



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
Corso di laurea specialistica in Scienze Forestali e Ambientali

Effetti del *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu
sull'accrescimento cellulare di *Castanea sativa* Miller
in Veneto (Combai, TV e Monte Rua, PD)

Relatore
Prof. Mario Pividori

Correlatore
Dott. Enrico Marcolin

Laureando
Nicholas Fantinelli

Matricola n. 1104817

ANNO ACCADEMICO 2017 – 2018

INDICE

1. Premessa e obiettivi	5
2. Castagno e <i>Dryocosmus</i>	7
2.1 <i>Castanea sativa</i> Miller	7
2.2 Usi e funzioni del castagno	9
2.3 Problemi e avversità del castagno	10
2.4 <i>Dryocosmus kuriphilus</i> Yasumatsu	15
3. Descrizione delle aree di studio	19
3.1 Sito di Combai	19
3.2 Sito di Monte Rua	20
3.3 Dati metereologici	21
3.3.1 Dati meteo relativi a Combai (1994-2014)	21
3.3.2 Dati meteo relativi a Monte Rua (1994-2014)	22
4. Materiali e metodi	23
4.1 Raccolta dei campioni	23
4.2 Fase di laboratorio	24
4.2.2 Utilizzo del sistema LINTAB	24
4.2.3 <i>Cross-dating</i>	25
4.2.4 Test con scanner a 4800 e a 9600 dpi	27
4.2.5 Fotografie al microscopio	29
5. Risultati e discussione	33
5.1 Elaborazione dei dati metereologici	33
5.2 Parametri ricavati dal software Roxas	35
5.2.1 Ampiezza media degli anelli (MRW)	36
5.2.2 Numero dei vasi (CNo)	40
5.2.3 Densità dei vasi (CD)	42
5.2.4 Media del lume cellulare nell'earlywood (MCA)	44
5.2.5 Area cumulata dei vasi nell'earlywood (CTA)	46
5.2.6 Percentuale dell'area conduttiva (RCTA)	48
5.2.7 Diametro idraulico medio per anello (Dh)	51
6. Conclusioni e considerazioni	55
7. Bibliografia	59
8. Sitografia	63

1. Premessa e obiettivi

I castagneti del Nord Italia sono stati interessati, sin dal 2002, da un attacco ubiquitario quanto massiccio da parte dell’Imenottero galligeno *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Cinipide del Castagno) che ha portato infine, nel 2013, ad una totale sovrapposizione dell’area interessata dalla presenza dell’insetto, con l’area effettiva del castagno (Battisti et al., 2014; Colombari & Battisti, 2016). L’insetto in questione è una specie univoltina, che si riproduce per partenogenesi telitoca: i danni derivano dal fatto che induce i germogli del castagno a produrre galle, nelle quali poi esso ovidepone, e che fungono da rifugio e protezione alle larve fino a che non raggiungono la fase adulta, durante la quale fuoriescono dalle suddette galle attraverso dei forellini circolari. Le gemme infestate e trasformate in galle quindi, non producono né foglie né frutti (Battisti et al., 2013). L’attacco ha causato un calo progressivo della produzione sia legnosa, con perdite in area basimetrica, in alcune zone, anche del 46% dal 1998 al 2014 (Battoni, 2015), che di frutti, basti pensare che in Piemonte si sono registrate perdite di produzione del 65-85% dal 1999 al 2006 (Battisti et al., 2014), causando quindi un danno economico considerevole.

Sono già stati svolti diversi studi riguardanti la variazione di dimensione degli anelli legnosi di *Castanea sativa* in seguito a defogliazioni di origine parassitica, e si è dimostrato come, sia *Cryphonectria parasitica* (agente del cancro corticale, che quando non porta alla morte della pianta, porta comunque ad una defogliazione più o meno elevata) (Sævar Hreiðarsson, 2011) che *Dryocosmus kuriphilus* (Battoni, 2015) causino una riduzione rilevante degli accrescimenti.

Utilizzando lo stesso set di campioni legnosi di (Battoni, 2015), con il presente studio ci si propone di verificare gli effetti del patogeno, non sugli accrescimenti legnosi annui, bensì sulla variazione di densità, dimensione dei vasi, percentuale di area conduttiva e altri parametri, direttamente collegati alla fogliazione della pianta (Patrick Fonti et al., 2006).

I vasi del legno primaticcio risultano infatti essere un utile indicatore ecologico: ad esempio la variazione nella loro dimensione è collegata alla temperatura nei due momenti fisiologici cruciali per la formazione dei vasi, la fine del periodo vegetativo precedente e l’inizio dell’attività cambiale (Patrick Fonti e Ignacio Garcia-Gonzalez, 2004).

Dimensione e densità dei vasi variano inoltre in base alla condizione del sito, caratteristica utilizzabile per analizzare ad esempio l’adattamento di una stessa specie in base alle diverse caratteristiche pedo-climatiche del luogo in cui si trova (Carlquist, 1975).

Questo lavoro si propone come obiettivo quello di analizzare e confrontare diversi parametri relativi agli accrescimenti cellulari di *Castanea sativa*, prima e dopo l'arrivo di *D. kuriphilus*. Allo scopo, parimenti a (Battoni, 2015), si sono presi in considerazione per lo studio 2 siti: Monte Rua (area dei Colli Euganei-Padova) e Combai (comune di Miane, pedemontana collinare veneta).

2. Castagno e *Dryocosmus*

2.1 *Castanea sativa* Miller



Figura 2.1: Esemplare di *Castanea sativa* Muller

Tassonomia

Il genere *Castanea* appartiene alla famiglia delle Fagaceae e comprende diverse specie.

In Europa la specie presente è *Castanea sativa*, diffusa in Italia, Portogallo, Spagna, Francia, Slovenia, Croazia, Grecia, Bulgaria, Turchia e in alcune zone della Russia (Mihelcic, 2000).

Altre specie importanti le troviamo in Giappone (*Castanea crenata*, coltivata anche in Corea e Cina settentrionale), in Cina (*Castanea mollissima*) e in Nord America (*Castanea dentata*).

Ecologia

L' *optimum* del castagno si trova nel piano collinare, dai 200-300 m ai 600-800 m di quota nell'orizzonte forestale del *Castanetum* che prende il nome appunto da questa specie.

La fascia climatica del *Castanetum* si trova tra quella del *Lauretum* più calda e quella del *Fagetum*, più fredda.

Il castagno è una specie tendenzialmente acidofila rispetto al suolo anche se può svilupparsi su suoli calcarei che devono però aver perso il calcare attivo.

(Del Favero, 2004) identifica infatti cinque tipi principali di castagneti in base al substrato e al suolo, ossia:

- Castagneto dei substrati carbonatici dei suoli mesoxerici;
- Castagneto dei substrati carbonatici dei suoli mesici;
- Castagneto dei substrati silicatici dei suoli xerici;
- Castagneto dei substrati silicatici dei suoli mesoxerici;
- Castagneto dei substrati silicatici dei suoli mesici.

In Veneto infatti, come in Friuli-Venezia Giulia, nell'area potenziale del castagno prevalgono i substrati carbonatici e i castagni presenti sono dovuti principalmente a un fattore antropico (Del Favero, 2004).

Il castagno è una specie termofila, e ha un buon sviluppo su zone dove la temperatura media annua è di 12-13 °C, la media del mese più freddo non dovrebbe inoltre scendere sotto i -2 °C, anche se i danni da freddo si manifestano solo sotto i -25 °C.

Per quanto riguarda il castagno da frutto, è bene sottolineare che la resistenza ai freddi invernali è maggiore nel castagno europeo (*Castanea sativa*) rispetto agli ibridi euro-giapponesi (*sativa* x *crenata*) (Bounous, 2002).

Il castagno necessita inoltre di almeno 6 mesi con temperatura superiore ai 10 °C per completare il proprio ciclo biologico.

È una specie a fioritura tardiva (fine giugno – inizio luglio) e per la produzione del frutto ha bisogno di almeno 100 mm di pioggia durante la stagione vegetativa.

Rispetto alla luce, il castagno è estremamente eliofilo, si sottolinea però che anche nel caso in cui nasca una piantina sotto copertura, non è detto che questa muoia: è possibile infatti che sopravviva e tenda a svilupparsi orizzontalmente. Nel caso in cui poi venga liberata e cominci ad arrivarle luce, allora comincerà la crescita verticale, e sarà molto avvantaggiata rispetto alle altre piantine nate da seme in quell'anno.

Il castagno in natura era, e dovrebbe essere una specie sporadica.

I vari individui non sono abituati, geneticamente, a trovarsi troppo vicini, nel qual caso comincia una dura competizione ed è possibile che avvengano fenomeni di anastomosi radicale. Tali

fenomeni porterebbero l'individuo vincente la competizione, a prendere possesso dell'apparato radicale dell'individuo perdente.

L'anastomosi radicale è causa anche del passaggio di malattie da un individuo all'altro.

2.2 Usi e funzioni del castagno

Il castagno è una specie storicamente importante per l'uomo, in quanto estremamente versatile.

Di questa pianta si utilizza, o per meglio dire si utilizzava, tutto.

Infatti dalle radici vengono prodotti i porcini migliori, dalla corteccia è possibile estrarre il tannino, utilizzato in passato per la concia delle pelli, il legno è utilizzabile come paleria, sia da vigna (motivo per il quale il castagno è stato piantato dall'uomo soprattutto nelle aree vocate alla viticoltura) che per la costruzione di travame, mobili e pavimenti, le foglie fornivano la lettiera per gli animali, il frutto infine, è stato un alimento fondamentale per le popolazioni in tempi di povertà. Il legno del castagno non si presta però bene come legna da ardere, in quanto i tannini presenti sono ignifughi e affinché possa bruciare in modo efficiente occorrerebbe tenerlo in acqua per almeno 3 anni.

Tra le numerose funzioni che svolge o potrebbe svolgere il castagno, oltre a quelle produttive sopra citate abbiamo:

- funzioni protettive: i castagneti sono in grado di contrastare il degrado del suolo e i dissesti idrogeologici grazie al loro robusto apparato radicale;
- funzioni naturalistiche: il castagneto rappresenta un grande patrimonio ambientale, e mantiene numerosi elementi di biodiversità animale e vegetale, anche se coltivato;
- funzioni paesaggistiche: il castagneto, essendo legato a tradizioni passate, offre un importante funzione paesaggistica e può rappresentare una risorsa turistica per il nostro paese;
- funzioni ricreative: i castagneti, soprattutto quelli da frutto, data la vastità degli spazi aperti tra i vari alberi, possono favorire attività all'aria aperta come passeggiate, pic-nic, attività culturali ecc;
- funzioni didattiche: essendo una specie storicamente e naturalmente importante, sul castagno possono essere svolte numerose attività didattiche rivolte ad amanti sia della storia e delle tradizioni, sia della natura.

2.3 Problemi e avversità del castagno.

Come precedentemente accennato, una delle cause fondamentali del declino della castanicoltura in Italia, e nel mondo, è legata a problemi di tipo fitopatologico.

Il castagno infatti è sempre stato ciclicamente afflitto da patologie diverse, di origine sia fungina sia animale, sia batterica, tali da causare gravi danni alle produzioni, e addirittura tali da eliminare un gran numero di castagneti. Data la vastità dell'argomento, si è deciso di descrivere pienamente solo le patologie più importanti e dannose. Le patologie meno gravi sono state accennate e descritte solo brevemente.

