduzione di organismi nocivi pericolosi come batteri, funghi, piante e virus da altre zone del mondo e di limitarne la diffusione nelle regioni in cui dovessero arrivare. Negli ultimi anni le reti commerciali sono andate ampliandosi e diversificandosi. Questo fatto può spiegare l'aumento del rischio di introdurre organismi nocivi da nuove aree geografiche. Pertanto i provvedimenti messi in atto dagli stati membri per proteggersi dall'introduzione degli stessi, dovrebbero apparire a tutti tecnicamente giustificati. Nell'ambito dell'*International Plant Protection Convention (IPPC)* si è sviluppato, quindi, uno standard internazionale per le misure fitosanitarie (*ISPM*) sulla *PRA* (*ISPM n. 11*). A partire dagli anni '90 l'EPPO è stata coinvolta nello sviluppo di schemi *PRA* portando alla creazione di un gruppo di lavoro (*Panel*) per la redazione delle *Pest Risk Analysis*. Di recente è stato istituito un sistema per compiere la *PRA* a livello dell'EPPO. Infatti gli *Expert Working Groups* si sono accordati per svolgere le *PRA* su specifici organismi nocivi.

Nello sviluppare il *Pest Risk Assessment* e il *Pest Risk Management* è stato coinvolto il *Panel* riguardante la *PRA*. Ora che sono stati adottati degli standard internazionali (*ISPM n. 11* sulla *PRA* per gli organismi nocivi da quarantena e i relativi supplementi), la EPPO ha ritenuto che gli *Standards EPPO* andrebbero adattati a queste nuove situazioni. Ha comunque favorito il mantenimento degli schemi EPPO riguardanti il *Pest Risk Assessment* e il *Pest Risk Management*, poiché essi presentavano un valore aggiunto rispetto all'*ISPM n. 11* soprattutto per quanto riguarda la presentazione in sequenza logica delle domande riguardanti tutti gli elementi presenti in questa. Inoltre gli *Standards EPPO* riguardanti le analisi di rischio sono stati adattati anche alle piante invasive aliene. Ora gli schemi di *Pest Risk Assessment* e il *Pest Risk Management* sono stati combinati dall'EPPO in un unico *Decision-Support Scheme*. Ci si aspetta, comunque, che in futuro la richiesta di *PRA* tenderà ad aumentare (<http://www.eppo.org/>).

A livello nazionale il Servizio Fitosanitario svolge numerose funzioni tra cui la determinazione di standard tecnici per la vigilanza e il controllo a cui devono attenersi i

Servizi Fitosanitari Regionali, la raccolta di dati relativi alla presenza e alla diffusione di organismi nocivi vegetali e la loro successiva divulgazione sotto forma di relazione annuale. Il Servizio Fitosanitario Nazionale ha il compito di indicare esperti che rappresentino l'Italia presso i Comitati di lavoro CE in materia fitosanitaria, tenere rapporti con i corrispondenti Servizi dei Paesi CE o Terzi e con la Commissione CE e redigere bozze di provvedimenti riguardanti il recepimento delle norme CE in materia. In caso di necessità provvede anche alla redazione di programmi di lotta fitosanitaria obbligatoria, oltre a determinare le linee generali di salvaguardia fitosanitaria nazionale. Per quanto riguarda il supporto tecnico, il Servizio Fitosanitario Nazionale si avvale del Comitato Fitosanitario Nazionale, composto da rappresentanti dei Servizi Fitosanitari Regionali. Il Comitato collabora con il Servizio Fitosanitario Nazionale anche nell'elaborazione delle linee guida per i programmi di aggiornamento degli ispettori fitosanitari (<http://www.ciamarche.org/>).

In Italia, la direttiva comunitaria 91/683, 1991 secondo cui il paese speditore si rende garante dell'idoneità del materiale dal punto di vista fitosanitario, viene applicata col decreto ministeriale 31/01/1996 che contiene le "misure di protezione contro l'introduzione e/o la diffusione di organismi nocivi nel territorio della Repubblica italiana ai vegetali e ai prodotti vegetali". Ai Servizi Fitosanitari Regionali, istituiti col decreto legislativo 536/92 che recepisce la direttiva 91/683/CEE (D.M. 30/12/1992, n. 56) invece, viene affidato il compito di applicare sul territorio regionale le direttive fitosanitarie nazionali (Ghisoli, 2005) e accertare violazioni in materia fitosanitaria. Devono anche prescrivere sul territorio regionale tutte le misure necessarie ad evitare la diffusione di organismi nocivi ed eseguire controlli sull'applicazione dei metodi di lotta obbligatoria.

È prevista, inoltre, l'istituzione di zone aventi specifico status fitosanitario e prescrivere misure idonee a prevenire la diffusione di organismi nocivi, compreso il divieto di messa a dimora o l'estirpazione di piante contenenti tali organismi.

Spetta al Servizio Fitosanitario Regionale raccogliere e divulgare i dati riguardanti la presenza e la diffusione degli organismi nocivi anche mediante indagini specifiche e comunicarne poi la presenza nel territorio regionale al Servizio Fitosanitario Nazionale

mediante la redazione di relazioni periodiche sullo stato fitosanitario della Regione o di singole colture (<http://www.ciamarche.org/>).

In base al Regolamento di organizzazione dell'Amministrazione regionale e degli Enti regionali modificato con D.G.R. n. 1348 del 15.6.2006 l'Amministrazione regionale del Friuli-Venezia Giulia affida al Servizio Fitosanitario, Chimico-Agrario, Analisi e Certificazione il compito di esercitare le funzioni di competenza regionale del Servizio Fitosanitario Nazionale. La LR 1/07, art. 7, commi 58 e 59, prevede inoltre che il Servizio "attua, in via esclusiva, attività a valenza collettiva, di lotta guidata e integrata per la difesa delle piante, anche avvalendosi di organismi pubblici e privati".

Una delle molteplici funzioni svolte dal Servizio Fitosanitario Regionale è, tra l'altro, la vigilanza sull'attività vivaistica, sullo stato fitosanitario, sulla produzione, commercializzazione e circolazione dei vegetali e dei prodotti vegetali nel territorio regionale, compreso l'impiego in ambito agricolo, ornamentale e forestale di vegetali e di sementi geneticamente modificati. Esercita anche la diagnostica fitopatologica, cura studi e ricerche in materia fitopatologica e fitoiatrica e assicura il corretto impiego dei prodotti fitosanitari. Realizza, inoltre, programmi di intervento diretto e attua programmi strutturali e di prevenzione nel settore fitopatologico, nonché corrisponde gli eventuali indennizzi economici da questi previsti. Cura l'attività di diagnosi fitopatologica attraverso lo studio, la ricerca e le analisi delle malattie delle piante agrarie, forestali, ornamentali e della flora spontanea, dovute all'azione di agenti biotici e abiotici nonché al riconoscimento e alla caratterizzazione di organismi nocivi quali virus e virus-simili, batteri, fitoplasmi, funghi, nematodi, insetti e altri artropodi. Un ulteriore compito è quello di attuare interventi in materia di fitopatologia forestale. Tale disposizione è stata modificata e integrata dalla LR 23 aprile 2007, n. 9 "Norme in materia di risorse forestali" Sezione IV - Difesa Fitopatologica, agli articoli 75-78. Compie anche studi e indagini di laboratorio per il settore agro-ambientale e fornisce attività di supporto tecnico specialistico in materia fitosanitaria all'Amministrazione regionale e agli Enti pubblici in genere. Il Servizio Fitosanitario Regionale provvede anche all'aggiornamento degli ispettori fitosanitari.

Lo Stato Italiano si assume, dunque, l'onere di avviare un monitoraggio e per dare indicazioni sulle attività da intraprendere emana un decreto di lotta obbligatoria che, però, non viene imposto dall'*EPPO*. Inoltre il Servizio Fitosanitario Regionale è sì

tenuto a controllare la regolare applicazione dei metodi di lotta obbligatoria, ma può anche proporre altri interventi di questo tipo (<http://www.ersa.fvg.it/>).

Attualmente al Servizio Fitosanitario Regionale fa capo anche l'Inventario fitopatologico forestale del Friuli-Venezia Giulia (indicato con l'acronimo BAUSINVE) che è operativo presso il Servizio della Selvicoltura dal 1994. Si tratta di un servizio continuativo di monitoraggio fitosanitario dei boschi, rivolto prevalentemente allo studio dei danni arrecati da agenti biotici e da eventi meteorici avversi.

Le attività inventariali sono coordinate dal Servizio della Selvicoltura della Direzione regionale delle foreste e dal 2002 l'Inventario si avvale anche della consulenza scientifica del Dipartimento di Biologia Applicata alla Difesa delle Piante dell'Università degli Studi di Udine.

I rilievi necessari al controllo della situazione fitosanitaria nei boschi e negli impianti da legno vengono eseguiti dal personale del Corpo Forestale Regionale con la supervisione di patologi vegetali, entomologi e zoologi forestali. Per raccogliere le informazioni necessarie alle analisi di laboratorio, si utilizzano apposite schede di rilevamento a cui vengono allegati campioni biologici freschi o conservati, fotografie e ulteriori note descrittive. La sezione della scheda destinata al rilievo dei sintomi è comunque molto dettagliata e permette l'inserimento di oltre 250 sintomi diversi. Nella compilazione sono richieste anche un'accurata quantificazione dei danni osservati e una diagnosi, indicando uno o più possibili agenti eziologici.

Una volta raccolte, le schede vengono esaminate dai consulenti esperti di settore e per quanto riguarda i casi più complessi o di particolare urgenza vengono organizzati sopralluoghi di verifica alla presenza dei rilevatori. Infine, dopo essere stata validata e perfezionata, la scheda viene caricata nella banca dati come *record* definitivo.

Oltre all'individuazione dello stato fitosanitario dei boschi, tutte queste attività sono dirette anche alla formulazione di programmi previsionali e alla gestione delle avversità delle foreste nel Friuli-Venezia Giulia. Infatti, la quantità di dati attualmente disponibile permette numerosi percorsi di approfondimento e studio degli ecosistemi forestali i cui risultati vengono divulgati sia a livello nazionale che internazionale (Stergulc *et al.*, 1999; Stergulc *et al.*, 2002).

## I frassini

Il genere *Fraxinus* L., appartiene alla famiglia delle *Oleaceae* e comprende in tutto il mondo circa 70 specie arboree e arbustive di cui una sola sempreverde. Le specie presenti in Italia sono: *Fraxinus excelsior* L., *F. ornus* L. e *F. angustifolia* Wahl. I frassini si caratterizzano per le foglie opposte, composte e imparipennate (Gellini, 1975).

Fra le specie presenti in Europa l'orniello (*F. ornus*) è ben distinto e appartiene alla sezione *Ornus*, mentre il frassino maggiore (*F. excelsior*) e il frassino ossifillo (*F. angustifolia*) rientrano nella sezione *Fraxinaster* (Bernetti, 1995).

Nel caso dell'orniello, la fioritura avviene nella prima metà di maggio, poco dopo l'emissione delle foglie. I fiori sono provvisti di calice e corolla, sono per lo più ermafroditi, se unisessuali sono di norma femminili. Sono bianchi, profumati e lussureggianti e raggruppati in pannocchie all'apice dei rami dell'anno. L'impollinazione è entomofila. Le gemme sono grigie e leggermente tomentose. La gemma apicale è la più grande ed è coperta da quattro perule, mentre le laterali sono più piccole e coperte da due perule. L'apparato radicale si sviluppa soprattutto in superficie, solo alcune radici sono fittonanti (Brus, 2008). L'areale di *F. ornus* è principalmente mediterraneo orientale.

Per quanto riguarda *F. angustifolia* e *F. excelsior* la fioritura avviene prima della fogliazione e i fiori portati in pannocchie laterali sono sprovvisti di perianzio.

Spesso *F. angustifolia* è stato confuso con il frassino maggiore e con l'orniello. Nei paesi dell'Est anche il frassino ossifillo è argomento di studi non solo botanici ma anche selvicolturali e dendrometrici. È un componente immancabile dei lembi residui di bosco planiziaro e risale spesso i corsi d'acqua in forre e boschi umidi (Bernetti, 1995). Cresce soprattutto in suoli profondi, umidi e ricchi in sostanze nutritive. L'apparato radicale è superficiale e molto sviluppato in larghezza (Brus, 2008). L'areale di *F. angustifolia*, è mediterraneo ma il confine settentrionale dell'area distributiva è incerto. Si distingue dal frassino maggiore per le gemme tomentose verdi-brune e per avere le foglioline (segmenti) fornite al bordo di tanti dentelli quante sono le nervature secondarie (Pignatti, 1982).

Il frassino maggiore è una specie a portamento arboreo che si distingue dalle altre latifoglie esigenti per il grande sviluppo in altezza e per l'ampia frequenza in Europa. Raggiunge anche i 40 m di altezza e 1 m di diametro. Le gemme del frassino maggiore sono nere, piramidali e vellutate. La gemma apicale è di dimensioni maggiori rispetto alle laterali e le foglie sono composte da 7-15 foglioline che al bordo sono minutamente dentate e tali denti sono in numero superiore a quello delle nervature secondarie. I fiori possono essere sia ermafroditi che unisessuali. Come detto sopra la fioritura avviene prima della fogliazione e nonostante la mancanza della corolla, i fiori maschili e quelli bisessuati restano evidenti per le antere grosse e violette. Non sono rare le piante solo maschili o solo femminili. I tre tipi di fiori si distribuiscono con varie combinazioni sulle piante, compreso il caso di alberi che non fioriscono. I frutti sono samare lunghe fino a 40 mm, provviste di una lunga ala fogliacea. Maturano tra settembre e ottobre ma persistono sulla pianta per tutto l'inverno. Cresce sia su suoli acidi che su quelli basici, ma predilige ambienti freschi, ricchi in acqua, con clima oceanico o suboceanico, dove tanto il frassino maggiore, quanto l'ossifillo, spiegano tutta la loro capacità di accrescimento. La corteccia si presenta prima liscia e grigio-chiara, poi con fessurazioni a cratere alte circa 1 cm, ma non caduca. I rami giovani sono fin da subito robusti. Il legno è chiaro di colore bianco-giallastro a porosità anulare, poco differenziato fra albarno e durame, resistente ed elastico.

Sulle Alpi cresce al massimo fino ai 1600 m s.l.m., nel Caucaso fino a 1800 m s.l.m. (Bernetti, 2005; Brus, 2008).

Il limite occidentale dell'areale di distribuzione del frassino maggiore è rappresentato dalle coste atlantiche. Verso nord esso arriva fino alla Scozia, alla Danimarca e alle regioni meridionali di Svezia e Norvegia. A nord-est occupa il sud della Finlandia, la Polonia, gli Stati Baltici, parte della Russia fino ai monti Urali. Più a est si trova anche nella Turchia settentrionale fino al Caucaso. Il limite meridionale taglia la penisola Iberica nel terzo settentrionale e passa per l'Appennino settentrionale e per la Grecia (Gellini, 1975; Bernetti, 1995).

In Italia il frassino maggiore sale a quote submontane e montane concentrandosi nei boschi di forra, nelle esposizioni settentrionali e anche come colonizzatore di campi o di castagneti abbandonati. In passato era tenuto spesso ai margini dei prati (Fig. 1.1) come

risorsa di frasca da foraggio ottenuta applicando la tecnica dello sgamollo (Bernetti, 2005).

È molto presente sulle Alpi e sulle Prealpi, dove si colloca nella fascia collinare e montana della regione esalpica e mesalpica. Il frassino maggiore, in presenza di abbondante disponibilità idrica, scende di quota, fino in pianura, dove incontra il suo limite, rappresentato dal ristagno idrico. In questo caso viene allora sostituito dal frassino ossifillo, specie caratteristica dei quercu-carpineti planiziali. Nel suo *optimum* il frassino maggiore si diffonde massicciamente grazie all'abbondante fruttificazione, alla facilità di diffusione e alla buona germinabilità del seme, e alla rapida crescita iniziale. Il limite altitudinale superiore è invece rappresentato dalle gelate tardive cui è particolarmente sensibile a livello della gemma apicale. In vicinanza di questo limite superiore si osservano, infatti, molti soggetti biforcati (Del Favero, 2004; Lupieri, 2004). Sui suoli fertili, profondi e incoerenti come gli ex coltivi, il frassino maggiore rappresenta un elemento di invasione. La rinnovazione naturale è considerata facile anche se i semenzali subiscono una rapida diminuzione di numero attribuibile alla concorrenza radicale (Perrin, 1954 in Gravano, 2003).