Malattie batteriche.

Tumore radicale batterico: Il tumore batterico è dovuto al batterio *Agrobacterium tumefaciens*.

L' *Agrobacterium tumefaciens* si trova nella rizosfera e può colpire e danneggiare l'apparato radicale, provocando pericolose infezioni, soprattutto nelle piante più giovani.

Il sintomo più evidente è rappresentato dalla formazione di tumori su radici e colletto.

Lotta: la lotta a questo batterio è basata principalmente sulla prevenzione; nel caso in cui si debba attuare un nuovo impianto di castanicoltura, è opportuno controllare accuratamente lo stato dell'apparato radicale delle piantine da mettere a dimora. Sono inoltre presenti delle soluzioni apposite nelle quali immergere le piantine, e che servono ad inibire la formazione del tumore batterico (Mihelcic, 2000).

Parassiti fungini.

Mal dell'inchiostro del castagno: Il mal dell'inchiostro è causato da due funghi oomiceti, *Phytophthora cambivora* e *Phytophthora cinnamomi*.

Questi funghi vivono nel terreno e si propagano attraverso zoospore che vengono trasportate dall'acqua, sono pertanto favoriti da terreni che non sgrondano bene l'acqua.

Infettano gli apici radicali, e risalgono sulle radici di sostegno fino al colletto, creando delle caratteristiche necrosi a forma triangolare, strette e alte (visibili in Figura 2.2). La pianta reagisce espellendo tannini, che hanno colore nerastro, simile all'inchiostro, ed è da questo che deriva il nome della malattia. Queste necrosi



Figura 2.2: Sintomi al colletto(fonte: “<http://www.unipd.it/esterni/www.fitfo/inchiostro.htm>”).

vanno in profondità una decina di centimetri, e dato che le parti vitali della pianta si trovano nei primi cerchi, ossia nei primi centimetri, ne causano la morte. Altri sintomi sono, insieme alle necrosi nere triangolari che salgono dal colletto (che prendono il nome di “fiammate”): defogliazioni, disseccamenti prematuri della chioma, ricci immaturi che permangono a lungo attaccati sui rami spogli, deperimento progressivo e morte della pianta. In commercio esiste un utile kit, contenente l’occorrente per eseguire un test enzimatico sulle piante malate, per verificare la presenza di *Phytophthora*. Il parassita infatti è facilmente isolabile, in quanto si trova nei margini delle fiammate. Tenzialmente questa malattia porta alla morte un individuo adulto nel giro di 1-3 anni, e nelle piante giovani, causa avvizzimento, portando alla morte in un periodo di tempo molto più breve, anche in una sola stagione. In fase avanzata, una pianta con questa malattia esaurisce anche la capacità pollonifera.

Il mal dell’inchiostro ha rappresentato sicuramente la più grave fitopatia del castagno europeo tra la fine del XIX e la prima metà del XX secolo.

È conosciuto da circa 2 secoli, quando nel 1824 fu segnalato per la prima volta negli Stati Uniti, su esemplari di *Castanea dentata* (Bounous, 2002). In Italia invece è diffuso dal primo Novecento, e negli ultimi anni è ricomparso con una nuova recrudescenza in alcune regioni (Piemonte, Emilia-Romagna, Toscana, Marche, Lazio, Calabria).

Lotta: per affrontare questo problema, nel 1994 è stato avviato un progetto finanziato dalla NATO, nell’ambito del programma “Science for stability” che mira a integrare le varie tecniche e metodi di lotta alle avversità. Questo progetto, denominato “Chestnut ink disease. An integrated approach to its control and release of quality improved material” (mal dell’inchiostro del castagno. Lotta integrata e ottenimento di materiale genetico di qualità) si pone diversi obiettivi:

- Individuare e selezionare nell’ambito del castagno europeo porta innesti resistenti al mal dell’inchiostro;
- Identificare “suoli repressivi” meno favorevoli allo sviluppo del patogeno e più vocati per il castagno;
- Mettere a punto idonee tecniche agronomiche di gestione degli impianti.

Importantissima è pertanto la prevenzione, basata sul monitoraggio e sul controllo del luogo dell’impianto, e sul materiale di propagazione.

Nel caso in cui si noti la presenza di piante infette, è opportuno abbatterle e asportarne le ceppaie e nel caso in cui non fosse possibile l’abbattimento, si può utilizzare la cosiddetta poltiglia bordolese (5% di solfato di rame e 5% di calce in soluzione acquosa) che va pennellata nella zona del colletto. Come lotta preventiva, si sottolinea la possibilità di eseguire delle “scalzature” (ossia delle asportazioni di terra) nei pressi del ceppo, assieme ad altre pratiche colturali che riducano l’umidità

attorno alla pianta (Bassi, 1990).

Cancro corticale: l'agente del cancro corticale è il fungo ascomicete *Cryphonectria parasitica*.

Le vie d'ingresso per questo parassita sono rappresentate da ferite di vario genere, come potature, innesti, grandine, morsi di animali ecc. Nelle zone infettate, appare una caratteristica depressione di colore rossastro, dal contorno irregolare, che si evolverà poi in cancro. Nei pressi del cancro si possono notare le strutture di moltiplicazione (chiamate picnidi, visibili in *Figura 2.3*) e a volte quelle di riproduzione (ossia i periteci, in Italia osservati di rado).

Quando il micelio, dalla ferita, circonda tutto il ramo, o il fusto, la parte soprastante muore e dissecca. La pianta infettata, comincia a produrre rametti epicormici al di sotto della ferita, che rappresentano un rilevante elemento di diagnosi della malattia. Il cancro corticale non infetta però le radici, pertanto l'ospite non muore totalmente, ma continuerà a produrre polloni, il danno quindi interessa prevalentemente la produzione.

Cryphonectria parasitica ha un'ampia fase saprofitaria e la riproduzione/moltiplicazione possono avvenire anche su legno morto o in opera.

Il cancro corticale ha rappresentato dal dopoguerra fino alla metà degli anni '80 la più dannosa avversità per il castagno in Italia. Bassi, ne "La coltivazione del castagno" (1990) scrive, riguardo a questa malattia: "Se lo sviluppo della *Endothia parasitica*¹, ritenuta fino ad oggi la malattia più



pericolosa per il castagno, si fosse manifestato in Europa e nel nostro Paese all'inizio del secolo², avrebbe provocato una catastrofe di carattere economico e sociale uguale, se non maggiore, di quella provocata dalla diffusione della fillossera sulla vite europea. Il flagello della miseria e della fame avrebbe colpito buona parte delle popolazioni montane ed appenniniche

Figura 2.3: cancro corticale, nella foto sono visibili i picnidi del fungo(fonte:

"http://www.diark.org/img/species_pict/large/Cryphonectria_parasitica/").

1: Endothia parasitica è il nome con cui veniva chiamato Cryphonectria parasitica.

2: Come "inizio del secolo" l'autore intende i primi del '900, in quanto la pubblicazione del libro è avvenuta nel 1990.

provocando un esodo disordinato, pericoloso e violento”. *Cryphonectria parasitica* è stata inserita nell’elenco delle 100 tra le specie esotiche più invasive e più dannose al mondo.

Il cancro della corteccia è stato segnalato la prima volta nel giardino zoologico del Bronx a New York nel 1904, diffondendosi poi in tutto l’areale di *Castanea dentata* e portando in poco tempo alla quasi estinzione della specie. Attualmente è diffuso in tutta Europa, ad esclusione di alcune aree in Nord Europa e in Gran Bretagna, ed è una delle malattie che ha causato l’abbandono della castanicoltura, nell’epoca successiva alla Seconda Guerra Mondiale (Bounous, 2002).

Lotta: negli ultimi anni il cancro corticale ha causato una quantità di danni minori, grazie alla diffusione di una naturale forma ipovirulenta del parassita.

Quando le ife di un ceppo ipovirulento entrano in contatto con quelle di un ceppo virulento, quest’ultimo viene contagiato e comincia a convertirsi in ipovirulento. I ceppi ipovirulenti sono molto meno “vigorosi” e la pianta è in grado di risanare i cancri causati da tali ceppi. È importante pertanto cercare di diffondere, dove la diffusione naturale sia scarsa o assente, i ceppi ipovirulenti attraverso interventi biologici. In ogni caso è consigliabile disinfettare le ferite, sia da innesto che da potatura applicando gli opportuni mastici, e utilizzando in caso anche degli anticrittogamici.

Fersa del castagno: la fersa, o ruggine delle foglie, è causata dall’ascomicete *Mycosphaerella maculiformis*. Non è esclusiva del castagno, ma è presente anche su nocciolo, quercia e altre latifoglie. Questa patologia si manifesta con la comparsa di numerose macchioline imbrunite e irregolari sul lembo fogliare, tendenzialmente a fine estate-inizio autunno e in presenza di andamenti stagionali particolarmente umidi e piovosi. Su piante adulte, generalmente non causa gravi danni, ma può causare indebolimento nei semenzali e nelle piante più giovani.

Lotta: in vivaio è possibile ricorrere alla lotta chimica, utilizzando anticrittogamici. La varietà Marigoule (un ibrido euro-giapponese) presenta una particolare sensibilità a questa malattia, ma non tutte le varietà ne sono sensibili (Bassi, 1990).

Oidio o mal bianco: l’agente di questa patologia è il fungo ascomicete *Microsphaera alphitoides*. Il fungo causa la formazione di una patina biancastra, costituita da ife fungine, sulla lamina fogliare. Le foglie colpite tendono ad ingiallire e a cadere prematuramente. Tendenzialmente l’oidio non rappresenta mai un problema per i castagni adulti, mentre in vivaio, per eliminarlo, possono essere usati diversi prodotti antioidici.

Marciume radicale: il marciume radicale è causato principalmente da funghi basidiomiceti del genere *Armillaria*. Tali funghi, entrano dalle radici di specie già deboli per altre ragioni, e raramente

riescono a penetrare in individui sani e vigorosi dato che vengono eliminati dalle normali difese delle piante. Sono tra i pochi individui in grado di degradare e digerire la lignina presente nelle cellule vegetali e attaccano non solo il castagno, bensì tutte le specie arboree. Risalgono dalle radici fino ai rami, e sono caratterizzati dall'avere un'ampia fase saprofitaria. I sintomi sono legati alla perdita dell'efficienza dell'apparato radicale, pertanto sono: arresto dell'accrescimento, ingiallimenti fogliari, microfillia, filloptosi precoce, deperimento della chioma, e infine morte dell'individuo (Bounous, 2002). Altro sintomo, che si presenta però quando la patologia è già in fase avanzata, è l'insorgenza dei corpi fruttiferi (i "chiodini").

Lotta: metodi di lotta preventiva sono costituiti dall'utilizzo di individui resistenti (ad esempio alcuni cloni) (Mihelcic, 2000), e dall'eliminazione di piante fortemente debilitate e delle vecchie ceppaie, con successiva disinfezione del terreno. Naturalmente, piantare il castagno in un luogo adatto, esente da ristagni idrici e da condizioni di siccità è di fondamentale importanza (Bounous, 2002).

Carie del legno: gli agenti di carie del legno che più frequentemente attaccano il castagno sono funghi basidiomiceti appartenenti ai generi *Stereum*, *Fomes*, *Phellinus*, *Laetiporus*, *Schizophyllum*. Questi funghi entrano nella pianta attraverso ferite, e sono pertanto favoriti dalla presenza di cancri, che non consentono la cicatrizzazione delle ultime.

I sintomi non sono immediatamente visibili, ma compaiono dopo un lasso di tempo tendenzialmente lungo, quando insorgono i corpi fruttiferi, caratteristici per ogni specie.

Lotta: contro questi patogeni i pochi metodi di lotta consistono nell'eliminare le parti infette, e nell'utilizzo di mastici specifici da applicare sulle ferite.

Marciume nero o nerume delle castagne: questa patologia è causata dal fungo ascomicete *Ciboria batschiana*. Tendenzialmente questo fungo attacca i frutti caduti al suolo, anche se raramente può infettarli quando sono ancora sulla pianta, e causa l'annerimento e il raggrinzimento dei cotiledoni alterandone le qualità. Esternamente, i frutti colpiti non presentano segni e questo rende difficilmente individuabile la malattia. Il fungo può diffondersi da frutto a frutto in fase di conservazione ed è una delle principali cause di deterioramento dei frutti in questa fase.

Mummificazione delle castagne: l'agente causale è *Phomopsis endogena*. I frutti colpiti da questo parassita assumono un colore bianco, diventano duri e gessosi ed acquistano un sapore sgradevole. Lotta: per contrastare i parassiti sopra descritti, è opportuno raccogliere tempestivamente i frutti, e successivamente immergerli in acqua prima della conservazione (la cosiddetta "curatura"), per poi

conservarli in locali asciutti (Bertolini e Tian, 1997).

Malattie di origine virale.

Mosaico del castagno: il virus del mosaico del castagno rappresenta la più diffusa malattia virale in Italia (Gualaccini, 1958; Ragozzino, Lahoz, 1986). Il virus provoca ingiallimenti clorotici, o piccole macchie a contorni irregolari nella lamina fogliare. È trasmissibile per innesto o attraverso gli afidi. Lotta: la lotta si basa più che altro sul controllo degli innesti, e nell'eliminazione degli eventuali innesti infetti.

2.4 *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu

Dryocosmus kuriphilus Yasumatsu è un Imenottero appartenente alla famiglia dei Cynipidae, originario della Cina, e per tale ragione viene comunemente chiamato “vespa cinese”. Viene anche chiamato “cinipide galligeno del castagno” in quanto induce nella pianta la produzione di galle su germogli, su nervature mediane delle foglie, e alla base degli amenti maschili, causando una mancata induzione a fiore nelle gemme colpite. Le galle sono state individuate per la prima volta in Giappone, nel 1941 e nell'arco di un ventennio, l'insetto si è diffuso in tutta la nazione, diventando una delle più importanti piaghe del castagno in Giappone



Figura 2.4: esemplare di *Dryocosmus kuriphilus* in ovideposizione, (fonte <http://www.demetra.net/2012/10/01/dryocosmus-kuriphilus-cinipide-galligeno-del-castagno/>).

(Murakami, 1997). Vi è inoltre la possibilità che le piante indebolite dall'azione di questo insetto, diventino più suscettibili anche ad altre patologie, in particolare è possibile che attacchi dell'imenottero favoriscano la recrudescenza della mortalità da cancro anche in contesti in cui l'ipovirulenza è insediata e diffusa (Turchetti et al., 2010).

In Italia è stato segnalato per la prima volta in Piemonte nel 2002, e nel corso degli ultimi anni si è diffuso in tutte le aree castanicole italiane causando enormi danni alle produzioni. In Veneto c'è stata una segnalazione da parte di un vivaio per la prima volta nel 2007.

I mezzi di diffusione di questo parassita sono il volo diretto degli insetti, e prevalentemente lo scambio di materiale (come marze e innesti) infettato.

Ciclo biologico di *Dryocosmus*.

Il cinipide galligeno del castagno, è un insetto univoltino, ossia compie una sola generazione all'anno, e si caratterizza per la totale assenza di individui maschili, riproducendosi per partenogenesi telitoca. Il ciclo biologico cambia in funzione alle condizioni ambientali. Un ciclo biologico completo si caratterizza per le seguenti fasi:

- ovideposizione: avviene tra la metà di giugno e la seconda decade di agosto. Le femmine possono deporre da 100 a 150 uova che inseriscono a gruppi all'interno delle gemme. Le uova si schiudono dopo circa 30-40 giorni dalla deposizione.
- stadi larvali: sono 3, di cui il primo è la forma svernante. Gli stadi larvali successivi si sviluppano da metà marzo a metà giugno circa, in occasione del risveglio vegetativo della pianta, che nel frattempo ha cicatrizzato i fori da ovideposizione. Contemporaneamente agli sviluppi degli stadi larvali, vi è la formazione delle galle.
- pupa: lo stadio di pupa dura da fine maggio a fine luglio.
- adulto: gli sfarfallamenti avvengono da metà giugno a metà agosto e nei pochi giorni di vita degli adulti (durante i quali non si nutrono) essi si occupano esclusivamente dell'ovideposizione in nuove gemme di castagno (Alma).



Figura 2.5: galla ormai secca di *Dryocosmus kuriphilus*

Areale di diffusione.

D. kuriphilus, originario della Cina settentrionale, è stato segnalato per la prima volta in Giappone nel 1941. Questo cinipide galligeno fu descritto come una nuova entità tassonomica solamente nel 1951 da K. Yasumatsu con il nome *Dryocosmus kuriphilus* (Yasumatsu, 1951).

Diffusosi anche in Corea (Paik et al., 1963), a partire dagli anni 60 ha causato in entrambi i Paesi gravi danni alle coltivazioni di castagno da frutto (*Castanea crenata* Sieb e Zucc.), con perdite di produzione fino al 70-80%. Nel 1974 il cinipide ha fatto la sua comparsa in Georgia (Stati Uniti) in coltivazioni di castagno cinese (*Castanea mollissima* Bl.), arrivando con marze di provenienza asiatica non sottoposte a quarantena. Dopo aver compromesso seriamente la produzione di questi impianti da frutto, a partire dal 1992 l'insetto è stato ritrovato anche sul castagno americano

(*Castanea dentata* Borkh.). Attualmente negli Stati Uniti risulta endemico in Georgia e North Carolina e presente anche in Alabama e Tennessee (Anagnostakis, 1999). In alcune località del Cuneese è stata riscontrata la presenza di galle sia sugli ibridi euro-giapponesi (*Castanea crenata* × *C. sativa*), la cui coltivazione in zona è iniziata a partire dagli anni 80, sia sul castagno europeo, selvatico o innestato, ampiamente diffuso nella copertura boschiva pedemontana. La presenza in Veneto del parassita, venne attestata la prima volta nel 2007 a Cavaso del Tomba (Treviso), seguita da uno scarso tentativo di eradicazione tramite distruzione di rami e materiale infetto. L'anno seguente, il patogeno fu localizzato in altri 33 siti, localizzati nell'intorno di circa 70 km da Cavaso del Tomba. La diffusione continuò poi negli anni successivi, arrivando attorno al 2013 a coprire l'intero areale di *Castanea sativa* (Battisti et al., 2014; Colombari & Battisti, 2016).

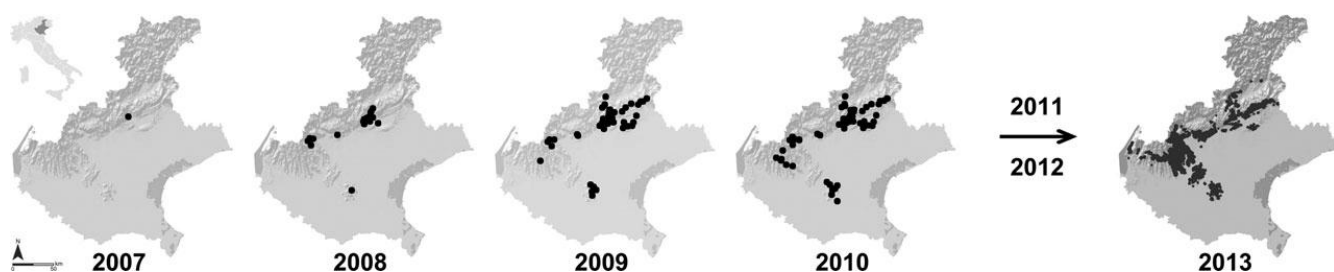


Figura 2.6: Diffusione del cinipide dalla sua comparsa (Colombari & Battisti, 2016)

Lotta.

In Giappone e Stati Uniti un metodo che ha ottenuto risultati positivi nella lotta a *Dryocosmus kuriphilus* è stato la lotta biologica con l'utilizzo di *Torymus sinensis*.

Torymus sinensis è una specie univoltina, come *Dryocosmus*, ma la popolazione di *Torymus* è costituita sia da esemplari di sesso maschile che femminile. *Torymus* si comporta come ectoparassita monofago di *Dryocosmus*. Le femmine di questo Torimide sono in grado di deporre fino a 70 uova per ogni galla di *Dryocosmus*, e le uova vengono deposte direttamente sul corpo dei cinipidi o comunque all'interno della cella larvale.

Le larve di *Torymus*, alla nascita, si nutrono di quelle del cinipide, causandone pertanto la morte.

Questo metodo di lotta presenta diversi vantaggi:

- bassi costi sia per l'introduzione che per la diffusione del Torimide;
- equilibrio biologico tendenzialmente duraturo nel tempo;
- ridotto impatto ecologico, in quanto *Torymus sinensis* attacca solo e solamente *Dryocosmus kuriphilus*;
- possibilità di utilizzare questo metodo di lotta anche se si utilizzano insetticidi in estate contro cidee e balanino, in quanto nel periodo estivo *Torymus sinensis* si trova all'interno delle galle.

Come dimostrano i grafici nella Figura 2.7, con questo metodo di lotta biologica, nel caso del Giappone, si sono ottenuti ottimi risultati, con una decrescita progressiva della popolazione del galligeno che dopo una decina d'anni si attestò essere vicina allo 0%.

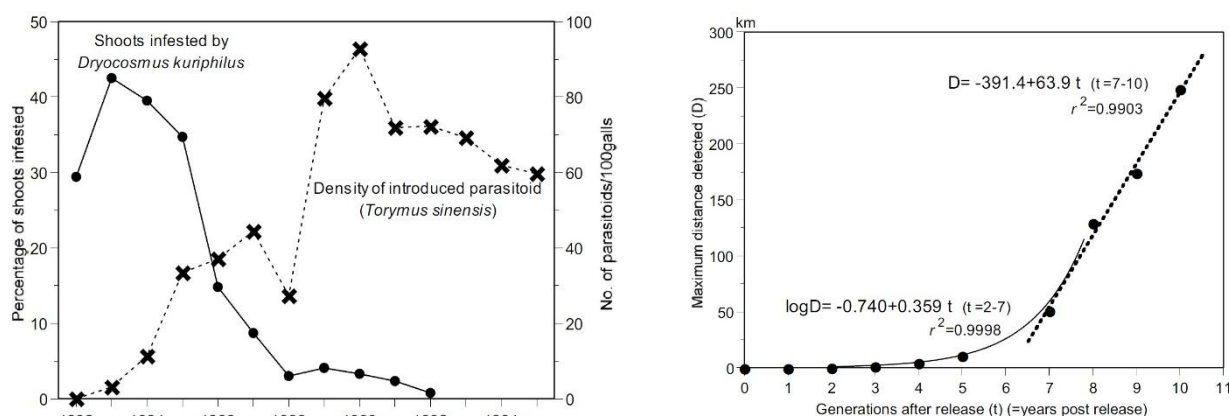


Figura 2.7: a sinistra, variazione dell'infestazione di *Dryocosmus* a seguito dell'introduzione di *Tormus*. A destra, relazione tra il numero di generazioni dopo il rilascio del torimide a Tsukuba (JAP) nel 1982 e la massima distanza percorsa dall'insetto (Moriya et al. (1989b), Shiga (1996, 1997)).