Dal punto di vista ecologico ha molte affinità con l'acero montano. Si presenta in generale anche in stazioni più umide ma non paludose come i querceti di farnia delle pianure alluvionali. Infatti risale moderatamente nella direzione montana mentre tende a discendere fino alle pianure preferenzialmente lungo i fondovalle dove si concentra a strisce lungo i corsi d'acqua (Bernetti, 1995). Nei quercu-carpineti planiziali oltre alle specie principali, il frassino maggiore è presente come specie sporadica assieme al frassino ossifillo, all'acero campestre, all'olmo campestre e al ciliegio selvatico (Pividori, 2009).

Di rado è possibile osservare il frassino anche in boschi di terreni calcarei superficiali dove le piante di frassino, frammiste ad altre piante xerofile, sono basse e contorte. I boschi in cui il frassino è presente in maniera più consistente sono i cosiddetti aceri-frassineti, formazioni assai ricche di flora arborea. Essi, infatti, costituiscono il punto d'incontro tra *F. excelsior*, *Acer pseudoplatanus* L. e altre latifoglie nobili (Bernetti, 1995).

In Friuli-Venezia Giulia, oltre che nei vari tipi di aceri-frassineti (con faggio, con ontano nero, con osteria, tipico, tipico var. con tiglio e var. esalpica interna), il frassino

maggiore è presente anche in castagneti, carpineti, rimboschimenti e neocolonizzazioni (Del Favero *et al.*, 1998).

Il frassino è presente in tutta l'area delle Prealpi Giulie che è compresa tra l'isoieta dei 2000 e 3000 mm annui di pioggia, massimi in corrispondenza della catena dei Musi (3332 mm nel 1960 e 4880 mm nel 1826). A determinare questi che sono i più elevati livelli di precipitazione della penisola italiana, contribuisce sicuramente la ridotta distanza dal mare Adriatico e le catene montuose orientate Est-Ovest, responsabili dell'improvviso innalzamento delle masse d'aria calde cariche di umidità che si trasformano poi in abbondanti precipitazioni (Lupieri, 2004).

Riguardo alla struttura chimico-fisica del terreno il frassino maggiore può essere considerata una specie ad elevata amplitudine ecologica. L'*optimum* vegetazionale è raggiunto in stazioni con buon drenaggio, a livello impermeabile profondo e senza ristagni idrici con un certo tenore in calcare che originano terreni fertili, poco coerenti, a reazione alcalina, neutra o anche sub-acidi. Tollera i suoli limosi o moderatamente argillosi ed è una specie molto reattiva nei confronti delle concimazioni azotate (Gravano, 2003).

I suoli delle Valli del Torre e del Natisone, che si trovano nella porzione meridionale delle Prealpi Giulie, appartengono prevalentemente alla categoria dei substrati silicatici flyscioidi del Cenozoico. In questi suoli arenoso-marnacei, nonostante lo scheletro sia abbondante, la fertilità è comunque elevatissima, grazie all'impermeabilità degli stessi, che garantisce l'accumulo di limo e dei nutrienti come l'azoto. Alle volte la fertilità è da ascrivere anche alla trascorsa attività antropica condotta sui terreni usati come coltivo. Sia le caratteristiche climatiche sia quelle edafiche, proprie dei versanti settentrionali delle Prealpi Giulie, permettono dunque l'insediamento di popolamenti composti da frassino maggiore e acero di monte, due tra le specie forestali ecologicamente più esigenti (Lupieri, 2004).

Allo stato adulto il frassino maggiore si caratterizza per la sua eliofilia e per l'intolleranza alla concorrenza laterale. Sopporta l'ombreggiamento solamente da giovane e nei terreni ricchi di azoto. La tolleranza nei confronti dell'ombra si esplica al meglio nelle giovani piantine che possono resistere sotto copertura per qualche decennio. La lettiera è prontamente alterabile e molto miglioratrice del terreno. Il frassino maggiore ha minori bisogni di respirazione radicale rispetto all'acero montano

ed è stato dimostrato che le radici sono in grado di sopportare fino a 100 giorni di sommersione (Bernetti, 1995; 2005).

Resiste in maniera efficace alle temperature minime assolute, ma risulta molto suscettibile alle gelate tardive e particolarmente esposto al ricorrente fenomeno della galaverna o più precisamente del gelicidio. Il fenomeno prelude il brusco passaggio fra condizioni atmosferiche piovose e condizioni di tempo freddo con venti di origine continentale. A ciò segue la formazione di manicotti di ghiaccio intorno ai fusti e ai rami delle piante. Se al gelicidio si accompagnano venti di una certa intensità, le piante diventano particolarmente suscettibili agli schianti (Lupieri, 2004; Bernetti, 2005).

Spesso le esigenze di *F. excelsior* vengono confrontate con quelle di *A. pseudoplatanus*, visto che le due specie hanno un ampio campo di coesistenza (Okali, 1966 in Bernetti, 1995).

Oltre al rifornimento idrico il frassino maggiore è molto esigente per quanto riguarda il calore e la lunghezza del periodo vegetativo (Asthalter, 1984 in Bernetti, 1995). Sopporta male i periodi siccitosi, mentre è in grado di tollerare le alte temperature se in presenza di abbondante umidità (Brus, 2008).

Il frassino maggiore, dunque, è una specie più stenoecia e la sua diffusione è legata maggiormente al fattore disponibilità idrica rispetto all'acero montano sul quale il frassino prevale o meno a seconda dei casi.

Secondo Fichesser (1970 in Duflot, 1995) un frassino adulto durante l'estate evapotraspira giornalmente, attraverso i suoi stomi almeno 200 l d'acqua. Il frassino, infatti, è dotato di un doppio apparato radicale. Una parte di questo apparato esplora il suolo superficiale, mentre quella profonda recupera acqua nella falda. Il frassino è esigente anche dal punto di vista della qualità dell'acqua che se stagnante o peggio se inquinata, causa il manifestarsi del cuore nero e delle biforcazioni al fusto. Inoltre, se le biforcazioni sono troppo strette, l'acqua piovana entra poco a poco nel fusto creando così le condizioni ideali all'innesco di temibili marciumi.

## Avversità

Per quanto riguarda le avversità biotiche, invece il frassino ha diversi nemici naturali tra cui vegetali, animali, insetti, batteri e funghi.

Tra i vegetali si può ricordare l'edera (*Hedera helix* L.), che però a detta dell'autore non influisce sulla crescita della pianta e la clematide (*Clematis vitalba* L. e *Clematis recta* L.) che avvolge le chiome degli alberi giovani lungo i margini (Dufлот, 1995). Nei giovani impianti, inoltre, soffre particolarmente la concorrenza radicale di erbe, soprattutto delle leguminose (Buckley *et al.*, 1981 in Bernetti, 1995). Secondo Ziliotto (2009) non si tratterebbe di una vera e propria competizione, bensì di una simbiosi mutualistica tra le due specie.

Nel caso degli animali, il frassino è molto sensibile allo scortecciamento e al brucamento di germogli e foglie arrecati dal cervo (*Cervus elaphus* L.) e dal capriolo (*Capreolus capreolus* L.), mentre il cinghiale (*Sus scrofa* L.) può danneggiare l'apparato radicale. La lepre (*Lepus europaeus* L.) e il coniglio (*Oryctolagus cuniculus* L.) causano sia danni alle giovani piante sia danni legati alla predazione del seme. Tra i piccoli roditori che possono arrecare danni di entità minore alle radici delle plantule che si trovano lungo la traiettoria delle gallerie, si possono annoverare *Microtus arvalis* Pallas, *Arvicola terrestris* L. e *Microtus agrestis* L. (Thill, 1970; Dufлот, 1995).

L'acaro *Aceria fraxinivora* Nalepa, invece può penetrare all'interno delle gemme vegetative e riproduttive del frassino dove comincia a nutrirsi delle cellule epidermiche, alterando così la morfogenesi. Per esempio, l'allungamento degli internodi viene inibito e lo sviluppo delle foglie più o meno modificato a seconda dei casi (Anthony *et al.*, 1983; 1988; in Anthony e Sattier, 1990).

Tra gli insetti, invece, ne vanno ricordati alcuni che assumono diversa importanza in relazione alla loro virulenza. *Leperisimus varius* Fabricius, conosciuto come ilesino del frassino, colonizza le oleacee e comunemente i frassini lasciando le cosiddette rose di frassino (o *ash roses*), caratteristiche rugosità in corrispondenza dei cunicoli di maturazione e di svernamento. Si tratta di un coleottero scolitide monogamo che prolifica su un sistema trasversale doppio incidendo anche l'alburno. Nell'ambito di quest'entità alcuni autori individuano due specie, *L. fraxini* Fabricius e *L. orni* Fuchs. A seconda degli ambienti compie una o due generazioni (Masutti, 2003). In Friuli-Venezia

Giulia l'insetto è comunissimo nei boschi mesofili e mesotermofili della fascia collinare e prealpina e nei boschi umidi di pianura. Può essere molto dannoso solo in caso di indebolimento vegetativo delle piante soprattutto in occasione di periodi siccitosi e in stazioni caratterizzate da suoli asciutti e permeabili. Le popolazioni di questo insetto rimangono per lo più in condizioni di latenza limitandosi ad infestazioni occasionali su legname in catasta e su polloni in deperimento (Stergulc e Frigimelica, 1996).

*Prociphilus fraxini* Fabricius o afide dei nidi di foglie di frassino è un afide dioico tra la chioma dei frassini e le radici dell'abete bianco, ma può mantenere anche dei paracicli in assenza di uno dei due ospiti. Mentre può nuocere molto in vivaio e nei popolamenti in rinnovazione di abete bianco, sui frassini solitamente non causa danni degni di nota, anche se presente in numero elevato. Le punture causate dalle femmine fondatrici sui rametti del frassino portano a vistose deformazioni che formano caratteristici nidi di foglie all'interno dei quali sono visibili gli afidi di colore grigio rosato (Stergulc e Frigimelica, 1996; Masutti, 2003).

Il ciono del frassino o *Stereonychus fraxini* De Geer si distingue per le viscoso-emissioni intestinali che rivestono le larve striscianti sulla vegetazione dei frassini di cui rodono le foglie rispettando l'epidermide superiore (Masutti, 2003). Questo curculionide defogliatore può svilupparsi notevolmente anche in boschi a larga partecipazione di frassini non causando, però, danni degni di nota. Nel Friuli-Venezia Giulia è comune sul frassino ossifillo nei boschi di pianura. In primavera gli adulti svernanti cominciano a rodere le gemme e le femmine depongono le uova sulla pagina inferiore delle foglie appena emesse. Le piccole larve cominciano a rodere i tessuti fogliari risparmiando, in un primo momento, l'epidermide superiore per poi bucherellare intensamente la lamina fogliare una volta diventate mature. Gli adulti possono avviare una seconda o anche una terza generazione provocando ripetute defogliazioni ai frassini sia adulti che giovani. Vi sono anche immediate conseguenze circa la produzione di seme imputabili ai danni causati dagli adulti alle gemme fiorali (Stergulc e Frigimelica, 1996).

Il frassino è soggetto anche ai danni arrecati dal grosso calabrone o *Vespa crabro* L. che edifica enormi nidi a favi sovrapposti, avvolti in uno o più strati di cartone nelle cavità di tronchi o muri (Masutti, 2003). Questo imenottero contribuisce a deformare i fusti scorticando i giovani frassini per ottenerne linfa e residui legnosi.

Un altro insetto dannoso è *Tinea curtisella* Don, un microlepidottero le cui larve della prima generazione possono devastare le foglie mentre quelle della seconda generazione svernano nelle gemme terminali provocando deformazioni ai fusti che si atrofizzano e biforcano (Thill, 1970).

La batteriosi del frassino è determinata, invece, da *Pseudomonas syringae* ssp. *savastanoi* pv *fraxini* (Smith) Janse. Le infezioni di questo batterio, che si verificano in primavera, portano alla formazione di tumori<sup>2</sup> molto irregolari spesso simili a cancri<sup>3</sup> che rendono la patologia macroscopicamente visibile. I batteri penetrano nell'ospite passando per soluzioni di continuità dei tessuti di rivestimento naturali, come lenticelle, cicatrici fogliari o lesioni da gelo e grandine, o artificiali. La malattia si manifesta dapprima con protuberanze sul fusto o sui rami che aumentano progressivamente di volume. I tumori che ne derivano sono caratterizzati dalla presenza di scuri ammassi tissutali anomali e di consistenza spugnosa che continuano ad espandersi di anno in anno durante la stagione vegetativa (Stergulc e Frigimelica, 1996). Su queste neoplasie si aprono varie fenditure irregolari dalle quali emergono i batteri disperdendosi poi nell'ambiente (Moriondo, 2006). Le cavità che vengono a formarsi sono talmente profonde da compromettere seriamente la qualità tecnologica del legname (Lupieri, 2004). Queste formazioni cancerose non vanno, però, confuse con quelle provocate da funghi appartenenti al genere *Nectria*. Nei cancri da *Nectria*, infatti, i cerchi cicatriziali sono disposti più regolarmente rispetto ai tumori da *P. syringae* (Stergulc e Frigimelica, 1996). I primi sintomi sono le necrosi settoriali che causano depressioni corticali. Se l'infezione interessa l'intera circonferenza, il cimale dissecca, mentre se la circonferenza viene colpita parzialmente, il cancro continua ad espandersi portando alla progressiva deformazione dell'asse del ramo. La patologia, particolarmente dannosa per la rinnovazione, può essere favorita da periodi umidi e dalle basse temperature (Moriondo, 2006). Secondo Duflot (1995) sembra che il coleottero scolitide *Leperisinus varius* Fabricius, possa in qualche modo favorire la diffusione dei due precedenti patogeni.

---

<sup>2</sup> Degenerazione di tessuti

<sup>3</sup> Necrosi di origine infettiva

## *Chalara fraxinea*

Il deperimento osservato in Europa su larga scala dagli anni '90 ad oggi può essere considerato il più grave tra i problemi fitosanitari che colpiscono il frassino, sia per la veloce capacità di diffusione dell'agente eziologico, sia per i danni ingenti arrecati al patrimonio forestale in molti Stati europei. Il frassino maggiore, infatti, è una specie arborea ecologicamente ed economicamente importante in molte zone d'Europa.

Oltre che su *F. excelsior*, il fenomeno di deperimento è stato riscontrato anche su *F. angustifolia* (Cech e Hoyer-Tomiczek, 2007; Schumacher *et al.*, 2007; in Bakys *et al.*, 2008), mentre non ne è stata ancora accertata la presenza su *F. ornus*.

Kirisits *et al.* (2008) hanno isolato il fungo anche dalle due sottospecie *F. angustifolia* subsp. *danubialis* e da *F. excelsior* subsp. *pendula*.

Finora questa malattia letale è stata segnalata per la prima volta nella parte nord-occidentale della Polonia e successivamente in Lituania, Estonia, Lettonia, Germania, Svezia, Danimarca, Austria, Norvegia, Finlandia, Slovacchia, Repubblica ceca, Ungheria, Svizzera, Francia, Croazia, Slovenia e ora anche in Italia.

A titolo di esempio in Lituania entro il 2002 oltre 30.000 ha di popolamenti sono stati colpiti dal deperimento, portando ad una mortalità del frassino maggiore pari al 60% degli alberi adulti, mentre in alcune parti del Paese soltanto circa il 2% dei *F. excelsior* è rimasto visibilmente sano. Anche in Svezia i sintomi acuti della malattia e la morte delle piante sono stati largamente segnalati su quasi tutto l'areale di distribuzione della specie (Juodvalkis e Vasiliauskas, 2002; Barklund, 2005; 2006 in Bakys *et al.*, 2008).

Come affermano Shumacher *et al.* (2008) nell'Europa centro-settentrionale sono specialmente le piante impiegate nei rimboschimenti a creare problemi di rilevanza economica.

Il deperimento interessa alberi di tutte le età, indipendentemente dalle caratteristiche stagionali e dai metodi di rinnovazione, sia in foresta sia in vivaio. All'inizio compaiono sui fusti e sui rami piccole macchie necrotiche, che progressivamente aumentano di dimensione senza emissione di essudati (Przybył, 2002; Kowalski e Łukomska, 2005 in Kowalski, 2006).

Sulle chiome dei frassini deperenti è possibile osservare un ampio spettro di sintomi diffusi o localizzati come per esempio l'avvizzimento e la perdita prematura delle foglie, necrosi fogliari, delle gemme, dei piccioli fogliari e della corteccia, il disseccamento della cima e dei germogli e i cancri attivi sui germogli, sui rami e sul fusto (Przybyl, 2002; Barklund, 2005; Kowalski e Lukomska, 2005; Cech, 2006; Thomsen e Skovsgaard, 2006; Schumacher *et al.*, 2007; Thomsen *et al.*, 2007; Kirisits e Halmschlager, 2008; Skovsgaard *et al.*, 2009 in Bakys *et al.*, 2009a).

In primavera è anche possibile osservare su molti alberi le samare ancora attaccate ai rami completamente disseccati (Jurc e Ogris, 2008).

Oltre ai precedenti sono evidenti lo scolorimento nerastro delle foglie, nonché il disseccamento dei fusti, dei getti e dei rami, necrosi dei tessuti corticali, discrete lesioni necrotiche presenti nella corteccia e uno scolorimento grigio-nerastro del legno, spesso esteso in direzione longitudinale al di là delle aree necrotizzate visibili sulla corteccia (Halmschlager e Kirisits, 2008). Il fungo, infatti, si espande più velocemente nello xilema rispetto al floema (Ogris, 2008).

Inoltre, gli alberi colpiti hanno mostrato un'abbondante formazione di rami epicormici (Halmschlager e Kirisits, 2008).

I cancri di forma allungata presenti sul fusto e sui rami devitalizzano la corteccia e causano uno scolorimento irregolarmente cuneiforme visibile in sezione trasversale. Nel lungo periodo i ripetuti disseccamenti o alternati alle ricrescite conducono ad un caratteristico portamento arbustivo dei cimali o addirittura alla morte dell'albero (Bakys *et al.*, 2009b).

Le piante giovani possono disseccarsi completamente anche in una sola stagione, mentre l'albero adulto dopo alcuni anni (Ogris, 2009a).

Come si evince dalla localizzazione dei sintomi, un'altra caratteristica di *Chalara fraxinea* è il suo manifestarsi in molte parti e tessuti di *F. excelsior* in fase di deperimento che esibiscono sintomi differenti. È stata rinvenuta su foglie, gemme, germogli, fusti e radici, a dimostrazione della sua capacità di colonizzare un ampio spettro di nicchie ecologiche (Przybyl, 2002; Kowalski e Lukomska, 2005; Lygis *et al.*, 2005; Kowalski, 2006; Schumacher *et al.*, 2007; Halmschlager e Kirisits, 2008 in Bakys, 2008).

In un articolo pubblicato nel 2009, gli autori Bakys *et al.* descrivono uno studio intrapreso principalmente allo scopo di valutare la presenza di *C. fraxinea* in diverse parti di *F. excelsior* deperenti, con o senza sintomi, mediante isolati fungini ottenuti su diversi substrati e con analisi diretta dei tessuti usando tecniche molecolari (estrazione del DNA, ITS-PCR, clonazione, sequenziamento ITS e il T-RFLP). In secondo luogo si è voluto studiare con metodi molecolari le comunità fungine che abitano i tessuti degli alberi con l'avanzare del deperimento. Infine si è testata la patogenicità di differenti ceppi di *C. fraxinea* nei confronti di giovani piante di *F. excelsior* dimostrando come differenti isolati di *C. fraxinea* possano differire quanto ad aggressività.

Inoltre sono state accertate notevoli differenze, tra alberi inoculati con il medesimo ceppo fungino nella resistenza al patogeno, esplicita in un ampio range di lunghezza delle necrosi. Questo studio ha anche dimostrato l'assenza di *Phytophthora* ssp. dai campioni esaminati, implicando che è inverosimile che questo fungo sia coinvolto nel deperimento di *F. excelsior*. La presenza di questo oomicete è stata segnalata soltanto nei tessuti delle piante con sintomi propri di un deperimento in stadio avanzato (Bakys *et al.*, 2009a).

All'inizio del processo patologico, invece, è stato possibile isolare un fungo appartenente al genere *Chalara* pressoché dal 70% dei germogli. Lo stesso fungo è stato trovato anche in radici morte di frassini ancora viventi (Kowalski, 2001; Kowalski e Łukomska, 2005 in Kowalski, 2006).

Nel 2006, Kowalski propone *Chalara fraxinea* come una nuova specie e ne descrive le caratteristiche morfologiche<sup>3</sup> (Kowalski, 2006).

Dalle evidenze sperimentali si può affermare che *C. fraxinea* è associata ai sintomi iniziali del deperimento. Inoltre, la patogenicità di questo fungo nei confronti di *F. excelsior* è stata confermata anche durante gli esperimenti riguardanti l'inoculazione artificiale su giovani alberi. Pertanto si ritiene che il disseccamento ora in atto in Europa non sia una patologia complessa, ma una malattia infettiva causata da *C. fraxinea* (Kirisits *et al.*, 2008).

In un altro studio basato su inoculazioni artificiali condotte nell'ambito di tre esperimenti della durata di 2, 3 e 12 mesi, il fungo è stato reisolato dal 4% dei campioni nel primo esperimento, dal 19% nel secondo e dal 9% nell'ultimo. Da ciò si può

---

<sup>3</sup> Cfr. "Allegato I"

concludere che, per periodi prolungati, *C. fraxinea* sopravvive soltanto in una piccola parte delle lesioni oppure, al contrario, il reisolamento del patogeno viene impedito da funghi a rapido accrescimento dopo una prolungata incubazione.

I cancri, invece, sono perenni ma *C. fraxinea* potrebbe essere messa fuori competizione da altri microorganismi. Durante gli esperimenti, oltre al frassino, sono stati inoculati anche tre fusti di *Acer pseudoplatanus* L. e tre rami di *Sambucus nigra* L. su arbusti differenti. Sui pochi campioni inoculati, però, non si sono sviluppate lesioni e non è stato possibile reisolare *C. fraxinea* (Kowalski e Holdenrieder, 2008).

Schumacher *et al.* (2008) affermano che è regolarmente possibile isolare il fungo *C. fraxinea* dal legno color brunastro, ma non dalle porzioni sane di xilema, radici e corteccia. Per questo motivo il fungo è considerato un patogeno vascolare, senza le comuni caratteristiche endofitiche. I piccioli fogliari e le gemme sembrano essere importanti vie di penetrazione che permettono al fungo di infettare i vasi del tessuto legnoso.

Inoltre alcuni ricercatori della Repubblica Ceca hanno ipotizzato che gli afidi *Prociphilus bumeliae* Schrank e *P. fraxini* Fabricius potrebbero svolgere un ruolo fondamentale nel manifestarsi del deperimento (Jankovský *et al.*, 2009 in Ogris, 2009b). Affermano che l'afide non trasporta il fungo, ma ha un ruolo nella predisposizione del frassino alla malattia. Gli effetti dovuti all'attività di suzione della linfa elaborata sono sottili lesioni sulle foglie e sulla corteccia che consentono una penetrazione più agevole del patogeno nei tessuti della pianta. Per validare quest'ipotesi è stato eseguito un esperimento in cui si è trattato con insetticidi una parte dei semenzali, mentre altri non hanno subito alcun trattamento chimico. Alla fine dell'esperimento quelli trattati con insetticidi presentavano meno danni legati al deperimento rispetto a quelli non trattati. Altri fattori che possono causare piccole lesioni e facilitare l'ingresso degli organismi patogeni, sono la grandine e altri agenti di danno meccanico (Ogris, 2009b).

Nel 2006 era già stata dimostrata la suscettibilità di *F. excelsior* al patogeno *C. fraxinea* sia durante la fase di dormienza, sia durante i primi stadi della fase vegetativa, ma i modelli di diffusione stagionale dell'infezione dovevano ancora essere chiariti (Bakys *et al.*, 2009a).

I conidi mucilluginosi di *C. fraxinea* sono stati osservati molto raramente in campo e non sono stati rinvenuti vettori. Per questo si è supposto che un teleomorfo avrebbe potuto giocare un ruolo fondamentale nell'epidemiologia del patogeno.

Un'altra caratteristica ha suggerito l'esistenza del teleomorfo. Infatti, per quanto riguarda *C. fraxinea*, è stata osservata una grande variabilità morfologica nei colori e nella forma del micelio. Questa variabilità può avere origine solamente durante i processi di meiosi e per questo già nel 2006, all'atto della descrizione del fungo *C. fraxinea*, si è supposto che il fungo formasse anche il teleomorfo (Jurc, 2009).

In Polonia, nell'agosto e settembre 2008, è stato osservato un discomicete in un vivaio e in un popolamento di frassino entrambe interessate dal deperimento. Gli apotecii erano sparpagliati, di colore bianco crema e si erano manifestati preferenzialmente sui piccioli fogliari dell'anno precedente presenti nella lettiera, ma occasionalmente anche sui germogli dei semenzali di 1-3 anni disseccati (Kowalski e Holdenrieder, 2009). In Slovenia, invece, è stato possibile osservare gli apotecii già a metà maggio 2009 (Ogris, 2009b).

Il fungo è stato identificato come *Hymenoscyphus albidus* (Roberge ex Desm.) Phillips, sottoclasse *Leotiomycetidae*, ordine *Helotiales*, famiglia *Helotiaceae*. A partire da una coltura di ascospore, confronti morfologici e sequenziamenti nucleari ribosomali ITS (internal transcribed spacer), è stata confermata l'identità tra l'anamorfo *Chalara fraxinea* e il teleomorfo citato (Kowalski e Holdenrieder, 2009).

Ciò significa che una specie fungina forma due tipi di spore, conidi nel caso dell'anamorfo *C. fraxinea* e spore sessuate per quanto riguarda il teleomorfo *H. albidus*. Gli anamorfi del genere *Chalara* hanno nella maggior parte dei casi i teleomorfi classificati nel genere *Ceratocystis* e tutti questi funghi hanno i corpi fruttiferi nella forma di periteci. *C. fraxinea* è una delle rare eccezioni che presenta i corpi fruttiferi del teleomorfo *H. albidus* sotto forma di apotecii (Jurc, 2009).

I caratteri distintivi di *H. albidus* rispetto ad altri funghi molto simili appartenenti al genere *Hymenoscyphus* sono la specializzazione su piccioli di frassino nella lettiera (Fig. 1.2) e lo strato pseudoscleroziale scuro, un denso intreccio di ife nere presente sul tessuto ospite (Breitenbach e Kränzlin, 1984; Dennis, 1981; Dennis, 1956 in Kowalski e Holdenrieder, 2009).

Questo discomicete è stato descritto già nel 1850 dal micologo francese Michel Robert Roberge come *Peziza albida* e, nonostante sia stato raccolto di rado, è alquanto diffuso in Europa (Kowalski e Holdenrieder, 2009).

Anche in Repubblica Ceca precedenti studi micofloristici hanno confermato che *H. albidus* (Roberge ex Desm.) Phillips, è conosciuto per essere una specie molto comune (Jankovský e Holdenrieder, 2009).

Un altro test di patogenicità, riguardante in questo caso l'inoculazione artificiale del teleomorfo *H. albidus* in diverse specie di frassini, ha rivelato che il più suscettibile al patogeno è *F. angustifolia*, seguito da *F. excelsior* e infine da *F. americana*. Il test non è stato condotto anche su *F. ornus* (Ogris, 2009b), ma dal confronto con i risultati delle inoculazioni effettuate in Austria (Kirisits *et al.*, 2009 in Ogris, 2009b), si può concludere che l'orniello ha lo stesso grado di suscettibilità del frassino americano, ovvero poco suscettibile.

Un altro studio riguardante la patogenicità di *C. fraxinea*, si è incentrato sull'analisi dei metaboliti secondari prodotti da questo fungo conducendo all'isolamento e alla caratterizzazione del viridiolo e della viridina, due composti steroidei già conosciuti. In passato è stato dimostrato che il viridiolo si forma per riduzione della viridina (Andersson *et al.*, 2009). A differenza della fitotossina viridiolo, alla viridina sono state ascritte proprietà fungistatiche (Brian e Mcgovan, 1945 in Andersson *et al.*, 2009), ma non un'attività fitotossica (Howell e Stipanovič, 1984 in Andersson *et al.*, 2009).

L'intento dello studio è stato pure quello di scoprire se questi composti possono contribuire alla patogenicità del fungo responsabile del deperimento. Per studiare il possibile effetto fitotossico del viridiolo sul frassino, alcuni semenzali sono stati trattati con soluzioni a concentrazioni crescenti del composto (1,64  $\mu\text{M}$ ; 16,4  $\mu\text{M}$ ; 164  $\mu\text{M}$ ; 1,64 mM).

In conclusione è stato appurato che il viridiolo isolato da *C. fraxinea* causa macchie necrotiche di colore bruno, simili a quelle associate al deperimento osservabile sui semenzali di frassino e per questo è probabile che la fitotossina contribuisca alla patogenicità del fungo stesso su *F. excelsior*. Inoltre, secondo le osservazioni di Bakys *et al.* (2009b), il deperimento è risultato molto più frequente su alberi di medie e piccole dimensioni, suggerendo che la resistenza individuale degli alberi decresce con la diminuzione del potenziale di crescita o vigore dell'albero.



## 2. Scopo del lavoro

Lo scopo del lavoro è stato di verificare l'effettiva presenza di *Chalara fraxinea* Kowalski in territorio italiano, note le segnalazioni provenienti dall'Austria (Cech, 2006; Cech e Hoyer-Tomiczek, 2007; Halmschlager e Kirisits, 2008; Kirisits e Halmschlager, 2008) e dalla Slovenia (Jurc e Ogris, 2008; Jurc *et al.*, 2009).

Per questo motivo è stato condotto un attento monitoraggio lungo il confine tra Italia e Slovenia in formazioni dove è presente il frassino. Ad una prima indagine di campo, basata sull'osservazione degli stadi sintomatologici propri del deperimento del frassino, è seguita l'analisi in laboratorio di campioni rappresentativi raccolti in ogni sito.

Tutto ciò è stato compiuto allo scopo di stabilire una valida correlazione tra i sintomi osservati in campo e la presenza di *C. fraxinea* nei campioni esaminati.



## 3. Materiali e metodi

### Indagini di campo

L'attività di campo, che ha riguardato i campionamenti e l'osservazione dei sintomi caratteristici, è stata condotta durante l'estate 2009 da giugno a settembre nelle Valli del Natisone, del Torre e nel Tarvisiano in diverse località situate lungo la linea di confine italo-slovena della Provincia di Udine.

I siti di campionamento sono stati scelti sia considerando la distribuzione del frassino nei boschi regionali, sia casualmente<sup>4</sup>. Nella maggior parte dei casi si è trattato di boschi naturali misti, derivanti da processi di ricolonizzazione di coltivi o prati abbandonati nel secolo scorso, in cui il frassino maggiore è presente in misura considerevole.

Non sapendo se il patogeno fosse effettivamente presente nei boschi oggetto di ricerca, non è stato possibile quantificare a priori il numero di campioni necessari allo studio. I campioni, per essere considerati rappresentativi, avrebbero dovuto mostrare i sintomi propri delle prime fasi del deperimento. Nel caso di rami o germogli disseccatisi durante la stagione vegetativa precedente, infatti, l'isolamento del fungo è reso impossibile dalla competizione esercitata su *Chalara fraxinea* da altri funghi a crescita più veloce.

I campioni raccolti nel corso dell'attività di campo sono stati prelevati sia da giovani piante, sia da quelle adulte. In ciascuno dei siti oggetto di campionamento si è proceduto all'asportazione dei rami che presentavano i tipici sintomi di deperimento sia sulla corteccia (necrosi) che sulle foglie (avvizzimento). Per il trasporto le porzioni di pianta prelevate sono state riposte in sacchetti di plastica opportunamente sigillati e contrassegnati con il nome della località di campionamento e le coordinate GPS.

---

<sup>4</sup> Cfr. Tavole 1-7 in "Allegato V"

Come già accennato sono state campionate le piante sulle quali il processo patogenetico era ai primi stadi, vale a dire i giovani semenzali con disseccamenti apicali e singoli rami di piante mature con segni di deperimento incipiente.