Per quanto riguarda l'Italia, e più precisamente il Veneto ove si sono svolti i campionamenti per questo lavoro, si sono ottenuti, con lo stesso metodo di lotta, risultati ancora più soddisfacenti rispetto ad altri Paesi: dal 2010 al 2015 vennero eseguiti ben 497 lanci del parassitoide che portarono, dai 3 ai 5 anni successivi a ogni lancio, ad avere una percentuale media di parassitismo a carico del Cinipide, del 82.4%. Le cause di questo successo, sono da ricercare nel fatto che *Tormus sinensis* si è trovato in un territorio dove i castagneti sono piccoli, disposti in modo continuo e puntiforme, ricchi di cibo per il parassitoide (cioè di *Dryocosmus kuriphilus*, che aveva avuto modo di crescere in numero nel corso degli anni) e poveri di competizione o predazione, il tutto rafforzato dalla presenza di venti che hanno contribuito alla dispersione anemocora degli insetti (F. Colombari and A. Battisti, 2016).

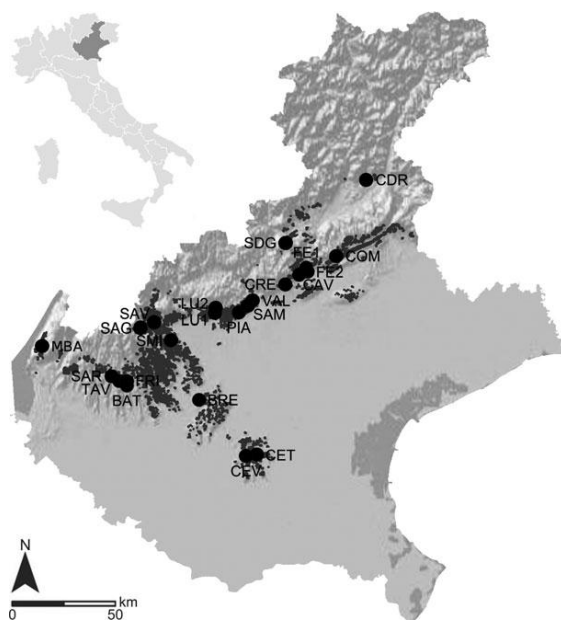


Figura 2.8: mappa che indica la posizione dei luoghi di rilascio del cinipide nelle primavere degli anni 2010, 2011, 2012 e 2015 (Colombari & Battisti, 2016).

3. Descrizioni delle aree di studio



Figura 3.1: Le due aree di studio scelte sono Combai (TV) e Monte Rua (PD).

3.1 Sito di Combai

Combai si trova nel comune di Miane, in provincia di Treviso, a 395 m s.l.m. nelle prealpi bellunesi.

Il paesaggio è caratterizzato dalla forte presenza di castagneti, sia per la produzione di frutti, per i quali vi è una certificazione IGP, sia per la produzione di legno.

Vengono riportate in breve le caratteristiche del marrone IGP dell'area di Combai, estratte dal sito www.agraria.org.

Marrone di Combai IGP:

Zona di produzione: territorio dei comuni di Cison di Valmarino, Cordignano, Follina, Fregona, Miane, Revine Lago, Sarmede, Segusino, Tarzo, Valdobbiadene e Vittorio Veneto, in Provincia di Treviso.

Caratteristiche: il marrone di Combai è un frutto di forma ovoidale, quasi ellittica. La buccia è brillante e di colore marrone scuro, provvista di striature e solcature molto evidenti e deve staccarsi facilmente dalla pellicola interna che assume un colore nocciola. Il frutto si presenta a corpo unico con solcature superficiali e si trova protetto da un riccio ricoperto di aculei. La polpa è di colore biancastro, ha una pasta farinosa, zuccherina, saporita, consistente, resistente alla cottura, croccante

e di sapore dolce. Il numero di frutti per riccio è generalmente di due e non deve mai essere superiore a tre. La pezzatura è medio grossa e di norma non supera gli 85-90 frutti per kg.

A Combai, la prima area esaminata, caratterizzata dalla presenza di piante giovani, è localizzata a 45° 55' 29.02" di latitudine Nord e 12° 03' 43.04" di longitudine Est e si trova a un'altitudine di circa 530 m s.l.m., con esposizione ovest e pendenza compresa tra lo 0 e il 10%. La seconda area, a 100 m di distanza dalla prima, ha coordinate di 45° 55' 28.92" di latitudine Nord e 12° 03' 27.33" di longitudine Est, un'altitudine compresa tra i 505 e i 534 m s.l.m., esposizione est e pendenza tra il 10 e il 50 %.

Il *Dryocosmus kuriphilus* ha colonizzato questo sito nel 2009, mentre nel 2011 sono stati rilasciati gli esemplari di *Torymus sinensis*. Negli anni 2014-2015 le galle collezionate contavano la presenza del *Torymus* in più del 75% dei casi (F. Colombari and A. Battisti, 2016).

3.2 Sito di Monte Rua

Il Monte Rua si trova nel comune di Torreglia, ha un'altitudine massima di 416m s.l.m., e fa parte del Parco Regionale dei Colli Euganei, in provincia di Padova.

L'area, tipicamente collinare, è caratterizzata dalla presenza di boschi di castagno, uliveti, querceti, vigneti, e coltivazioni agricole.

Per gli abitanti dei Colli il marrone ha costituito un riferimento importante, innanzitutto nell'alimentazione: ce ne dà una testimonianza l'abate Barbieri che all'inizio dell'800 nel suo rifugio di Torreglia descrive i popolani intenti a mangiare le “molli castagne” nelle lunghe serate d'inverno, “quando assisi al cantuccio de' lor focolari, bevono a josa, e contano favole”. Il castagno connota il paesaggio Euganeo, si pensi al castagnaròn di Carbonara o quello di Castelnuovo - località collinari - e segna la memoria nei toponimi come nella castagnàra del sènto a Valnogaredo, sotto la cui ombra i vecchi si fermavano a chiacchierare durante la salita. Oggi la tradizione è mantenuta viva nella “sagra dei marroni” che si celebra a Teolo la terza domenica di ottobre (Atlante dei prodotti agroalimentari e tradizionali del Veneto).

Sul Monte Rua, l'area contraddistinta da piante giovani è localizzata a 45° 19' 13.64" di latitudine Nord e 11° 42' 54.47" di longitudine Est. L'altitudine è compresa tra 240 e 280 m s.l.m., l'esposizione è nord-est e la pendenza varia tra il 35 e il 45%. L'area con piante mature, situata a circa un centinaio di metri di distanza dalla prima, ha coordinate di 45° 19' 31.8" latitudine Nord e 11° 42' 78.6" longitudine Est ed è collocata a un'altitudine compresa tra 260 e 310 m s.l.m., con esposizione nord-est e pendenza tra il 45 e il 55%.

La colonizzazione da parte di *Dryocosmus* in questo sito è avvenuta nel 2008, *Torymus* invece ha colonizzato nel 2012, e infine nel 2014-2015 quest'ultimo era presente in più del 75% delle galle raccolte (F. Colombari and A. Battisti, 2016).

3.3 Dati meteorologici

La raccolta dei dati meteorologici ed il loro successivo confronto con le curve ottenute mediante Roxas, è stata fondamentale per capire se la variazione delle caratteristiche cellulari del legno erano dovute all'infezione da parte di *Dryocosmus*, o se invece erano dovute a cause climatiche.

I dati sono stati utili inoltre per cross-datate le curve dendrocronologiche ottenute sia con TSAP che con Roxas.

I dati, relativi all'ultimo ventennio, fanno riferimento a 2 stazioni meteo (ARPA Veneto,

<http://www.arpa.veneto.it/temi-ambientali/meteo/dati>):

- Teolo (PD), come riferimento per Monte Rua;
- Valdobbiadene (TV), come riferimento per Combai.

3.3.1 Dati meteo relativi a Combai (1994-2014)

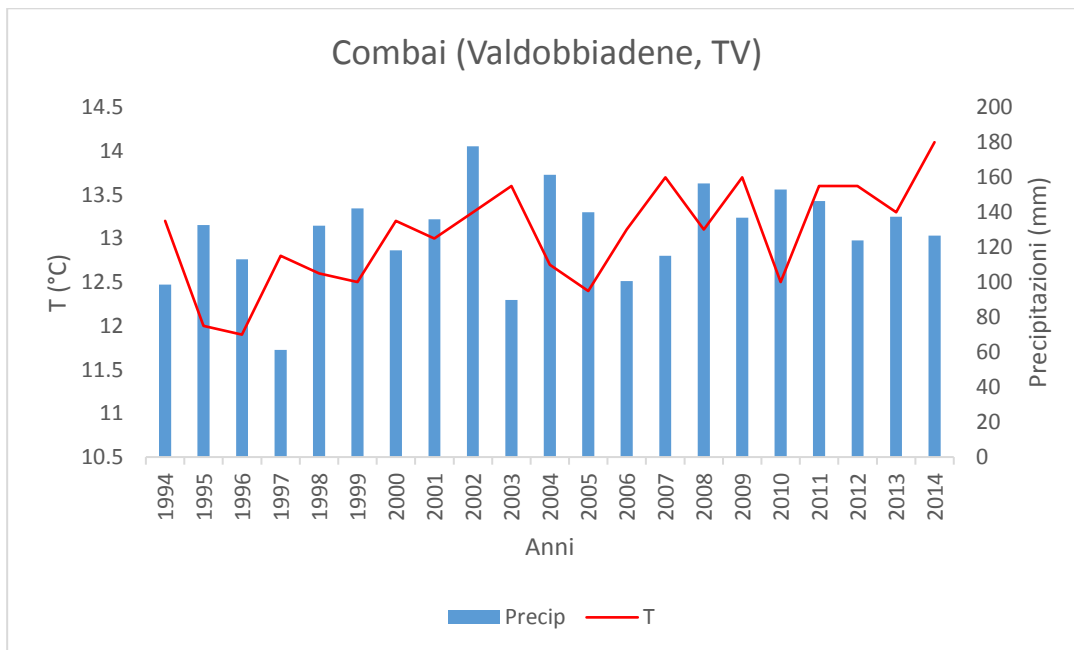


Grafico 3.1: Grafico combinato di precipitazioni medie nel periodo vegetativo (marzo-ottobre) (istogramma blu) e temperature medie annue (linea rossa) relative a Combai. I dati fanno riferimento alla stazione meteo Arpa Veneto di Valdobbiadene, TV.