Il primo campionamento è stato quello effettuato il 26/06/2009 in località Rutte grande (46°.50454 N, 13°.61614 E; 782 m s.l.m.) lungo la strada statale Tarvisio - Rateče. Dalla strada sono stati notati alcuni frassini adulti con chiome alquanto rade e molti rami epicormici. La distribuzione dei danni è risultata periferica. Il popolamento è stato caratterizzato come aceri-frassineto, var. esalpica interna. La percentuale di piante colpite è stata giudicata pari al 10% nel caso di alberi adulti e al 70% per quanto riguarda i semenzali. I sintomi propri del deperimento sono stati rilevati prevalentemente sul novellame di 3-4 anni e su un albero di 20 cm di diametro.

Esternamente sono stati notati sintomi diversi tra cui disseccamenti ai cimali, avvizzimenti e imbrunimenti delle foglie, depressioni in corrispondenza dei cancri corticali e imbrunimenti locali sui getti dell'anno. Sezionando i campioni è stato anche possibile osservare alterazioni cromatiche locali dello xilema con andamento basipeto e acropeto. Nella descrizione sono stati seguiti i parametri delle schede di rilevamento fitosanitario BAUSINVE per danni da agenti biotici in regione.

La procedura di campionamento e analisi appena descritta è stata la stessa in ciascuno dei rilevamenti effettuati in seguito. In ogni località sono stati prelevati almeno due campioni di frassino che sono stati poi analizzati in laboratorio.

Ad agosto 2009, in seguito alle analisi di laboratorio è stato anche allestito un esperimento riguardante le inoculazioni artificiali nel bosco Rožnik di Ljubljana. Seguendo la procedura descritta da Ogris, Hauptman e Jurc (2009), sono stati inoculati 20 frassini alti circa 1,5 m e con diametri alla base di 1-2 cm utilizzando il primo isolato fungino ottenuto (CFIT01) e considerato rappresentativo. Prima di ogni inoculazione gli strumenti sono stati sterilizzati su fiamma libera e in una soluzione di etanolo al 96%.

L'inoculo derivante dal margine di una coltura pura di 26 giorni su MEA è stato posizionato nelle incisioni corticali che sono state praticate con un punteruolo sterile e infine ricoperte con del parafilm e con alluminio. Le 5 inoculazioni di controllo sono state ottenute allo stesso modo ma con MEA sterile.

## Indagini di laboratorio

Si è cercato, come del resto auspicabile, di procedere con gli isolamenti nello stesso giorno o tutt'al più in quello seguente al campionamento. Quando ciò non è stato possibile, i campioni sono stati conservati a 6 °C al fine di non alterare le caratteristiche degli stessi. La predisposizione dei campioni per l'isolamento è stata comunque eseguita a temperatura ambiente nei giorni immediatamente successivi al campionamento.

Una volta in laboratorio i diversi campioni sono stati analizzati singolarmente prendendo in considerazione i germogli disseccati, le lesioni corticali e lo xilema imbrunito dei frassini malati. Non sono stati tentati isolamenti a partire da foglie, piccioli o porzioni radicali.

Con l'ausilio di un bisturi sterile i singoli campioni sono stati sezionati e privati della corteccia. Dopo averli lavati sotto acqua corrente e sterilizzati in ipoclorito di sodio al 3%, è stata prelevata una fetta di xilema in corrispondenza della zona di passaggio tra il legno sano e la parte necrotizzata.

Ci si è basati sull'analisi di quadratini di legno delle dimensioni di circa 2 mm. Questi sono stati ottenuti a partire dalla parte prossima alla zona di avanzamento della necrosi all'interno del rametto.

Per l'isolamento di ciascun campione così ottenuto sono state predisposte due capsule Petri da 90 mm contenenti MEA (Malt extract agar, Difco) al 2%. Per la preparazione di questo substrato di coltura è stato necessario sospendere 33,6 g di polvere in 1 litro di acqua deionizzata e mescolare il tutto con un agitatore. In seguito la beuta contenente questo preparato è stata posta in autoclave a  $120 \pm 1$  °C per 15 minuti. Dopodiché una volta estratto il substrato dall'autoclave e raggiunta la temperatura di 45 °C sono stati aggiunti 5 ml/l di Streptomicina. Infine si è distribuito 10 ml del composto in ciascuna piastra sotto la cappa a flusso laminare verticale.

La pinzetta usata per maneggiare i singoli tasselli di legno è stata sterilizzata di volta in volta prima su fiamma libera e poi in una soluzione di etanolo al 96%. I tasselli sono stati preventivamente sterilizzati in superficie immergendo gli stessi in una soluzione di ipoclorito di sodio al 3% per una decina di secondi. Dopo averli lasciati asciugare su carta assorbente sono stati posti 4 frammenti in ciascuna piastra Petri.

Le operazioni descritte in precedenza sono state condotte all'interno della cappa a flusso laminare verticale al fine di mantenere un ambiente il più possibile sterile (Fig. 3.1).

Le piastre Petri sono state mantenute costantemente a temperatura ambiente in cella termostata a  $21 \pm 1$  °C e monitorate giornalmente al fine di osservare l'eventuale comparsa di micelio da utilizzarsi nel successivo trasferimento in coltura pura. Nel caso di isolati sopraffatti da funghi a crescita più veloce si è proceduto alla loro eliminazione.

Il micelio in fase di crescita è stato trasferito su nuove piastre MEA per ottenere una colonia pura e incubato sempre al buio in cella termostata a  $21 \pm 1$  °C.

Trascorsi 19 giorni le colture sono state poste a  $4 \pm 1$  °C in attesa della fruttificazione del micelio.

I miceli ottenuti nelle varie capsule sono stati prima depositati su un vetrino portaoggetto, ricoperti con una goccia di olio per immersione e con un vetrino coprioggetto e infine analizzati facendo uso del microscopio ottico.

È stato anche possibile scattare foto 100x con l'ausilio di una fotocamera digitale collegata direttamente al microscopio.

## 4. Risultati

### In campo

Tra giugno e settembre 2009 è stato confermato che *Chalara fraxinea* Kowalski, il fungo responsabile del deperimento del frassino, è presente anche in Italia.

Durante le uscite in campo effettuate nel corso dell'estate 2009 sono stati osservati molti frassini con chiari e inconfondibili segni di deperimento. I segnali di sofferenza sono stati notati sia sugli alberi maturi, sia su quelli giovani. Alcune chiome sono apparse molto rade con parte dei rami disseccati completamente. In genere si è visto che gli alberi affetti reagiscono mediante un'abbondante formazione di rami epicormici lungo il fusto e le branche principali (Fig. 4.1).

Spesso nei pressi di questi alberi si sono notate giovani piante di frassino con l'avvizzimento e lo scolorimento nerastro delle foglie in atto. Tali sintomi sono stati osservati in corrispondenza della cima e dei getti la cui circonferenza è stata interamente colpita (Fig. 4.2-4.4). In questi casi, pertanto, è stata presa in considerazione soltanto la parte prossimale.

Analizzando più attentamente la corteccia, il fusto e i piccioli fogliari è stato possibile scorgere necrosi di varia estensione. Sezionando poi longitudinalmente i rametti con i sintomi descritti si è reso evidente uno scolorimento grigio-marrone esteso in direzione longitudinale nello xilema oltre il limite dell'area necrotizzata in superficie (Fig. 4.5). Durante i rilievi non sono stati osservati corpi fruttiferi.

È stato anche osservato come, a differenza dei giovani semenzali che disseccano rapidamente, gli alberi adulti riescano a resistere più a lungo cercando di cicatrizzare i cancri corticali e compartimentare i tumori. I giovani alberi colpiti dalla malattia facevano parte sia della rinnovazione affermata sia di quella rimasta sotto copertura. Per quanto riguarda gli alberi adulti, la malattia ha colpito indistintamente alberi isolati o ai margini dei prati, polloni e alberi in bosco.

L'ipotesi che il fenomeno in atto su questi alberi fosse legato al patogeno *C. fraxinea* è stata confermata dalle analisi di laboratorio condotte sui campioni raccolti da giovani *Fraxinus excelsior* sintomatici il 26/06/2009 in località Rutte grande presso Fusine lungo la strada statale Tarvisio - Rateče e dai successivi esperimenti riguardanti le inoculazioni artificiali.

Tra luglio e settembre 2009 la presenza di *C. fraxinea* è stata dimostrata anche in altre località delle Valli del Torre e del Natisone sulla base delle analisi di laboratorio effettuate sui campioni in esse raccolti. In un caso il fungo è stato scoperto in un impianto dove *C. fraxinea* è stata isolata anche da giovani *F. angustifolia*. Infatti, anche in questo caso le chiome di alcuni alberi mostravano evidenti segnali di avvenuta infezione.

Sono state prese sia le coordinate dei siti in cui le analisi di laboratorio hanno confermato l'effettiva presenza di *C. fraxinea* sulla pianta campione, sia quelle relative alle località in cui sono stati osservati frassini con chiari e inconfondibili segni di deperimento.

Bisogna comunque precisare che, nonostante i sintomi fossero quelli propri del deperimento causato da *C. fraxinea*, l'isolamento del fungo dai campioni prelevati su rami di piante adulte, su cui il deperimento era in stadio avanzato, si è dimostrato talvolta inefficace. Al contrario, nel caso dei campioni prelevati da semenzali sintomatici nei pressi delle stesse piante adulte, la procedura descritta sopra ha portato ad un notevole successo nell'isolamento del fungo. Considerando la totalità dei campioni raccolti, il fungo oggetto di ricerca è stato isolato nel 70% dei casi, dimostrando che *C. fraxinea* è presente in ciascuna delle tre sottozone della Provincia di Udine campionate<sup>5</sup>.

### In laboratorio

A luglio, 30 giorni dopo il primo campionamento, è stato possibile identificare *C. fraxinea* facendo riferimento alla morfologia della coltura pura di questo fungo. Gli isolati fungini ottenuti su MEA si sono rivelati a crescita molto lenta. Infatti, come

---

<sup>5</sup> Cfr. Tavole 1-7 in "Allegato V"

affermano Ogris *et al.* (2009), il diametro medio delle colonie di *C. fraxinea* è risultato pari a 12 mm dopo 19 giorni a  $21 \pm 1$  °C al buio. Anche nel caso in esame le colonie su MEA sono apparse effuse, cotonose, molto spesso di colore marrone rossiccio, alle volte bianche opache (Fig. 4.6), viranti in un colore grigio con il passare del tempo.

A questo punto la coltura è stata trasferita in una nuova piastra Petri a  $4 \pm 1$  °C al buio in cella termostata affinché cominciasse a fruttificare mediante le strutture riproduttive agamiche. La sua crescita è stata monitorata ogni 1-2 giorni al microscopio ottico.

Dopo 11 giorni di incubazione il micelio ha fruttificato evidenziando i propaguli fungini di *C. fraxinea*. Le colonie fungine sono apparse colme di fialidi e conidi. All'estremità delle fialidi è stato possibile osservare le conidiospore in goccioline viscoso o talvolta in catenelle. Sono state anche scattate diverse microfotografie per mezzo di una fotocamera collegata al microscopio (Fig. 4.7-4.8) e misurate le caratteristiche morfologiche di fialidi, conidi e primi conidi ad essere stati formati.

I dati ottenuti dai vari campioni sono stati elaborati grazie al software di elaborazione grafica NIS Elements - Basic Research ed esportati in fogli di Microsoft Excel.

Come si può leggere nelle Tabelle 4.1 e 4.2<sup>6</sup>, le fialidi (n = 20) sono risultate lunghe in media 15,08 (8,57-21,04) µm, 8,81 (4,23-13,42) x 4,66 (3,56-5,5) µm al ventre e 6,45 (5,24-8,7) x 2,85 (2,53-3,51) µm in corrispondenza del colletto, i primi conidi (n = 20) 5,91 (5,48-6,51) x 2,09 (1,79-2,53) µm, mentre i conidi (n = 40) formati in seguito 3,4 (2,83-4,25) x 2,17 (1,85-2,46) µm. Le misurazioni effettuate provano che si tratta proprio di *C. fraxinea*.

Anche i risultati degli esperimenti riguardanti le inoculazioni artificiali (Fig. 4.9), hanno evidenziato che il fungo isolato dalle aree necrotizzate dei frassini campionati in località Rutte grande corrisponde a *C. fraxinea*.

Infatti, mentre le ferite dei 5 alberi controllo su cui è stato applicato MEA sterile si sono rimarginate, nel caso delle altre 20 inoculate con il micelio oggetto di analisi, i sintomi sono apparsi molto simili a quelli dovuti a infezioni naturali (Fig. 4.10).

Dopo 4 settimane dall'inoculazione è stato possibile reisolare *C. fraxinea* dal legno imbrunito sviluppatosi sotto le lesioni corticali verificando, così, i postulati di Koch.

---

<sup>6</sup> Cfr. "Allegato II"

È stata anche dimostrata la compatibilità morfologica e vegetativa con il rispettivo isolato. Da ciò si evince che *C. fraxinea* svolge un ruolo chiave nel deperimento del frassino preso in esame.

Gli isolati identificati nel corso del presente studio sono attualmente conservati presso il laboratorio della Sez. 6-Patologia Vegetale del Dipartimento Territorio e Sistemi Agro-Forestali dell'Università di Padova e presso il laboratorio dell'Oddelek za Varstvo Gozdov del Gozdarski Inštitut Slovenije<sup>7</sup> di Ljubljana.

---

<sup>7</sup> Dipartimento di Protezione Forestale dell'Istituto Forestale Sloveno di Ljubljana

## 5. Conclusioni e discussione

Alla luce dei risultati di laboratorio e di campo ottenuti, l'indagine condotta durante l'estate 2009 ha confermato la presenza di *Chalara fraxinea* Kowalski in diverse località situate lungo il confine italo-sloveno della Provincia di Udine. Sebbene all'inizio delle ricerche in campo si credesse che la malattia fosse presente soltanto a bassa quota e lungo i fondovalle, si è dovuto escludere tale ipotesi visto che è stata rinvenuta anche su una pianta isolata a 1000 m sul monte Matajur.

L'altitudine, l'età dei soggetti campionati e il substrato pedogenetico dei popolamenti non sembrano dunque influire sulla predisposizione dei singoli frassini al deperimento, mentre i fattori genetici e climatici potrebbero avere un ruolo importante nella comprensione delle dinamiche di questa patologia. Probabilmente anche la viabilità e le correnti d'aria possono favorire la diffusione del patogeno.

La biologia infettiva di *C. fraxinea* e i fattori ambientali che determinano la suscettibilità di *Fraxinus excelsior* al deperimento necessitano comunque di future ricerche.

È difficile stabilire da cosa dipenda e da cosa sia influenzato il manifestarsi del deperimento. Infatti è stato osservato sia su alberi in bosco, in piantagioni, su alberi isolati e in alberi a scopo ornamentale.

Nel corso di uno studio condotto da Cech (2008) sono state analizzate le relazioni tra l'intensità della malattia e le diverse caratteristiche stazionali. I frassini sottoposti sono stati colpiti in maniera più intensa rispetto a quelli dominanti come pure i soprassuoli non diradati rispetto a quelli oggetto di cure colturali. Gli individui unisessuali femminili e quelli ermafroditi sono risultati maggiormente interessati dalla malattia rispetto a quelli maschili. Ulteriori ricerche sugli apparati radicali di alberi malati e sani hanno dimostrato che nel caso dei frassini soggetti a disseccamento l'apparato radicale appare debolmente sviluppato sia per quanto riguarda le radici principali che quelle secondarie.

Inoltre, secondo le osservazioni di Ogris (2008), sembra che l'intensità del deperimento sia maggiore nelle stazioni vicino a corsi d'acqua caratterizzate dall'umidità del terreno e dell'aria relativamente elevate, da temperature inferiori alla media e dall'assenza di luce diretta. Al contrario, nei luoghi in cui l'umidità del terreno è più bassa, c'è più luce diretta e prevalgono le alte temperature, l'intensità della malattia è minore. In queste condizioni si sviluppano spesso i cancri, che dimostrano come la pianta tenta di opporsi al patogeno (Ogris, 2008).

In ogni caso è stata la scoperta del teleomorfo *Hymenoscyphus albidus* a chiarire in parte molti aspetti legati alla modalità con la quale il fungo si è diffuso dall'Est all'Ovest in Europa.

Infatti Kowalski e Holdenrieder (2009) spiegano come, contrariamente a quanto avviene per le conidiospore viscosi di *C. fraxinea*, la disseminazione delle ascospore del teleomorfo è anemocora. Questa caratteristica potrebbe spiegare, dunque la rapida diffusione del patogeno. Si pensa che alla base del processo patogenetico vi siano proprio le ascospore emesse a loro volta dagli apotecii. Inoltre già agli inizi di giugno sono state osservate macchie necrotiche sulle foglie che tendono a proseguire nei piccioli fogliari e da qui nei getti dell'anno (Ogris, 2009b).

Le ascospore vengono espulse attivamente dall'apotecio appena qualche millimetro più in alto rispetto alla superficie. A questo punto il vento può trasportarle su grandi distanze favorendone così la diffusione (Jurc, 2009).

Nonostante le ultime scoperte, comunque non è ancora possibile stabilire se sono i fattori ambientali a predisporre le piante agli attacchi fungini oppure è la presenza dei funghi a renderle più suscettibili alle avverse condizioni meteorologiche (Bakys *et al.*, 2008).

Visto che *H. albidus* risulta apparentemente nativo e diffuso in Europa è alquanto difficile spiegare la manifestazione di una nuova malattia causata da questa specie. Forse il taxon che è stato assegnato alla morfospécie *H. albidus*, è una specie mutante, un ibrido tra *H. albidus* con una specie sconosciuta introdotta, oppure una specie invasiva esotica che è morfologicamente indistinguibile da *H. albidus*. In alternativa si può considerare l'ipotesi di una predisposizione dell'ospite o l'aumento della virulenza del patogeno ascrivibile ad influenze ambientali (Chakraborty *et al.*, 2008; La Porta *et al.*, 2008 in Kowalski e Holdenrieder, 2009).

In ogni caso Kowalski e Holdenrieder (2008b) ritengono che sia comunque necessario monitorare i vivai e impedire la diffusione di piante infette.

Un altro importante risultato descritto da Ogris (2009b) ha riguardato la notevole differenza di patogenicità tra i diversi isolati di *H. albidus*, valutata in base alla differenza nella lunghezza delle necrosi prodotte. Questi dati confermano, dunque quanto sia sconsigliato ogni tipo di trasferimento di frassini su lunga distanza (Ogris, 2009b).

Come già accennato, per capire più a fondo la biologia infettiva di *C. fraxinea*, sarà necessario indagare il complesso dei cambiamenti ambientali che ha incrementato la suscettibilità del frassino verso questo patogeno.

*Res sic stantibus*, ai frassini si potrebbe prospettare il destino degli olmi e del castagno. Le previsioni non sono rassicuranti e senza sufficienti conoscenze non possono essere presi provvedimenti adeguati (Jurc e Ogris, 2009).

Nello sviluppare prescrizioni fitosanitarie per la selvicoltura, bisognerebbe mirare soprattutto ai popolamenti giovani, visto che essi rappresentano le fasi più critiche dello sviluppo della stazione.

Finora si sa ancora poco sulla patogenesi di *C. fraxinea*, sull'estensione degli attacchi e sui possibili meccanismi di resistenza di *F. excelsior* (Bakys *et al.*, 2009b).

In Polonia è stato comunque consigliato di diradare i popolamenti di frassino al fine di garantire uno sviluppo adeguato della chioma, anche se non sono ancora disponibili dimostrazioni che confermino l'efficacia di questo provvedimento. Inoltre, se negli impianti vengono colpiti solamente alcuni alberi, è talvolta possibile ricorrere ad una ceduzione per fermare la diffusione della malattia e favorire l'emissione di polloni sani.

Ulteriori studi potranno anche dimostrare se alcuni batteri, che in condizioni di laboratorio sono in grado di arrestare lo sviluppo di *C. fraxinea*, potranno essere impiegati per un eventuale controllo biologico. Infine sarà certamente possibile accelerare il processo di adattamento dell'ospite *F. excelsior* al patogeno mediante la selezione di frassini in grado di resistere all'infezione di *C. fraxinea* (Kowalski e Holdenrieder, 2008b).

Considerando, però, che al momento la malattia colpisce sia gli alberi adulti, sia la rinnovazione c'è il pericolo che il numero di frassini nei boschi europei tenderà progressivamente a diminuire per lasciare spazio ad altre specie come *Acer pseudoplatanus* che vegetano nelle stesse condizioni ecologiche del frassino (Ogris, 2008).

Per quanto riguarda l'area oggetto di studio si teme l'impatto ecologico ed economico di questo fenomeno catastrofico che potrebbe ridurre in maniera rilevante la presenza del frassino nei boschi.

In un prossimo futuro sarebbe interessante verificare se l'incidenza della malattia si sarà attestata sotto la soglia di danno, oppure se avrà prodotto effetti paragonabili a quelli osservati negli altri stati europei. Per fare ciò si renderà indubbiamente necessario un monitoraggio capillare a partire dai focolai individuati durante i rilievi finalizzati al presente studio. Nel lungo periodo sarà possibile vedere gli esiti di tale patologia giunta solo di recente nei nostri boschi. In particolare si potrà confrontare i popolamenti in cui saranno state intraprese misure selvicolturali e quelli invece lasciati alla libera evoluzione naturale.

Si dovrà anche valutare se il nuovo equilibrio instauratosi fra le specie arboree, sarà ancora in grado di garantire le condizioni ecologiche adeguate al corteggio di specie animali e vegetali che fanno parte integrante dei popolamenti in cui il frassino è presente non solo come specie sporadica.

Inoltre se il deperimento dovesse manifestarsi in tutta la sua gravità come in altre zone d'Europa, vi sarebbe un impatto negativo anche sulla filiera del legname di frassino locale.

In definitiva, alla luce dei risultati ottenuti, è possibile affermare che il deperimento del frassino in atto nel Friuli orientale è da imputare prevalentemente al patogeno fungino *C. fraxinea*. Il fatto che siano stati osservati molti frassini adulti con buona parte della chioma disseccata e un numero ancora maggiore di giovani frassini dal portamento arbustivo per le ripetute infezioni subite, suggerisce che *C. fraxinea* è presente nei territori esaminati da almeno due anni.

Attualmente sono in corso ulteriori prove di laboratorio per accertare la presenza del fungo patogeno su altri campioni prelevati ultimamente sia su *F. excelsior*, sia su *F. ornus*.

L'accertamento della presenza di *C. fraxinea* anche su *F. ornus* o su altre *Oleaceae* avrebbe importanti conseguenze. Per quanto riguarda l'Italia, infatti, si assisterebbe ad una più rapida diffusione della malattia all'interno del territorio nazionale e ad un aumento della variabilità genetica e dell'amplitudine ecologica del patogeno stesso.

Infine, grazie alla collaborazione di Marsich Fabrizio, anch'egli studente del Corso di Laurea Tecnologie Forestali e Ambientali presso l'Università degli Studi di Padova cui è stata affidata la ricerca del patogeno nelle provincie di Trieste e Gorizia, sarà possibile avere una visione d'insieme sulla presenza di *C. fraxinea* lungo il confine orientale della Regione Friuli-Venezia Giulia. La conoscenza del deperimento in atto sul frassino e del fungo che lo causa sta proseguendo dunque anche in Italia.

Vista l'importanza dei risultati ottenuti nel corso dell'indagine, la segnalazione della presenza di *C. fraxinea* in Italia è stata sottoposta alla rivista *Plant Disease* ("21-Sep-2009, Your manuscript entitled "First Report of *Chalara fraxinea* on common ash in Italy" has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in *Plant Disease*"). L'articolo menzionato è consultabile a pagina 58 in "Allegato III".



# Bibliografia

- Andersson P. F., Johansson S. B. K., Stenlid J. e Broberg A., 2009. Isolation, identification and necrotic activity of viridiol from *Chalara fraxinea*, the fungus responsible for dieback of ash. *Forest Pathology*. Pubblicazione online, doi: 10.1111/j.1439-0329.2009.00605.x
- Anthony M., Sattler R., 1990. Pathological ramification of leaves and the pyramid model of plant construction. *Acta Biotheoretica* 38: 165-170
- Bakys R., Vasaitis R., Barklund P., Thomsen I. M., Stenlid J., 2009a. Occurrence and pathogenicity of fungi in necrotic and non-symptomatic shoots of declining common ash (*Fraxinus excelsior*) in Sweden. *European Journal of Forest Research* 128: 51-60
- Bakys R., Vasaitis R., Barklund P., Ihrmark K., Stenlid J., 2009b. Investigations concerning the role of *Chalara fraxinea* in declining *Fraxinus excelsior*. *Plant Pathology* 58: 284-292
- Bernetti G., 2005. *Atlante di selvicoltura*. Edagricole, Bologna: 197-202, 207, 209
- Bernetti G., 1995. *Selvicoltura speciale*. UTET, Torino: 156-160, 255-256

- Bernetti G. e Padula M., 1984. *Le latifoglie nobili nei nostri boschi*. Quaderni di monti e boschi. Edagricole, Bologna: 40-44
- Brus R., 2008. *Dendrologija za gozdarje*. Oddelek za gozdarstvo in obnovljive gozdne vire - Biotehniška fakulteta, Ljubljana: 351-357
- Cech T., 2008. Eschenkrankheit in Niederösterreich - Neue Untersuchungsergebnisse. *Forstschutz Aktuell*: 24-28
- Del Favero R., 2004. *I boschi delle regioni alpine italiane*. CLEUP, Padova: 283-289
- Del Favero R., Poldini L., Bortoli P. L., Dreossi G., Lasen C. e Vanone G., 1998. *La vegetazione forestale e la selvicoltura nella regione Friuli-Venezia Giulia*. Regione Autonoma Friuli-Venezia Giulia, Direzione Regionale delle Foreste, Servizio della Selvicoltura, Udine: 191-218
- Duflot H., 1995. *Le frêne en liberté*. Institut pour le développement forestier, Paris: 30-42, 55, 60-67, 84-85
- European and Mediterranean Plant Protection Organization, 2009. *About Eppo*. <http://www.eppo.org/>
- ERSA - Agenzia regionale per lo sviluppo rurale, 2009. *Servizio Fitosanitario Regionale*. <http://www.ersa.fvg.it/>
- Gellini R., 1975. *Botanica forestale*. CEDAM, Padova: 146-153
- Ghisoli M., 2005. *La quarantena fitosanitaria sul legname in importazione: analisi critica della direttiva 2000/29/CE*. Relatore Montecchio L., Correlatore Vettorazzo

M. Dipartimento Territorio e Sistemi Agro-Forestali, Facoltà di Agraria, Università degli Studi di Padova, Legnaro

Gravano E., 2003. Il frassino maggiore *Fraxinus excelsior* L. (Famiglia *Oleaceae*).  
*Sherwood* 92: 27-31

Halmschlager E., Kirisits T., 2008. First report of the ash dieback pathogen *Chalara fraxinea* on *Fraxinus excelsior* in Austria. *Plant Pathol.* 57: 1177

Jankovský L. e Holdenrieder O., 2009. *Chalara fraxinea* - Ash Dieback in the Czech Republic. *Plant Protection Science* 45: 74-78

Jurc D., 2009. Kaj se dogaja z jesenom pri nas? - Prvo nadaljevanje. *Gozdarski Vestnik* 67: 67-68

Jurc D., O. N., 2008. Kaj se dogaja z jesenom? - Aktualno. *Gozdarski Vestnik* 66: 211

Kirisits T., Matlakova M., Mottinger-Kroupa S., Halmschlager E., 2008a. Beteiligung von *Chalara fraxinea* am Zurücksterben der Esche in Österreich. *Forstschutz Aktuell*: 16-18

Kirisits T., Matlakova M., Mottinger-Kroupa S., Halmschlager E., 2008b. Verursacht *Chalara fraxinea* das Zurücksterben der Esche in Österreich? *Forstschutz Aktuell*: 29-34

Kowalski T. e Holdenrieder O., 2009. The teleomorph of *Chalara fraxinea*, the causal agent of ash dieback. *Forest Pathology*. Pubblicazione online, doi: 10.1111/j.1439-0329.2008.00589.x

- Kowalski T., 2006. *Chalara fraxinea* sp. nov. associated with dieback of ash (*Fraxinus excelsior*) in Poland. *Forest Pathology*. 36: 264-270
- Kowalski T., Holdenrieder O., 2009. Pathogenicity of *Chalara fraxinea*. *Forest Pathology* 39: 1-7
- Kowalski T., Holdenrieder O., 2008. Eine neue Pilzkrankheit an Esche in Europa. *Schweizerische Zeitschrift für Forstwesen* 159: 45-50
- Lupieri A., 2004. Gli aceri-frassineti delle Prealpi Giulie. *Notiziario ERSA* 1: 23-27
- Masutti L. e Zangheri S., 2003. *Entomologia generale e applicata*. CEDAM, Padova: 541, 855, 867-868, 929
- Moriondo F., Capretti P. e Ragazzi A., 2006. *Malattie delle piante in bosco, in vivaio e delle alberature*. Pàtron, Bologna: 55-56, 106-107
- Ogris N., 2009a. Jesenov ožig ogroža tudi slovenske gozdove. *Gozd in Obnovljivi Viri* 1: 6
- Ogris N., 2009b. Kaj se dogaja z jesenom pri nas? - Drugo nadaljevanje. *Gozdarski Vestnik* 67: 251-252
- Ogris N., 2008. Jesenov ožig, *Chalara fraxinea*. *Novice iz Varstva Gozdov* 1: 1
- Ogris N., Hauptman T. e Jurc D., 2009. *Chalara fraxinea* causing common ash dieback newly reported in Slovenia. *New Disease Reports* 19 pubblicazione online, <http://www.bspp.org.uk/>

- Pignatti S., 1997. *Flora d'Italia*. Edagricole, Bologna: 322-323
- Pividori M., 2009. Comunicazione personale
- Schumacher J., Leonhard S. e Wulf A., 2008. New dieback on ash (*Fraxinus* spp.) of Central and Northern Europe - involved factors and their significance in Germany. *Società Italiana di Arboricoltura* pubblicazione online, <http://isaitalia.org/>
- Servizio Fitosanitario, 2009. *Iter procedurale*. <http://www.ciamarche.org/>
- Skovsgaard J. P., Thomsen I. M., Skovgaard I. M. e Martinussen T., 2009. Associations among symptoms of dieback in even-aged stands of ash (*Fraxinus excelsior* L.). *Forest Pathology*. Pubblicazione online, doi: 10.1111/j.1439-0329.2009.00599.x
- Stergulc F., Frigimelica G., 1996. *Insetti e funghi dannosi ai boschi nel Friuli-Venezia Giulia*. Regione Autonoma Friuli-Venezia Giulia, Direzione regionale delle foreste, Servizio della Selvicoltura, Udine: 259, 304-305, 329-330, 355
- Stergulc F., Frigimelica G., Bortoli P. L., Corradini L. e Gottardo E., 1999. Inventario fitopatologico del Friuli-Venezia Giulia. Cos'è, a cosa serve, come funziona. *Sherwood* 43: 29-35
- Stergulc F., Frigimelica G., Carpanelli A., 2002. L'inventario fitopatologico forestale del Friuli-Venezia Giulia: metodologie e risultati di un programma di monitoraggio permanente dello stato fitosanitario delle foreste. *Quaderno ARSIA* 2: 83-92
- Talgø V., Sletten A., Brurberg M. B., Solheim H., Stensvand A., 2009. *Chalara fraxinea* isolated from diseased ash in Norway. *Plant Disease* 93: 548

Thill A., 1970. *Le frêne et sa culture*. Presses Agronomiques, Gembloux: 42-43

Ziliotto U., 2009. Comunicazione personale

# ALLEGATI



# Allegato I

Nel seguente passo tratto da “*Chalara fraxinea* sp. nov. associated with dieback of ash (*Fraxinus excelsior*) in Poland”, scritto nel 2006 da T. Kowalski, vengono descritte le caratteristiche morfologiche di *C. fraxinea*.