Il clima della zona è caratterizzato da temperature medie annue che oscillano tra 8 e 13 °C. I mesi più caldi sono generalmente luglio e agosto (temperatura media da 16 a 26 °C) mentre quelli più freddi sono gennaio e febbraio con una temperatura media compresa tra -2 e 7 °C.

La piovosità media annua è di circa 1400 mm, con prevalente distribuzione primaverile e autunnale; massimo pluviometrico primaverile con valori mensili di 152 mm fra maggio e giugno e massimo pluviometrico autunnale con valori mensili di simile entità, con piovosità di 158 mm a novembre (www.arpa.veneto.it).

3.3.2 Dati meteo relativi a Monte Rua (1994-2014)

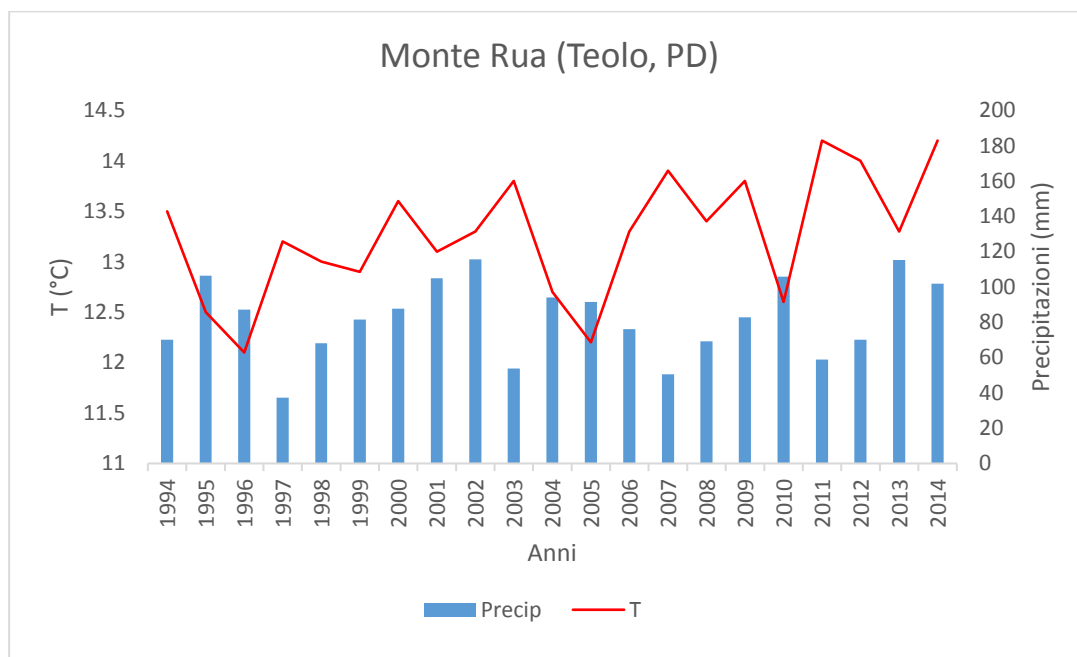


Grafico 3.2: Grafico combinato di precipitazioni medie nel periodo vegetativo tra marzo-ottobre (istogramma blu) e temperature medie annue relative a Monte Rua (linea rossa). I dati fanno riferimento alla stazione meteo Arpa Veneto di Teolo, PD.

Le temperature medie annuali variano da 8 a 18 °C; il mese più caldo dell'anno è luglio con una temperatura media di 23.1 °C. Con una temperatura media di 2.3 °C, gennaio è il mese con la più bassa temperatura di tutto l'anno.

La media annuale di piovosità è di 871 mm; il mese più secco è febbraio caratterizzato da 58 mm di precipitazioni. Novembre è il mese con maggiore piovosità, avendo una media di 92 mm (<http://it.climate-data.org>).

4. Materiali e metodi

4.1 Raccolta dei campioni

All'interno delle due aree di studio, Combai e Monte Rua, sono state scelte 2 aree governate a ceduo, una con piante giovani e una con piante mature.

Per comodità, si è scelto di nominare queste aree utilizzando le iniziali della località, seguite dalla lettera G, nel caso si parlasse del ceduo giovane, o dalla lettera M, nel caso si parlasse del ceduo maturo, si hanno quindi:

- CG: Combai giovani;
- CM: Combai mature;
- RG: Monte Rua giovani;
- RM: Monte Rua mature.



Figura 4.1: Ipsometro modello Suunto

Sono state scelte, per ogni area di studio, 2 aree di saggio, una nella parte con piante giovani, e una nella parte con piante mature.

Le aree avevano circonferenza di 15 m, quindi un'area di circa 95 m², in esse sono state contate e misurate tutte le ceppaie e le matricine, sia in termini di diametro, attraverso l'uso di una cordella metrica, sia in termini di altezza, attraverso l'uso di un ipsometro modello Suunto (Figura 4.1).

Sono stati scelti poi 22 campioni per area di studio (non necessariamente all'interno delle aree di saggio di 15 m di circonferenza), quindi 22 a CG, 22 a CM, 22 a RG e 22 a RM.

Sono stati scelti i polloni più in salute e più regolari, vincitori della competizione, ed essi sono stati nominati col nome dell'area, seguito dai numeri arabi in ordine crescente (CG1, CG2, CG3, ecc).

Di questi, sono stati determinati diametro e altezza (sempre con cordella metrica e ipsometro), ed è stata estratta una carota utilizzando una trivella di Pressler. I campioni sono stati raccolti in cannuce di plastica, alle quali è stato affisso il nome del campione con l'ausilio di scotch carta. Il prelievo della carota è stato eseguito, come da manuale, ad un'altezza di 1,30 m (petto d'uomo), e incidendo la pianta con un angolo di 90°, fino ad arrivare al centro.

Infine, è stato scelto un ramo del pollone in modo aleatorio, e si è contato il numero di galle in un metro di lunghezza.

4.2 Fase di laboratorio

4.2.1 Preparazione dei campioni

Una volta portati in laboratorio, gli 88 campioni in totale, sono stati rimossi dalla cannuccia nella quale erano riposti, e sono stati fissati a dei supporti in legno, utilizzando della colla vinilica.

I campioni sono stati incollati così da avere verso l'alto la sezione trasversale, in modo da facilitare la lettura e la misurazione degli anelli, e in fase successiva l'analisi dei vasi.

È stato necessario aspettare qualche giorno in modo da far asciugare la colla e in seguito levigare la parte alta dei campioni con un bisturi, in modo da migliorare la lettura.

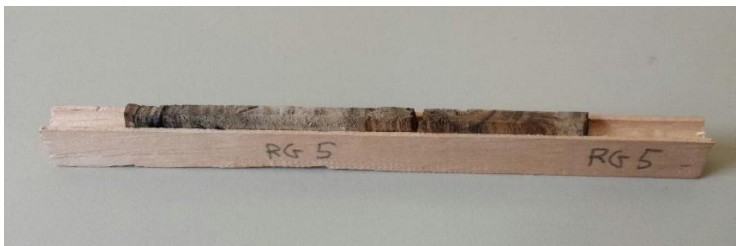


Figura 4.2: Esempio di carota.

4.2.2 Utilizzo del sistema LINTAB

Per analizzare e misurare gli anelli dei campioni in una prima fase, è stato utilizzato un sistema LINTAB (modello ANIOL) (Rinn, 2005).

Questo sistema si basa sull'osservazione dei campioni con un binocolare, collegato a una slitta mobile, che riesce a spostarsi, attraverso un pad di comando, anche di pochi centesimi di millimetro e a registrare lo spostamento (e quindi la larghezza dell'anello legnoso) inviando i dati ad un computer che utilizza il software TSAP-Win (Rinn, 1996), in grado di costruire una cosiddetta *curva dendrocronologica* che mostra l'andamento della crescita degli anelli nei vari anni.

Queste curve possono poi essere comparate tra di loro, in modo da analizzare le variazioni medie della crescita annuale, riuscendo così a determinare quei momenti nei quali vi è stato un aumento o un abbassamento significativo del volume di legno prodotto.

Nel nostro caso, l'analisi delle curve ottenute era utile per confrontarle con quelle ottenute dal programma Roxas ed è essere quindi in caso di correggere eventuali errori.

4.2.3 Cross-dating

Il *cross-dating* è un principio fondamentale della dendrocronologia, che si basa sulla assegnazione dell'anno corretto ad ogni anello misurato.

Si intuisce subito l'importanza del crossdating in dendrocronologia, ossia una delle più importanti tecniche di registrazione dei dati sull'ambiente per una vastità di processi sia naturali (siccità, glaciazioni, alluvioni, ecc) che artificiali (inquinamento, contaminazioni, ecc) (James H. Speer, 2010). Dare ad ogni anello legnoso la giusta data può essere complicato, soprattutto quando si tratta di piante morte da tempo, o reperti archeologici, e solitamente si ricorre al confronto con curve dendrocronologiche standard, o con il confronto con curve già cross-datate.

Nel caso di questo lavoro, dato che si sono raccolti dati di piante ancora vive, si è assegnato all'ultimo anello misurato, l'anno del prelievo.

In caso di incertezze sulla distribuzione degli anelli (ad esempio a causa di *break* o di difficoltà di lettura della carota) è stato utile il confronto con i dati meteo, in particolare riguardanti l'anno 2003, che con la siccità straordinaria, ha portato le piante a produrre un anello legnoso tipicamente più stretto rispetto alla norma, risultando quindi in un picco negativo caratteristico nella curva dendrocronologica *-pointing year-*.



Figura 4.3: Il sistema Lintab, con pc connesso e carota montata pronta per la misura.

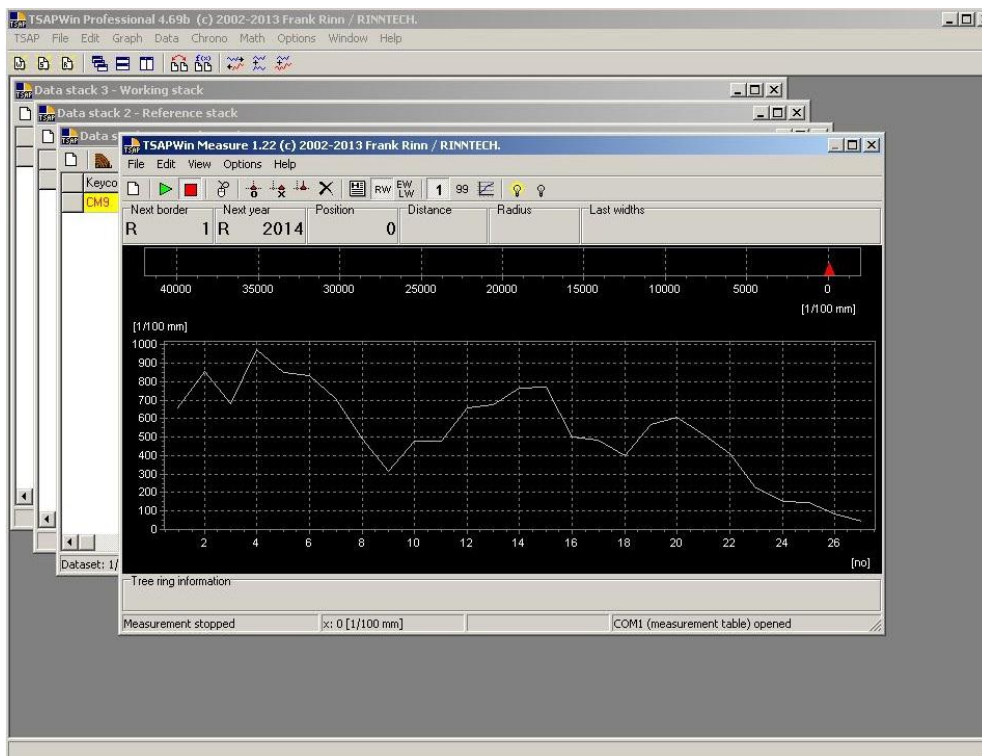


Figura 4.4: Grafico della misura dell'ampiezza di ogni anello in una carota, eseguito con il programma TSAP e la strumentazione Lintab

4.2.4 Test con scanner a 4800 e a 9600 dpi

Si è proceduto con una prima cernita dei campioni, selezionando quelli in condizioni migliori, che sono stati poi scannerizzati prima con uno scanner a risoluzione 4800 dpi, e poi con uno scanner EPSON a risoluzione 9600 dpi.