“*Coloniae in agar maltoso effusae, lanosae, infumigata alba ad ferrugineam fuscam, cum localibus maculis ravis ad obscure ravas, 9-28 mm diametrum post 21 dies in 20 °C in tenebris. Hyphae vegetativae translucidae ad oleaginas fuscas, 1.2-3.0 µm latae, cum raris incrassationibus ad 4.2 µm, tenuibus parietibus, glabrae, septatae. Chlamydospora vacant. In nonnullis coloniis veterioribus quam duorum hebdomadam placentata aut in linearum forma stroma pseudoparenchymatica oritur. In agar maltoso, 0.1 g cycloheximidi I<sup>-1</sup> addito, incrementum fungi non est observatum.*

*Phialophora directe in hyphis aut in stroma oriuntur; singula, saepe ad phialidas imminuta, aut cylindrica ad obclavata, cum 1 ad 3 septis in parte inferiore, oleagina brunnea, recta aut modice incurvata, cum glabris parietibus, sine constrictione ad septa, 24-37 µm longa, in phialide terminata. In paucorum hebdomadam coloniis phialophora ad 96 µm longa et 3.0-4.2 µm circa basim lata, singula seu cum 1-5 ramificationibus. Phialides etiam in cacumine indistinctarum hypharum vegetativarum apparent.*

*Phialides subcylindratae ad obclavatas, nonnumquam in forma lagoenae, 16-24 µm longae, venter brevicylindratus ad ellipticum, 11-15 x 4-5 µm; collum cylindratum, 5-7/9 x 2.2-2.7 µm; ratio longitudinis colli et ventris = 0.6 : 1; transitio ex ventre ad collum gradatim, nonnumquam abrupte.*

*Phialoconidia in catenas breves extrusa, vel multo frequentius in mucinosis guttis, brevicylindrata, apice rotundato vel obtusato, interdum basi truncata cum parvis fimbriis marginalibus, 0-septata, hyalina ad subhyalina, cum duabus oleosis guttis, laevia, 3.2-4.0 x 2.0-2.5 µm; ratio conidii long./lat. = 1.4 : 1. Conidium primum productum breviter clavatum, 6-7 x 2.2-2.5 µm”.*

Di seguito si riporta la traduzione.

La colonia risulta effusa su MEA, cotonosa, da bianca opaca a marrone - rossiccia, con alcune macchie che diventano color grigio / grigio scuro, larghe 9-28 mm in diametro dopo 21 giorni a 20 °C in camera oscura. Le ife vegetative sono di colore subialino / marrone-olivastro, larghe 1,2-3,0 µm con rari ingrossamenti fino a 4,2 µm; dalle pareti sottili, lisce e settate con setti distanti 5-21 µm. Le clamidospore sono assenti. In alcune colture di oltre 2 settimane appaiono sotto forma di stroma frammentario o lineare e parenchimatoso composto di cellule con pareti ispessite color marrone scuro. Non è stata osservata la crescita su MEA integrato con 0,1 g di cicloeximide l<sup>-1</sup>.

I fialofori nati direttamente su ife vegetative superficiali o leggermente immerse oppure su stroma pseudoparenchimatoso appaiono isolati e disseminati, spesso ridotti a fialidi. Sono di forma cilindrico-clavata, trisetati nella parte basale, di color marrone-olivastro, eretti, rettilinei o leggermente curvati, con pareti lisce, non compressi in corrispondenza dei setti, lunghi per lo più 24-37 µm e terminanti in una fialide. Nelle colonie di alcune settimane, i fialofori sono lunghi fino a 96 µm e larghi 3,0-4,2 µm alla base, semplici o dotati di 1-5 rami. Le fialidi possono anche essere terminali su ife indifferenziate.

Le fialidi sono di forma subcilindrico-clavata, occasionalmente a forma di fiasco e lunghe 16-24 µm. Il ventre è di forma brevicilindrico o ellissoidale, 11-15 x 4-5 µm. Il colletto è cilindrico, 5-7/9 x 2,2-2,7 µm; il rapporto tra la lunghezza media del colletto e il ventre è pari a 0,6 : 1. Il tratto di transizione tra il ventre e il colletto è graduale, occasionalmente brusco.

I fialoconidi vengono estrusi in corte catene o più frequentemente in goccioline viscosi; sono di forma brevi-cilindrica, le terminazioni sono arrotondate o smussate, alle volte con una base tronca e presentano piccole espansioni marginali; unicellulari, da ialine a subialine, contenenti una o due goccioline oleose, con pareti lisce, delle dimensioni di 3,2-4,0 x 2,0-2,5 µm; il rapporto tra la lunghezza media e la larghezza del singolo conidio è pari a 1,4:1. Il primo conidio ad essere formato risulta brevemente clavato 6-7 x 2,2-2,5 µm.

## Allegato II

Per integrare con ulteriori valori quanto scritto nel capitolo “Risultati” vengono di seguito riportate due tabelle relative alle misurazioni effettuate da Ogris per mezzo del software di elaborazione grafica “NIS Elements - Basic Research”.

n.	Fialidi			
	Ventre		Colletto	
	Lunghezza ( $\mu\text{m}$ )	Larghezza ( $\mu\text{m}$ )	Lunghezza ( $\mu\text{m}$ )	Larghezza ( $\mu\text{m}$ )
1.	4,23	4,6	5,24	2,84
2.	10,39	4,96	5,87	2,89
3.	4,69	4,78	6,69	2,71
4.	9,11	4,75	8,7	2,64
5.	10,12	5,02	8,57	2,73
6.	7,11	4,43	5,52	2,81
7.	5,88	4,44	5,34	2,91
8.	10,63	5,27	6,5	2,75
9.	12,4	4,04	6,45	3,15
10.	4,98	3,93	6,54	2,93
11.	10,74	4,57	7,03	3,00
12.	7,4	4,93	6,64	2,78
13.	8,78	4,99	7,05	2,85
14.	9,2	5,09	5,64	2,77
15.	13,42	4,56	6,61	2,53
16.	9,13	4,4	5,68	3,02
17.	9,52	3,56	6,19	3,01
18.	12,44	4,63	7,54	2,69
19.	6,41	5,5	5,48	3,08
20.	9,65	4,67	5,71	2,87
Media ( $\mu\text{m}$ )	8,81	4,66	6,45	2,85
Minimo ( $\mu\text{m}$ )	4,23	3,56	5,24	2,53
Massimo ( $\mu\text{m}$ )	13,42	5,50	8,70	3,15
Dev. St.	2,57	0,45	0,95	0,15

Tabella 4.1 - Fialidi: valori di lunghezza e larghezza.

n.	Primi Conidi		Conidi	
	Lunghezza (µm)	Larghezza (µm)	Lunghezza (µm)	Larghezza (µm)
1.	5,79	2,04	3,65	2,28
2.	5,79	1,97	3,08	2,39
3.	6,00	2,06	3,81	2,19
4.	5,64	2,24	4,25	2,33
5.	5,57	1,79	3,38	2,28
6.	6,43	2,05	3,17	2,35
7.	5,70	2,20	3,63	2,20
8.	5,60	2,34	3,33	2,40
9.	5,77	2,36	3,29	1,88
10.	5,48	1,85	3,18	1,85
11.	6,06	2,01	3,17	1,97
12.	5,97	2,07	3,13	1,99
13.	6,51	1,87	3,60	1,94
14.	6,17	2,03	3,79	2,07
15.	5,58	2,53	2,96	2,02
16.	5,79	2,09	3,25	2,15
17.	6,36	2,11	3,35	1,99
18.	6,15	2,03	3,51	1,95
19.	5,98	1,82	3,87	1,98
20.	5,80	2,23	3,61	2,30
21.			3,12	2,11
22.			3,43	2,15
23.			3,52	2,46
24.			3,20	2,39
25.			3,25	2,14
26.			3,26	2,18
27.			2,83	2,30
28.			3,34	2,19
29.			3,61	2,34
30.			3,42	2,33
31.			3,50	2,10
32.			3,48	2,29
33.			3,35	2,18
34.			3,00	2,19
35.			3,05	2,34
36.			3,53	2,01
37.			3,93	2,15
38.			3,50	2,32
39.			3,40	1,96
40.			3,23	2,14
Media (µm)	5,91	2,09	3,40	2,17
Minimo (µm)	5,48	1,79	2,83	1,85
Massimo (µm)	6,51	2,53	4,25	2,46
Dev. St.	0,29	0,19	0,28	0,16

Tabella 4.2 - Primi conidi e conidi successivi: valori di lunghezza e larghezza.

# Allegato III

## First Report of *Chalara fraxinea* on common ash in Italy

**N. Ogris, T. Hauptman, and D. Jurc**, Slovenian Forestry Institute, Večna pot 2, 1000 Ljubljana, Slovenia; **V. Floreancig, F. Marsich, and L. Montecchio**, Università degli Studi di Padova, Dipartimento Territorio e Sistemi Agro-Forestali, viale dell'Università 16, I-35020 Legnaro, Italy. Corr. author: montecchio@unipd.it

In many European countries, the anamorphic *Chalara fraxinea* Kowalski (teleom. *Hymenoscyphus albidus* [Roberge ex Desm.] Phillips; 1,2,3) is responsible for ash dieback. Due to the gravity of an infestation and its rapid spread, it is included in the European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO) Alert list and in the North American Plant Protection Organization (NAPPO) Phytosanitary Alert System.

In an *ad hoc* field survey along the Italo-Slovenian border in July 2009, the disease symptoms were observed in north-eastern Italy (Tarvisio, UD; 46° 30' N, 13° 37' E; 782 m a.s.l.) in a mixed *Fraxinus excelsior* - *Acer pseudoplatanus* stand nearly 2 ha wide. Symptoms were found on approx. 10% of adults and 70% of common ash plantlets (*Fraxinus excelsior* L.). As expected (1), the main symptoms were shoot, twig and branch dieback, wilting, and bark cankers. No fungal fruiting bodies were present on or near the canker surface. Furthermore, longitudinal and radial sections through the cankers revealed grey to brown xylem discoloration.

One symptomatic 3-year-old plant was randomly selected, and from the necrotic margin of one canker previously surface-sterilized with 3% sodium hypochlorite and rinsed, four chips, 2-mm-wide, were placed on malt extract agar (MEA) and incubated

at  $21 \pm 1$  °C in the dark. Among a variety of microorganisms, after 19 days slow growing colonies (mean radius 12 mm) appeared; these were effuse, cottony, often fulvous brown but sometimes dull white with occasional grey to dark grey patches. The purified isolate was then transferred to the same medium at  $4 \pm 1$  °C in the dark, and after 11 days hyaline to dark grey phialides were observed producing numerous conidia in slimy droplets and sometimes in chains. Phialophores measured 8.6 to 21.0 (15.1)  $\mu\text{m}$  long (n = 20); 4.2 to 13.4 (8.8)  $\times$  3.6 to 5.5 (4.7)  $\mu\text{m}$  at the base and 5.2 to 8.7 (6.5)  $\times$  2.5 to 3.1 (2.8)  $\mu\text{m}$  at the collarette; conidia 2.8 to 4.2 (3.4)  $\times$  1.9 to 2.5 (2.2)  $\mu\text{m}$  (n = 40), and first formed conidia 5.5 to 6.5 (5.9)  $\times$  1.8 to 2.5 (2.1)  $\mu\text{m}$  (n = 20). These morphological characteristics matched Kowalski's (1) description of *C. fraxinea*.

In August 2009, the fungal isolate was used to carry out a pathogenicity test on current-year shoots of common ash. Quarantine conditions for the experiment were assured. The bark of the main shoot was wounded with a 6-mm-diameter cork borer. Twenty saplings were inoculated with one mycelial plug 6 mm in diameter, obtained from the margin of a 26-days-old culture (MEA; mycelium and non-germinable conidia), while five saplings were inoculated with sterile MEA plugs. All wounds were sealed with Parafilm and aluminum foil. After 28 days, all the plants inoculated with the *C. fraxinea* showed bark lesions (length 2 to 39 mm, mean 7 mm) and wood discoloration (length 6 to 85 mm, mean 22 mm), from which the pathogen was re-isolated. No disease symptoms were detected in the control plants.

To our knowledge, this is the first report of *C. fraxinea* in Italy. Investigations on its presence in all *Fraxinus* species naturally growing both in the investigated area and in the nearest regions are in progress. The obtained isolate is preserved in both Padova and Ljubljana herbaria as CFIT01.

References: (1) T. Kowalski. *For. Pathol.* 36:264, 2006. (2) T. Kowalski and O. Holdenrieder. *For. Pathol.* 39: 1, 2009. (3) T. Kowalski and O. Holdenrieder. *For. Pathol.* Online publication, doi: 10.1111/j.1439-0329.2008.00589.x, 2009.

## Allegato IV



Figura 1.1 - Pianta di frassino capitozzata a fini agricoli come tutore per le viti. È visibile l'accumulo di tessuti cicatriziali in corrispondenza della troncatura. Monte San Mattia, Grimacco.



Figura 1.2 - Apotheci di *Hymenoscyphus albidus* su piccioli fogliari dell'anno precedente presenti nella lettiera. Bosco Rožnik, Ljubljana.



Figura 3.1 - La predisposizione dei campioni è stata condotta all'interno della cappa a flusso laminare verticale al fine di mantenere un ambiente il più possibile sterile.



Figura 4.1 - Esemplare solitario di *Fraxinus excelsior* maturo a 1000 m s.l.m. la cui chioma appare fortemente colpita dal deperimento. Sono evidenti i disseccamenti e la copiosa formazione di rami epicormici. Monte Matajur, Savogna.



Figura 4.2 - Caratteristico portamento arbustivo dei cimali di piante colpite dalla malattia. M. Matajur.



Figura 4.3 - Disseccamenti dei getti apicali e lesioni corticali necrotiche a carico della rinnovazione in una recente neocolonizzazione di frassino. Cedron, Savogna.



Figura 4.4 - Uno dei campioni da cui è stata isolata *Chalara fraxinea*. Nelle giovani piante i sintomi più evidenti del deperimento sono sicuramente l'avvizzimento delle foglie e il disseccamento dei cimali. P.te Vittorio Emanuele, Taipana.



Figura 4.5 - Sezione longitudinale di un campione di frassino sintomatico. Sono visibili le lesioni corticali e le alterazioni cromatiche locali dello xilema sottostante. Rutte grande, Tarvisio.



Figura 4.6 - Colonia fungina di *C. fraxinea* ottenuta dal cimale di Fig. 4.4. In questo caso è stato fatto crescere in una capsula Petri da 60 mm su agar malto (MEA). Nel tempo il colore della coltura ai margini diviene progressivamente grigio e in alcuni punti grigio scuro per l'intensa produzione di fialidi, risultato dell'incubazione a bassa temperatura.

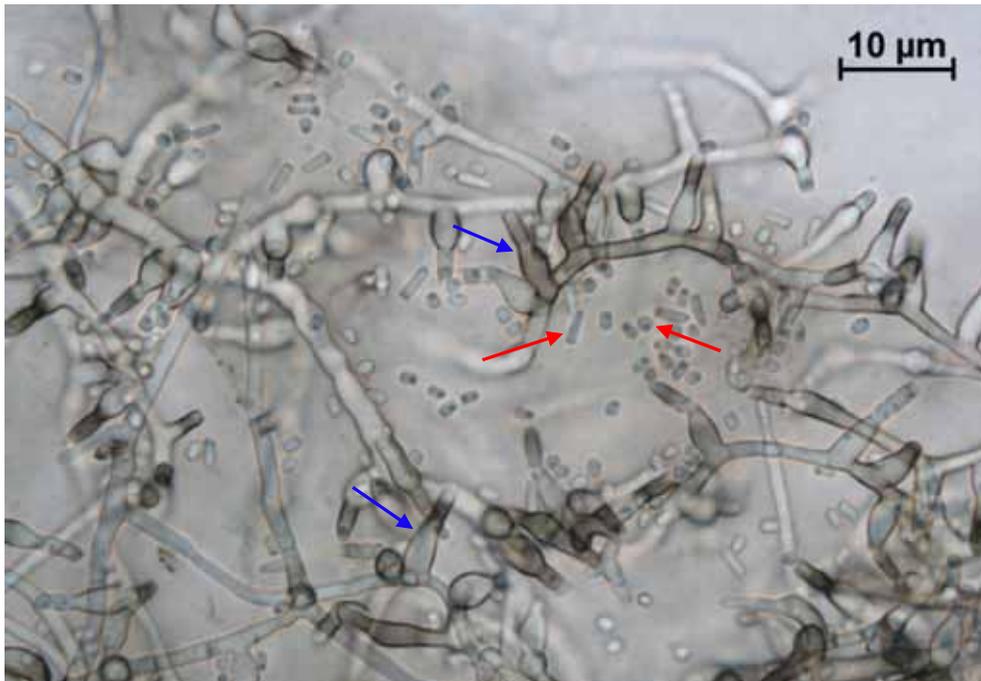


Figura 4.7 - Micelio di *C. fraxinea* (isolato CFIT01). Le frecce blu indicano le fialidi di forma clavata, mentre quelle rosse i primi conidi emessi (di forma più allungata) e le successive conidiospore. Microfotografia ottenuta grazie al software di elaborazione grafica Nis Elements - Basic Research (Foto Ogris).

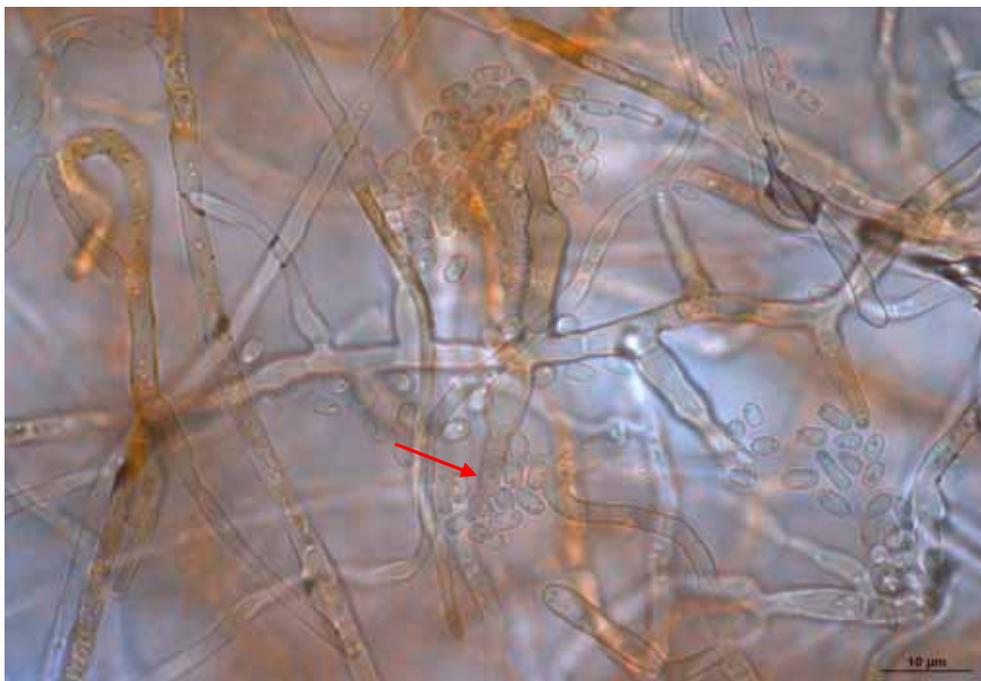


Figura 4.8 - Fialidi e conidiospore di *C. fraxinea* (isolato CFIT03). La freccia rossa indica un conidio in formazione mentre in alto è chiaramente visibile un gruppo di conidi riuniti in una gocciola viscosa. Microfotografia ottenuta grazie al sistema di gestione digitale di immagini Leica IM ® (Foto Fanchin).



Figura 4.9 - Incisione corticale praticata con un punteruolo sterile in cui è stato posto l'inoculo (CFIT01). Il tutto è stato sigillato con del parafilm e con alluminio.



Figura 4.10 - Necrosi causata dal fungo *C. fraxinea* (CFIT01) a 4 settimane dall'inoculazione artificiale con il micelio oggetto di analisi (Foto Ogris).

# Allegato V

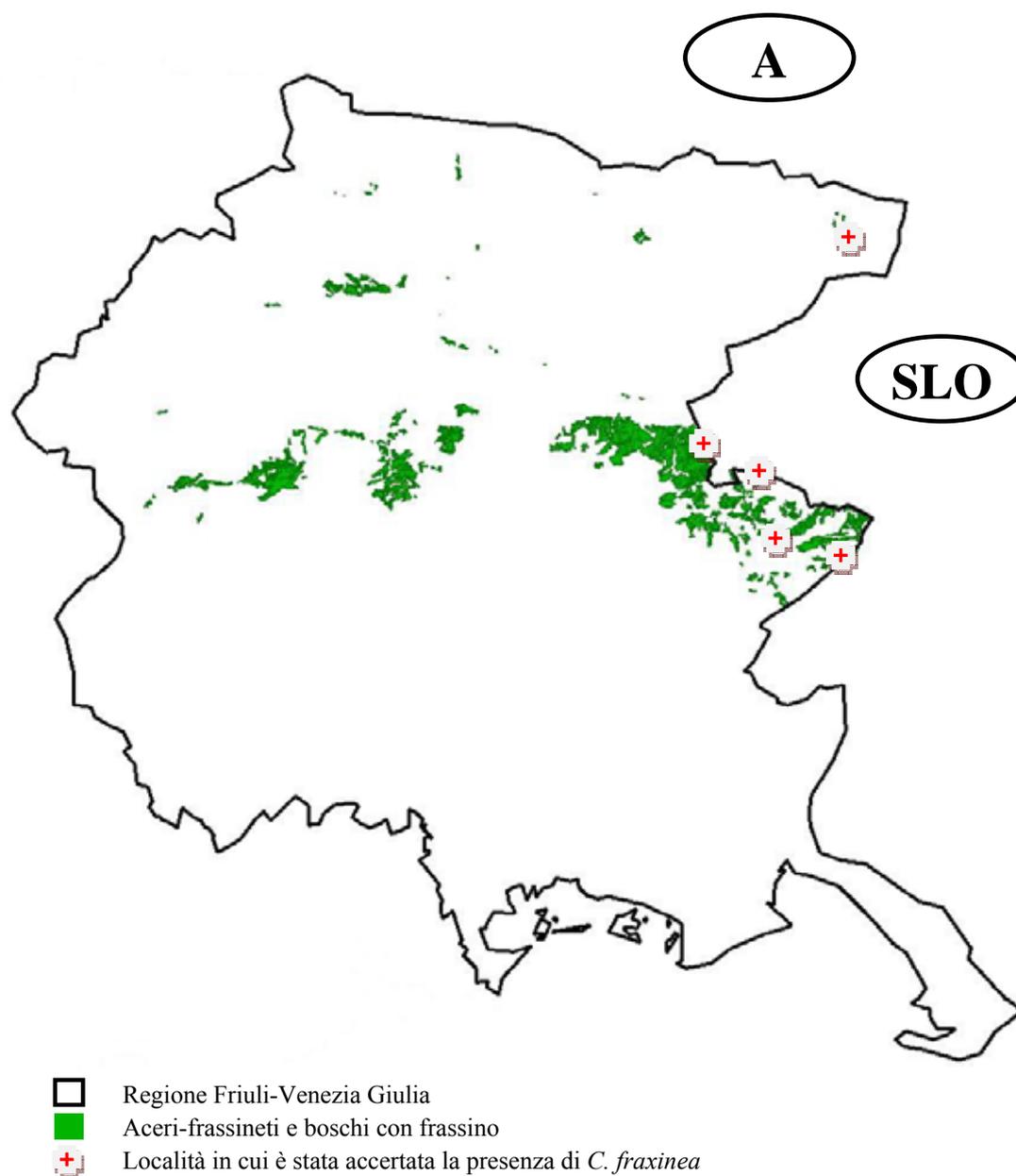
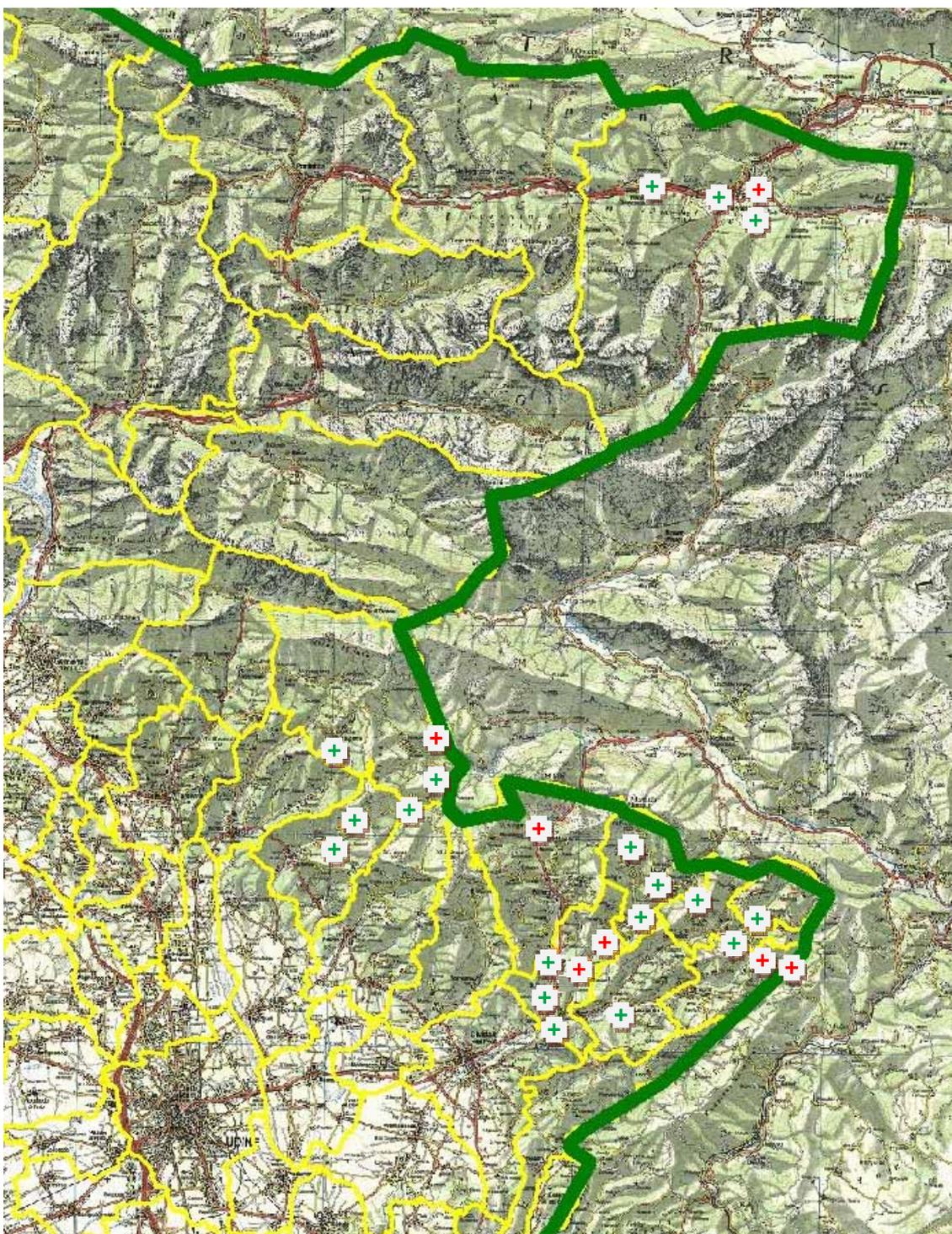


Tavola 1 - Distribuzione degli aceri-frassineti e dei boschi con frassino (castagneti, carpineti, rimboschimenti e neocolonizzazioni) nella Regione Friuli-Venezia Giulia e località della Provincia di Udine in cui la presenza di *C. fraxinea* è stata confermata dalle analisi di laboratorio.



-  Località in cui è stata accertata la presenza di *C. fraxinea*
-  Località in cui sono stati osservati i sintomi della malattia

Tavola 2 - Località della Provincia di Udine in cui la presenza di *C. fraxinea* è stata confermata dalle analisi di laboratorio e altri siti in cui sono stati osservati i sintomi tipici della malattia.

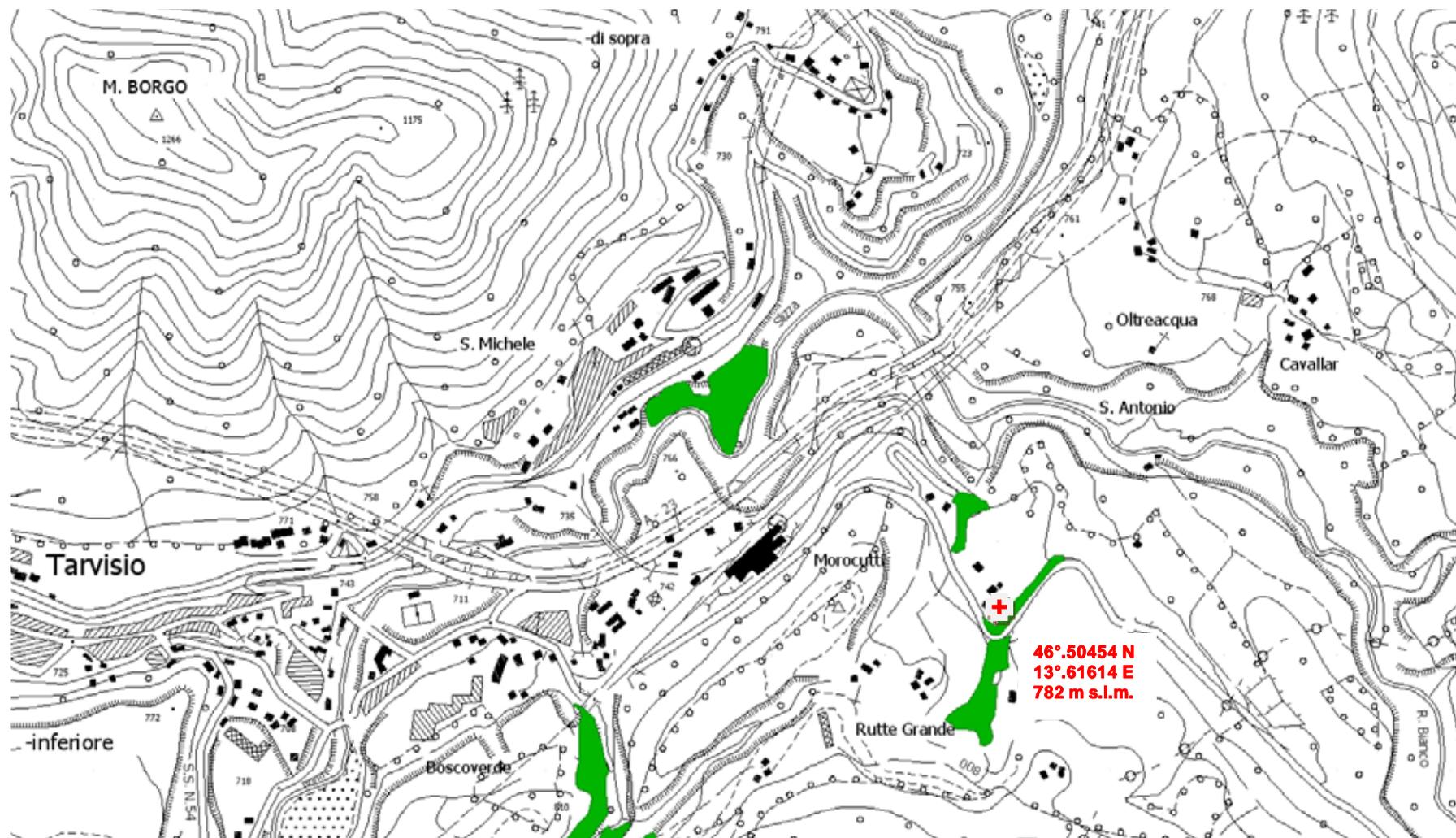


Tavola 3 - Comune di Tarvisio. In rosso è indicata la località in cui è stata accertata la presenza di *C. fraxinea*, mentre in verde sono evidenziati gli aceri-frassineti e i boschi con frassino (Carta tecnica regionale 033-NE).