Sono stati eseguiti diversi test sul metodo di acquisizione delle immagini; queste sono state acquisite sia a colori, sia in bianco e nero, sia in gruppo e sia singolarmente.

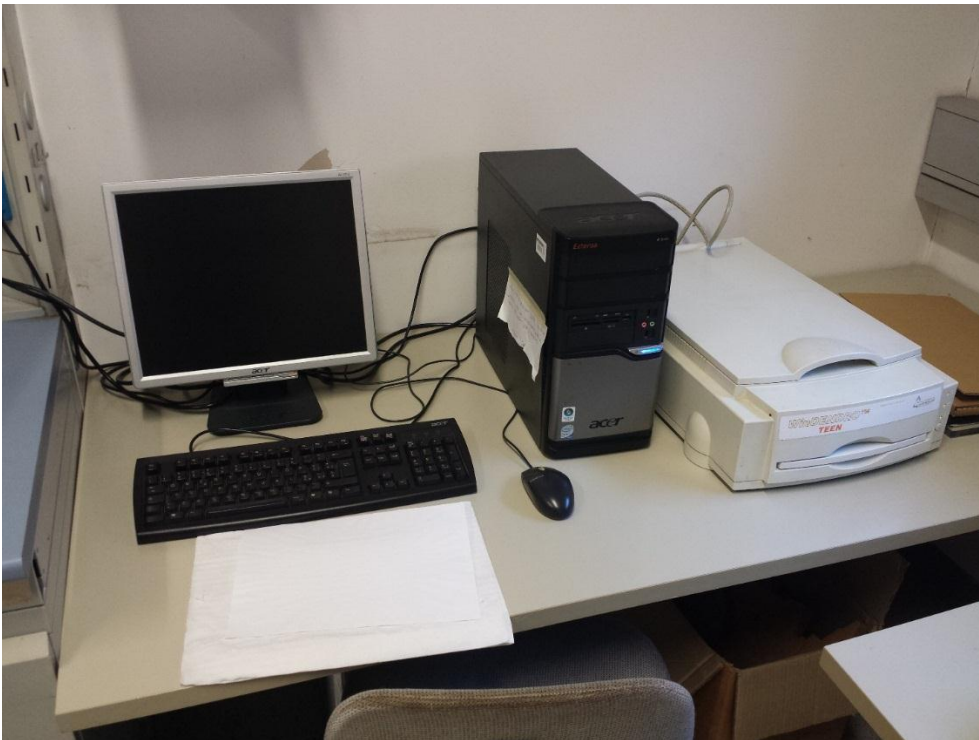


Figura 4.5: Scanner con risoluzione 4800 collegato al pc

Si è proceduto poi con l'analisi delle immagini con l'utilizzo del programma Roxas (Georg von Arks):

tale programma, sviluppato dalla WSL (*Swiss Federal Institute for Forest, Snow and Landscape Research*) ha la funzione principale di analizzare immagini di sezioni trasversali sia di conifere che di latifoglie, ricavandone una vasta quantità di dati, i più significativi dei quali sono riportati di seguito.

RA - Ring area (area dell'anello, in mm^2), ossia la superficie relativa ad ogni anello legnoso;

MRW - Mean ring width (ampiezza media dell'anello, in micrometri);

MinRW - Minimum ring width (ampiezza minima dell'anello, in micrometri), la misura dell'ampiezza nel punto più stretto dell'anello;

MaxRW - Maximum ring width (ampiezza massima dell'anello, in micrometri), la misura dell'ampiezza dell'anello nel punto più largo;

MRadDist - Mean radial distance from origin (distanza radiale media dall'origine, in micrometri), cioè quanta distanza c'è mediamente tra l'anello considerato e l'origine;

CNo - Number of cells (numero di vasi) per ogni anello;

CD - Cell density (densità dei vasi, n/mm^2) cioè il numero di vasi fratto l'area dell'anello (RA);

CTA - Cumulative area of all counted cells (area cumulata dei vasi nell'earlywood, in mm^2) cioè la somma delle superfici di ogni vaso (nell'earlywood, ossia il legno primaticcio) relativa all'anello considerato;

RCTA - Percentage of conductive area (percentuale di area conduttiva, $\text{CTA} / \text{RA} (\%)$) cioè la somma delle superfici dei vasi, fratto la superficie totale dell'anello;

MCA - Mean cell size (dimensione media del lume cellulare nell'earlywood, micrometri^2);

MinCA - Minimum cell size (dimensione minima del lume cellulare nell'earlywood, micrometri^2);

MaxCA - Maximum cell size (dimensione massima del lume cellulare nell'earlywood, micrometri^2);

Dh - Mean hydraulic diameter per ring (diametro idraulico medio per anello) ossia la media dei diametri idraulici di ogni cellula, relativa all'anello considerato; In termini matematici, viene definito come il diametro che avrebbe una sezione circolare con lo stesso rapporto tra perimetro l e sezione S : $d = 4S/l$, con S : area della sezione di passaggio, e l : perimetro bagnato dal fluido (<https://en.wikipedia.org/>)

wiki/Hydraulic_diameter).

Il programma si appoggia, per l'analisi delle immagini ad un altro strumento di elaborazione immagini, chiamato Image-Pro Plus (.Media Cybernetics). Solitamente, le immagini analizzate sono quelle ricavate da un microscopio, hanno quindi una risoluzione molto maggiore rispetto a quelle ricavate dalla scansione a 4800 dpi o a 9600 dpi.

Si è tentato comunque di analizzare queste immagini con Roxas con un metodo alternativo rispetto alla fotografia al microscopio dei campioni, o all'analisi dei campioni con il microscopio a luce trasmessa, che peraltro, richiede una riduzione in sezioni che vengono poi depositate su vetrini. L'analisi delle immagini acquisite dagli scanner era volto alla ricerca di un metodo rapido di analisi delle carote legnose a livello microscopico; si è tentato di ottenere immagini in così alta qualità da poter essere analizzate efficacemente con il software Roxas.

Purtroppo, l'esperimento con gli scanner non ha prodotto risultati soddisfacenti, in quanto Roxas non riusciva a distinguere quasi nessun vaso dalle immagini elaborate.

4.2.5 Fotografie al microscopio

Si è proceduto quindi con un'altra cernita, in modo da avere meno campioni, di ancor più alta qualità, che sono stati ulteriormente preparati presso il centro WSL di Cadenazzo (Svizzera), nel quale, grazie a un microtomo di precisione, sono stati levigati ulteriormente in modo da migliorarne il più possibile la superficie per la identificazione dei caratteri anatomici.

Degli 88 campioni raccolti in campo nella prima fase, in seguito alle selezioni, ne sono rimasti 10. Questi, sono stati fotografati con un'apposita fotocamera connessa ad un microscopio e si sono così ottenute immagini dei campioni con ingrandimento 20x. Per ogni carota sono state raccolte molte immagini, che sono state poi unificate con il programma PTGui (New House Internet Services BV, The Netherlands), in grado di creare dei "panorami" composti da più immagini in successione.

Si è poi utilizzato il programma GIMP 2 (Spencer Kimball, Peter Mattis) per l'elaborazione delle immagini con il quale si sono prima invertiti i colori, e poi si è aumentato il contrasto, abbassando contemporaneamente la luminosità delle immagini, in modo da rendere più chiari i vasi, e quindi più facilmente riconoscibili da Roxas.

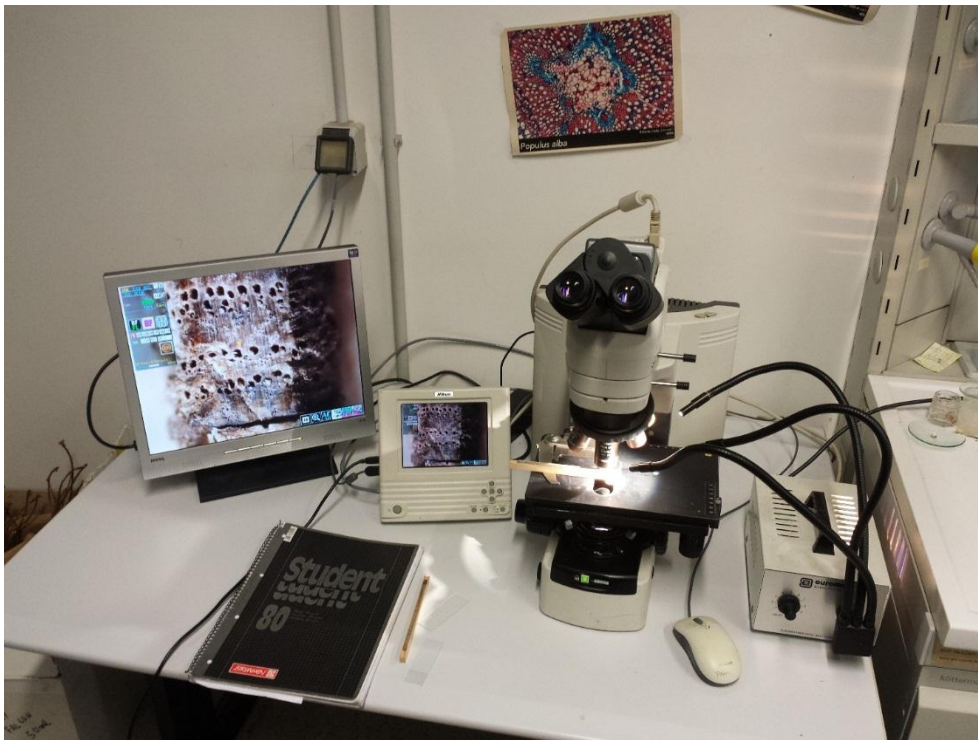


Figura 4.6: Strumentazione per la fotografia al microscopio dei campioni

Anche questo tentativo non ha dato però risultati sperati, infatti i vasi individuati, in seguito all'analisi di Roxas, non erano ancora una quantità accettabile.

Si è quindi proceduto nuovamente alla fotografia al microscopio dei campioni, questa volta però utilizzando una modalità particolare, chiamata *White balancement* ossia “bilancio dei bianchi” che permette di avere delle immagini con un contrasto maggiore rispetto ai colori reali (*Figura 4.7*).