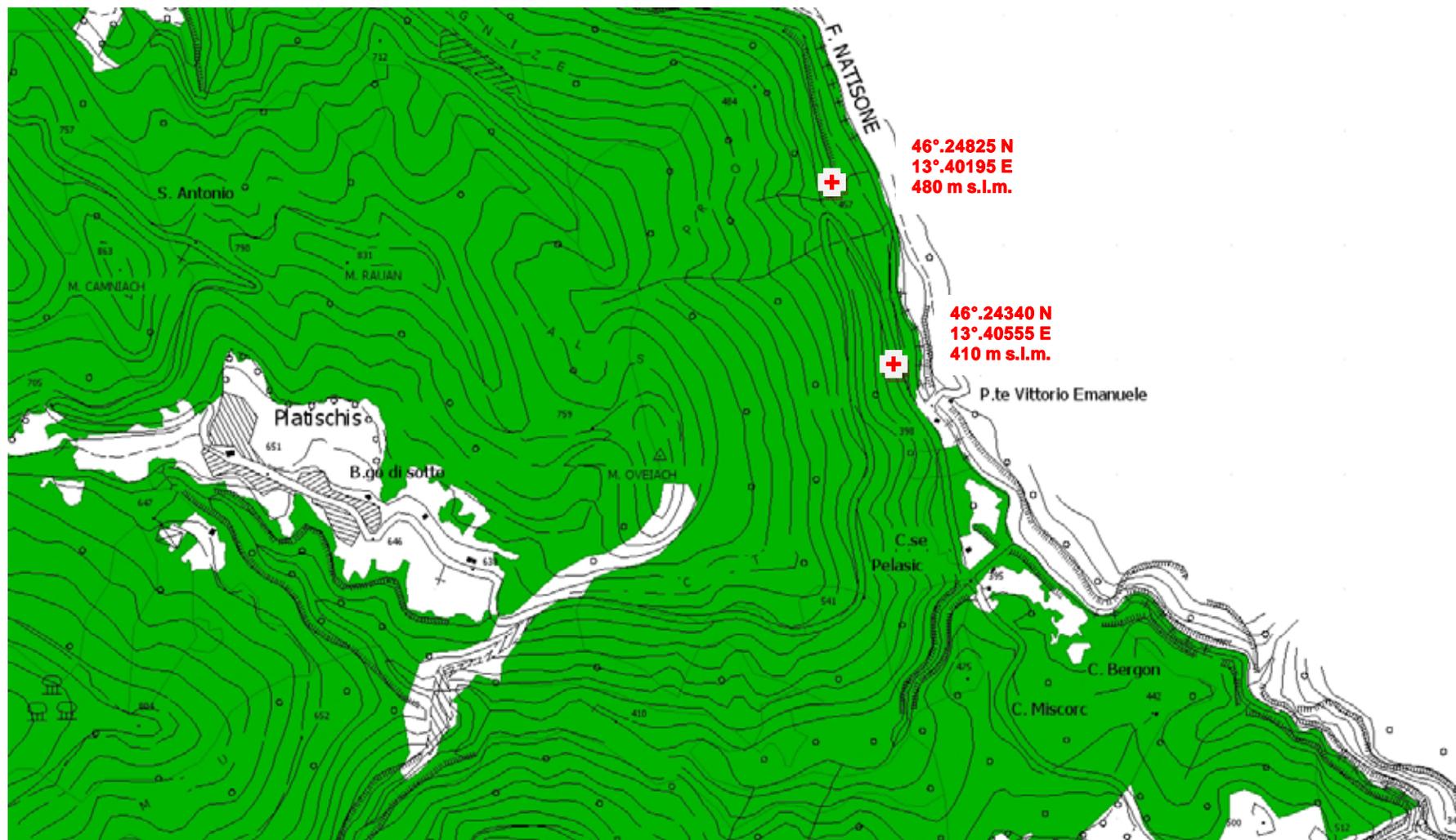


Tavola 4 - Comune di Taipana. In rosso sono indicate le località in cui è stata accertata la presenza di *C. fraxinea*, mentre in verde sono evidenziati gli aceri-frassineti e i boschi con frassino (Carta tecnica regionale 050-NO).

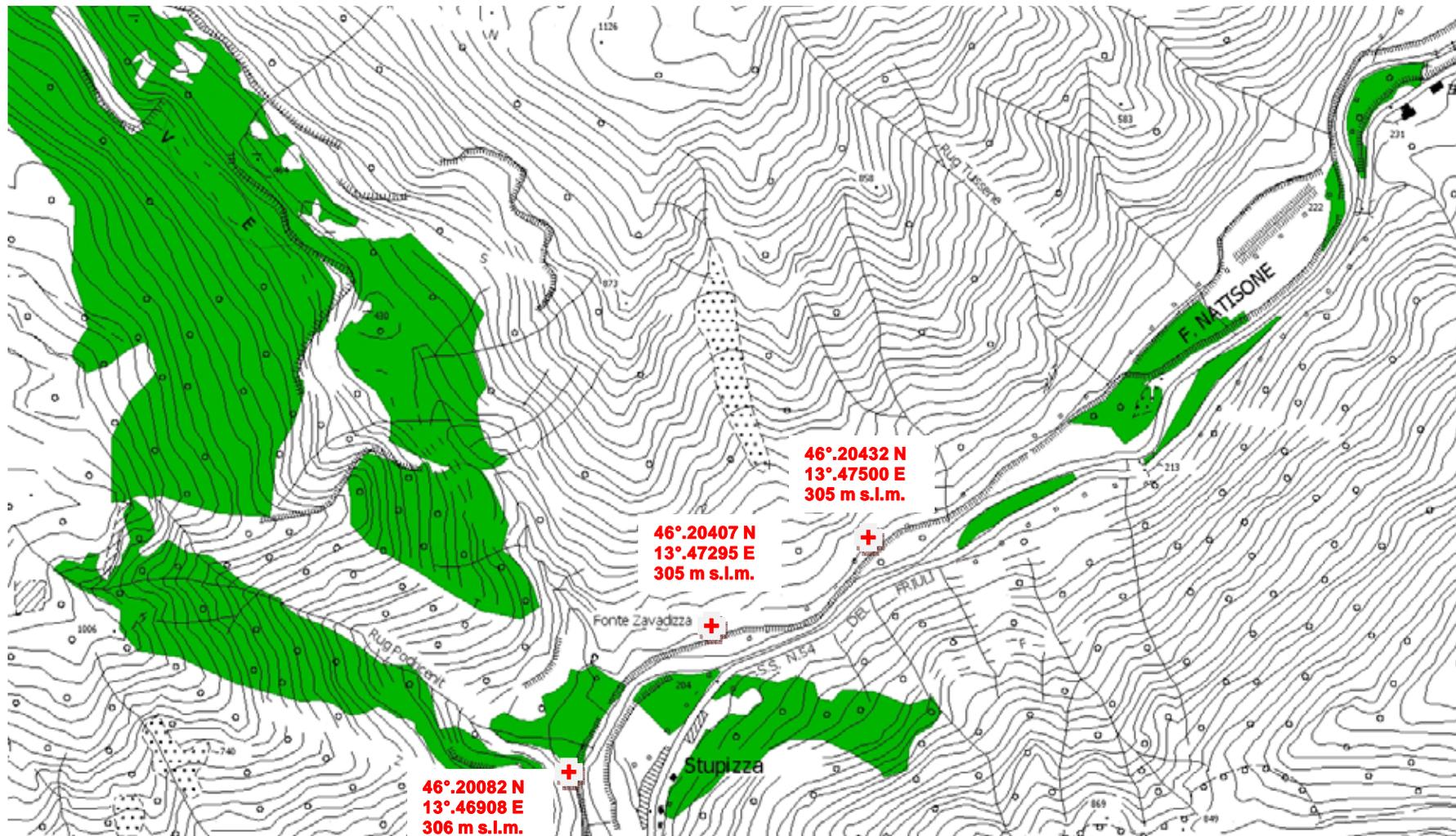


Tavola 5 - Comune di Pulfero. In rosso sono indicate le località in cui è stata accertata la presenza di *C. fraxinea*, mentre in verde sono evidenziati gli aceri-frassineti e i boschi con frassino (Carta tecnica regionale 050-NO).

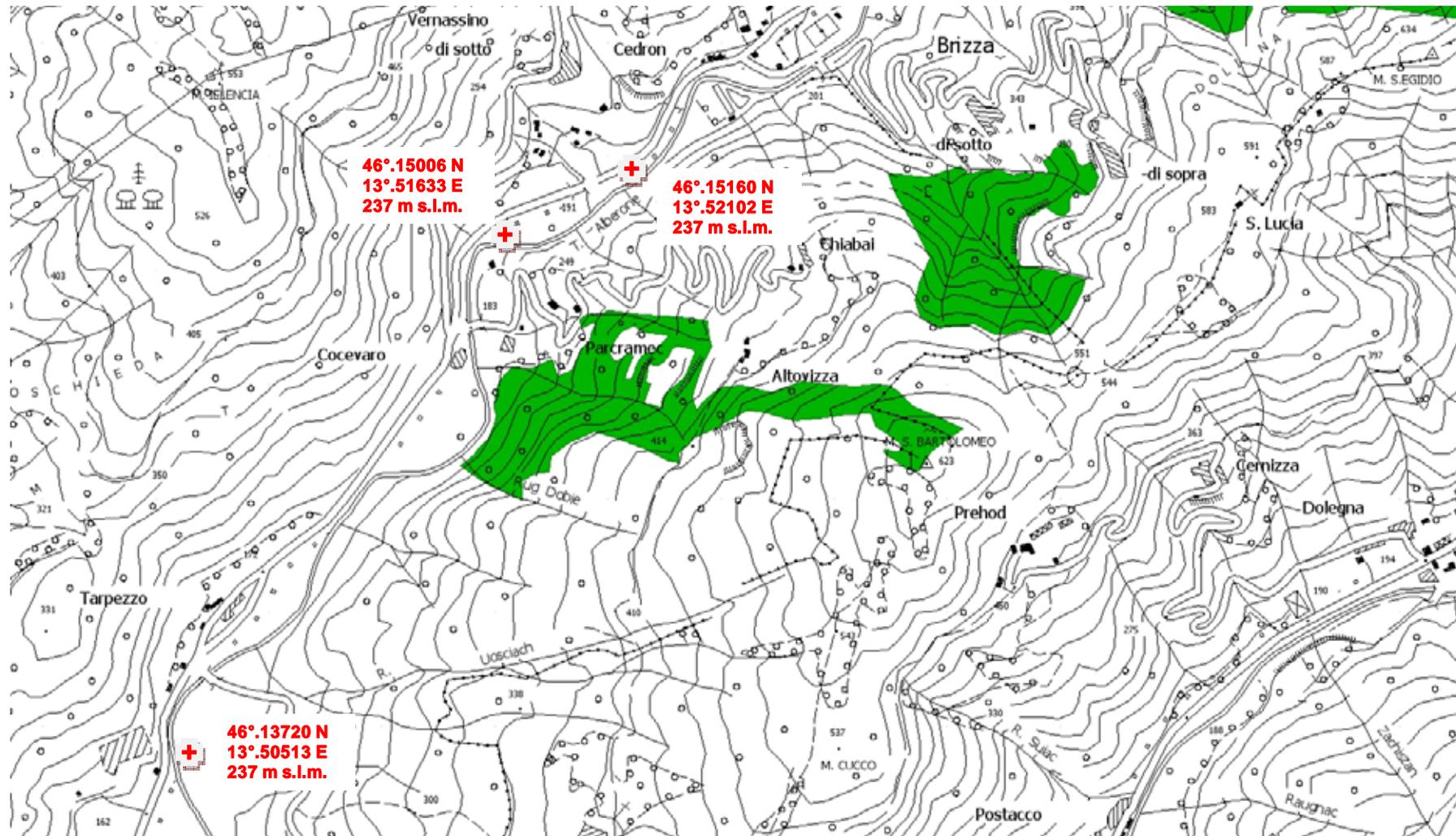


Tavola 6 - Comune di Savogna. In rosso sono indicate le località in cui è stata accertata la presenza di *C. fraxinea*, mentre in verde sono evidenziati gli aceri-frassineti e i boschi con frassino (Carta tecnica regionale 067-NE).

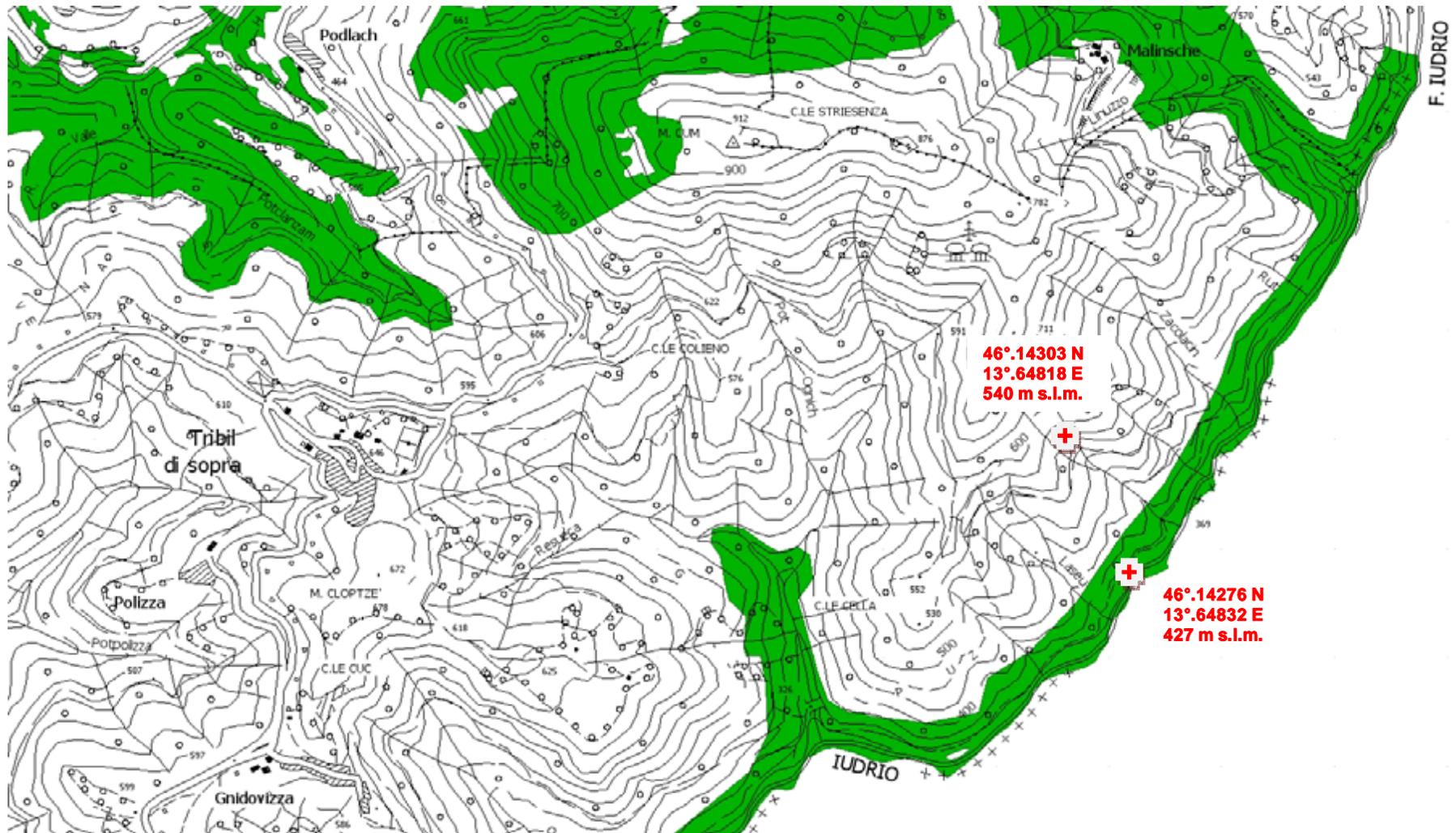


Tavola 7 - Comune di Stregna. In rosso sono indicate le località in cui è stata accertata la presenza di *C. fraxinea*, mentre in verde sono evidenziati gli aceri-frassineti e i boschi con frassino (Carta tecnica regionale 067-NE).



# Ringraziamenti

Si ringraziano tutti coloro che hanno contribuito al buon esito di questo elaborato.

Si desidera ringraziare innanzitutto il personale della Biblioteca “Pietro Arduino” che fornisce agli studenti conoscenze utili per accedere alle risorse bibliografiche necessarie alla stesura della tesi e non solo.

Nell’attività di campo, è sempre stato possibile uno scambio di opinioni ed esperienze con F. Marsich che ha svolto la propria ricerca nelle Province di Gorizia e Trieste.

Infine un sentito ringraziamento va sicuramente ai professori, ai ricercatori e ai tecnici che si sono sempre dimostrati disponibili per chiarimenti e spiegazioni. Pertanto si desidera rendere grazie al dott. G. Dreossi, alla dott.ssa G. Fanchin, alla dott.ssa G. Frigimelica, al dott. T. Hauptman, al dott. N. Ogris e al prof. U. Ziliotto.

Valentino Floreancig  
E-mail: [floreancig@libero.it](mailto:floreancig@libero.it)