Figura 4.7: Panorama di una carota con l'impostazione White balancement

Dopo una nuova unione delle immagini in panorami con PTGui, e diversi tentativi con GIMP 2, cambiando le impostazioni di contrasto e luminosità, si è infine giunti ad un'analisi accettabile da parte di Roxas, che riusciva in questo frangente, a individuare circa il 60% dei vasi.

Dato che il programma lavora analizzando il contrasto tra i vari elementi nelle immagini, il fatto che riuscisse ad individuarne poco più della metà di quelli presenti è legato alla presenza di un'alta quantità di tille: queste si presentano nell'immagine come macchie scure all'interno dei vasi, e non consentono al programma di distinguerli rispetto all'area circostante (*Figura 4.7*).

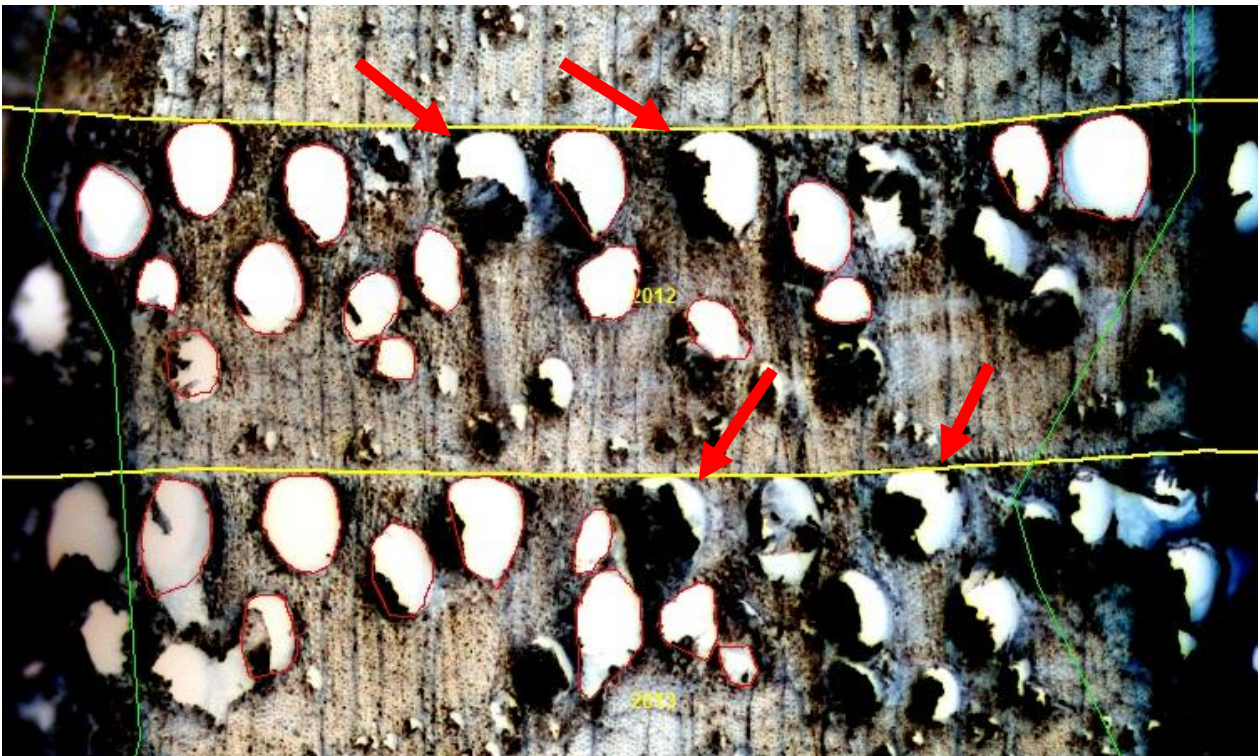


Figura 4.7: immagine elaborata automaticamente da Roxas; le linee gialle rappresentano i bordi degli anelli annuali, i vasi contornati di rosso sono quelli individuate dal programma, mentre le frecce rosse indicano alcuni tra i vasi non individuati a causa della presenza di tille.

Roxas, dopo aver analizzato il campione automaticamente, permette all'operatore di editare le immagini *post-processing* aggiungendo così i vasi mancanti e correggendo gli eventuali bordi annuali errati.

Il lavoro di editing con Roxas è basato sul tracciare una polilinea intorno al perimetro dei vasi non individuati automaticamente; esso richiede precisione da parte dell'operatore, inoltre richiede un quantitativo di tempo notevole direttamente proporzionale al numero di campioni analizzati.

La fase successiva di elaborazione dei dati, è consistita nel confrontare le curve dell'ampiezza degli anelli (MRW) misurata con TSAP e precedentemente cross-datate, con quelle ottenute con Roxas.

Per mostrare la correlazione tra i dati ottenuti, sono stati costruiti grafici con il programma

Microsoft Excel e sono stati eseguiti t test con l'ausilio del programma Past 3, un software gratuito

per l'analisi di dati scientifici, che offre diverse funzioni (ad esempio la costruzione di grafici e tabelle, l'utilizzo di una vasta gamma di test statistici ecc).

Nella fase finale di analisi dei dati, si sono costruiti dei grafici con il programma Microsoft Excel, confrontando tra tutti i campioni, e partendo dall'anno 2001 i dati riguardanti:

- Diametro idraulico medio per anello (D_h), ossia la media dei diametri idraulici di ogni singolo vaso, per anello;
- Dimensione media del lume cellulare nell'earlywood (MCA), cioè la superficie media dei vasi del legno primaticcio di ogni singolo anello;
- Dimensione minima del lume cellulare nell'earlywood (MinCA), la superficie del vaso più piccolo dell'anello (legno primaticcio);
- Dimensione massima del lume cellulare nell'earlywood (MaxCA), la superficie del vaso più grande dell'anello (legno primaticcio);
- Ampiezza media anelli (MRW);
- Area cumulata dei vasi nell'earlywood (CTA), cioè la somma di tutte le superfici di ogni vaso nel legno primaticcio dell'anello;
- Percentuale dell'area conduttiva (RCTA), ossia la superficie occupata da tutti i vasi di un determinato anello, fratto la sua superficie totale;
- Numero di vasi (CNo) in ogni anello;
- Densità dei vasi (CD), cioè il numero di vasi in un anello (nell'earlywood), fratto la sua superficie totale.

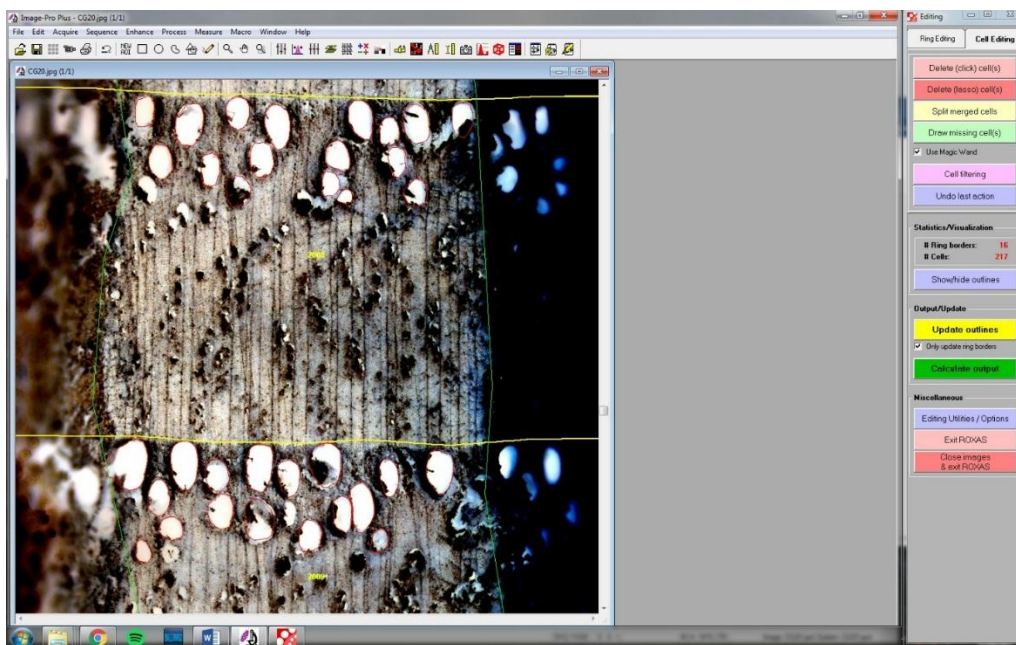


Figura 4.8: Esempio di immagine elaborata dal programma Roxas, in seguito alle modifiche manuali.

5. Risultati e discussione

5.1 Parametri ricavati dal software Roxas

Si è ritenuto opportuno riportare un'immagine analizzata con Roxas *post-processing* e *post-editing* nella quale sono stati evidenziati i vari elementi che il programma misura ed elabora.

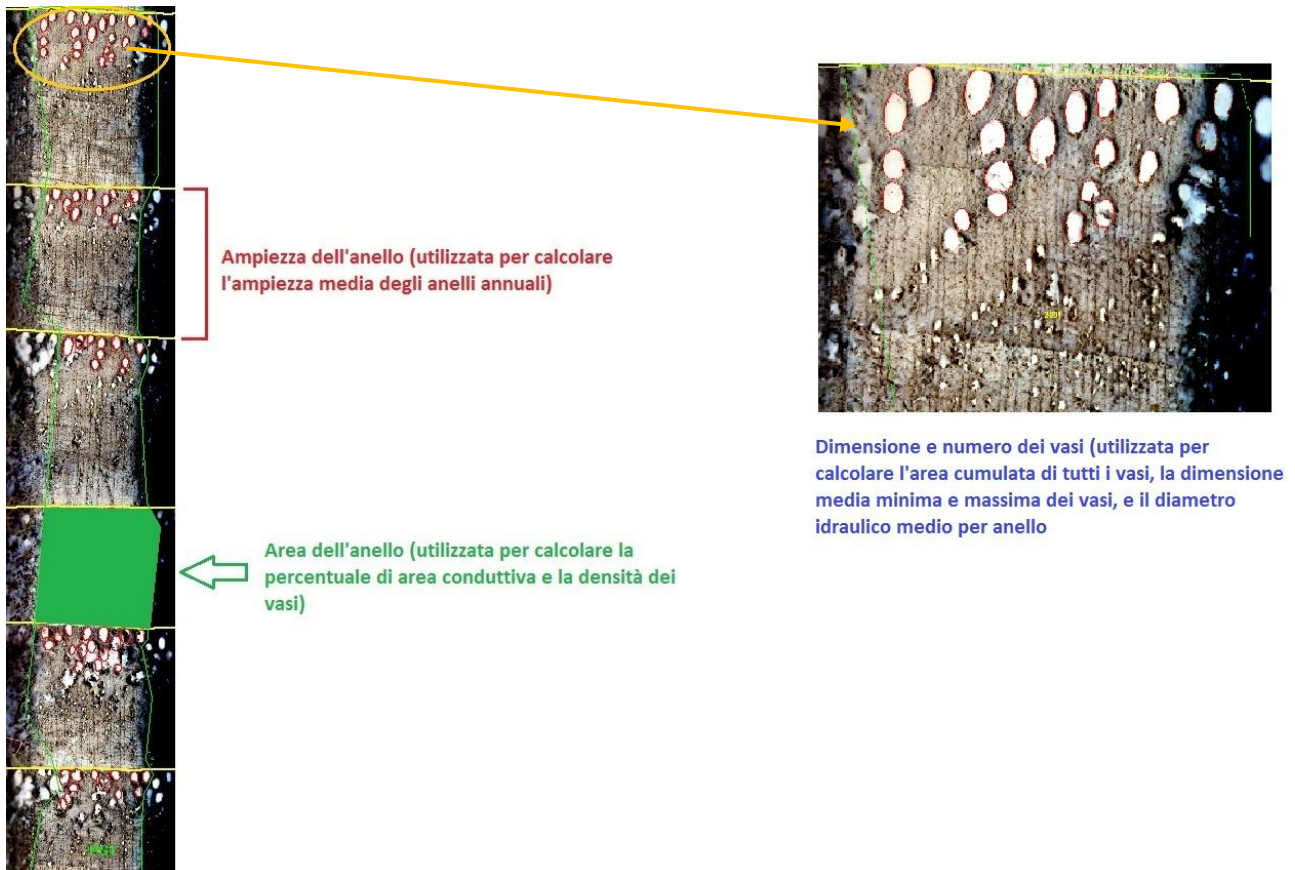


Figura 5.1: spiegazione dei vari elementi individuati da Roxas e dai quali il software calcola i parametri.

Nell'immagine sulla destra si può notare come solo i vasi più grandi (appartenenti all'earlywood) siano stati analizzati, quelli cioè impiegati dalle piante per trasportare le sostanze nutritive all'apparato fogliare. I vasi più piccoli appartenenti al tessuto meccanico, non sono state interessati da analisi.

Si è scelto come criterio di selezione che le superfici dei vasi fossero di almeno 1000 micrometri² (0.001 mm²).

5.2 Elaborazione dei dati meteorologici

Per comprendere le cause di variazione degli accrescimenti cellulari del legno di castagno, si sono confrontati i parametri ottenuti con Roxas, con i dati meteorologici delle due stazioni di Teolo (PD) e Valdobbiadene (TV).

A questo scopo, i dati meteo sono stati rielaborati e si è cercato di individuare, nel corso del quinquennio 2000-2014 gli anni nei quali ci sono state situazioni climatiche particolari, che potrebbero aver influito sugli accrescimenti legnosi, in particolare si è tenuto conto delle precipitazioni nel periodo vegetativo (marzo-ottobre).

Il fine ultimo del confronto era verificare se eventuali variazioni nella struttura cellulare legnosa degli ultimi anni, ossia dall'arrivo di *Dryocosmus kuriphilus* fossero causate dall'insetto stesso o da situazioni meteorologiche non ordinarie.

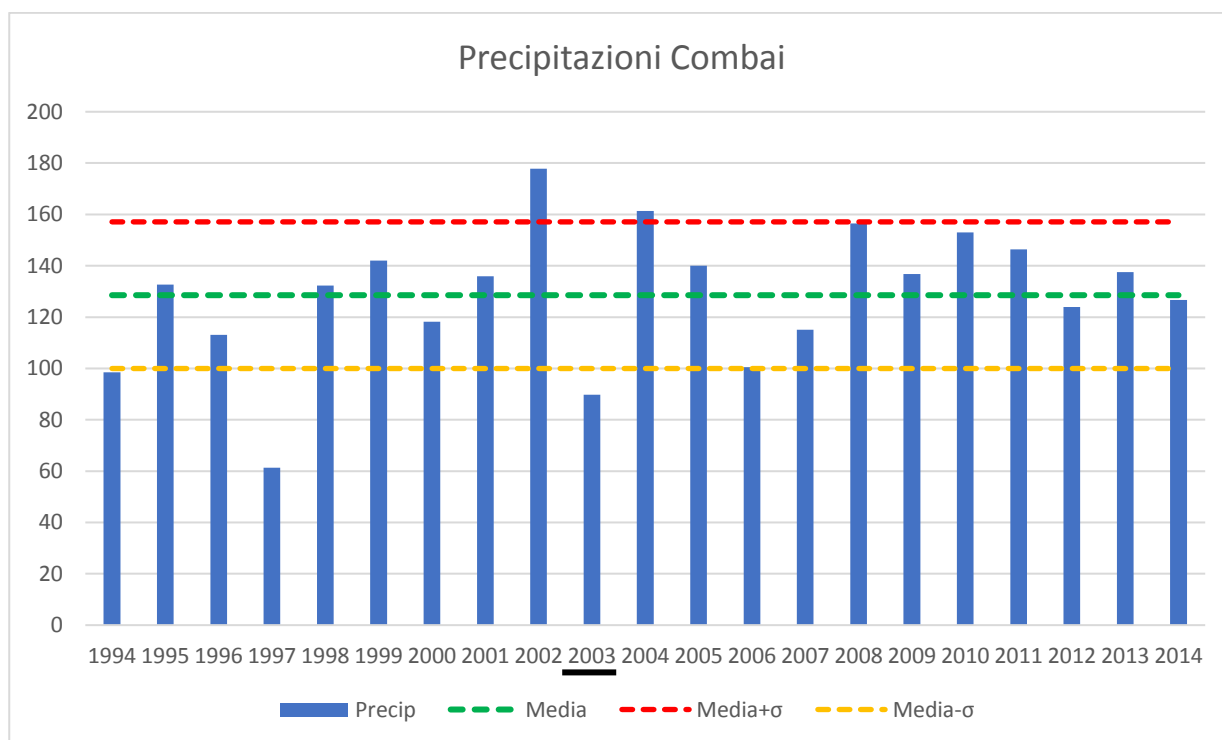


Figura 5.2: Istogramma delle precipitazioni medie mensili nel periodo vegetativo (marzo-ottobre) relative agli anni 1994-2014 a Combai. L'istogramma blu rappresenta le precipitazioni in mm, la linea verde rappresenta la media delle precipitazioni del quinquennio, la linea rossa la media più la deviazione standard, la gialla la media meno la deviazione standard. La sottolineatura nera indica gli anni siccitosi nel periodo 2000-2014.

La media delle precipitazioni medie mensili nel periodo vegetativo (marzo-ottobre) nel ventennio 1994-2014 a Combai è risultata essere 128.53 mm, mentre la deviazione standard (σ) è risultata essere 28.57 mm.

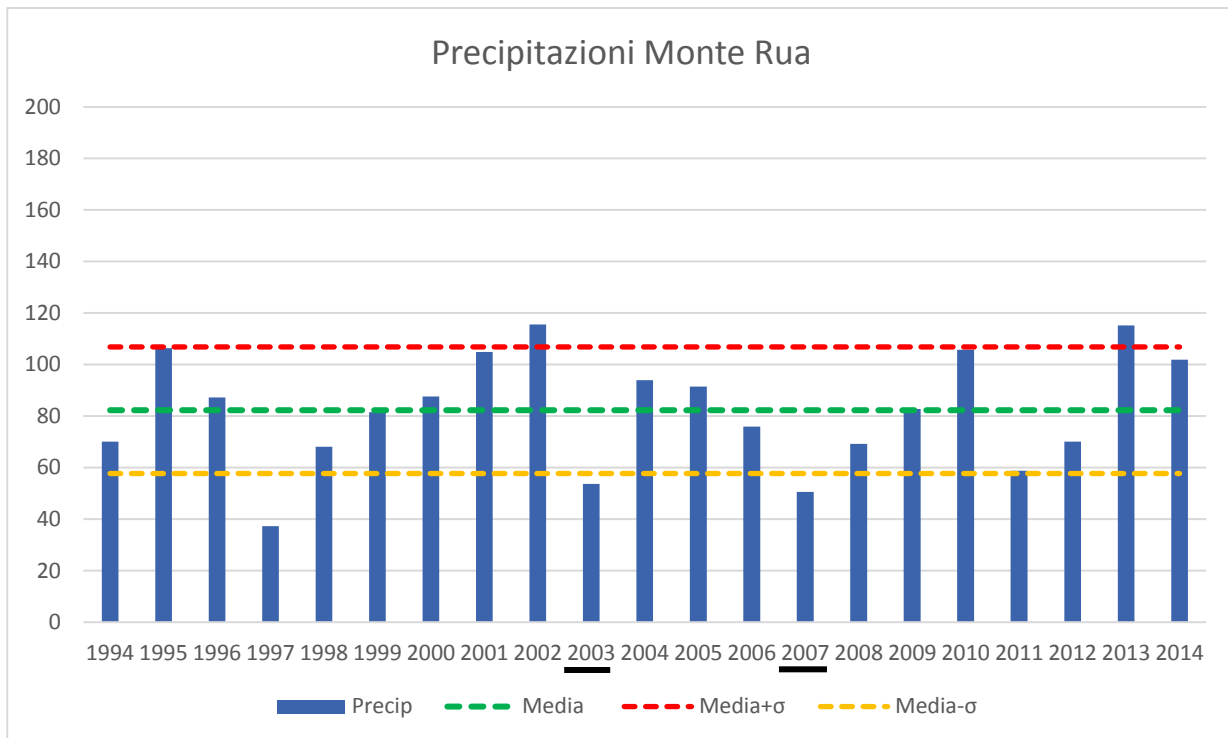


Figura 5.3: Istogramma delle precipitazioni medie mensili nel periodo vegetativo (marzo-ottobre) relative agli anni 1994-2014 a Monte Rua. L'istogramma blu rappresenta le precipitazioni in mm, la linea verde rappresenta la media delle precipitazioni mensili del periodo, la linea rossa la media più la deviazione standard, la gialla la media meno la deviazione standard. La sottolineatura nera indica gli anni siccitosi nel periodo 2000-2014.

La media delle precipitazioni mensili nel periodo vegetativo (marzo-ottobre) del ventennio 1994-2014 a Monte Rua è risultata essere 82.28 mm, mentre la deviazione standard (σ) è risultata essere 24.57 mm.

I dati relativi alle precipitazioni sono stati plottati in un grafico a istogramma (Figura 5.2 e Figura 5.3) e si è proceduto con il calcolo della media e della deviazione standard delle precipitazioni relative all'ultimo ventennio.

Da questa media (rappresentata con una linea verde nei grafici) si sono ricavate altre due linee: la superiore aggiungendo alla media la deviazione standard; l'inferiore togliendo alla media la deviazione standard.

Queste linee hanno fornito il criterio per dire se un anno era ordinario a livello di precipitazioni (nel caso in cui l'istogramma ricada all'interno dell'intervallo tra le due linee esterne) o straordinario (se l'istogramma ricade all'esterno dell'intervallo tra le due linee, ossia nel caso in cui il valore di precipitazioni sia superiore alla media più la deviazione standard o sia inferiore alla media meno la deviazione standard).

Si è scelto quindi di sottolineare gli anni siccitosi nell'ultimo quinquennio 2000-2014, ossia quelli in cui le precipitazioni medie durante il periodo vegetativo sono al di sotto della media di almeno una deviazione standard e nei quali le piante possano essere state soggette a stress idrico.

Gli stessi anni sono stati poi segnalati con delle forme rosse nei grafici relativi ai parametri calcolati con Roxas, e sono stati poi discussi.

5.3 Ampiezza media degli anelli (MRW)

- COMBAI

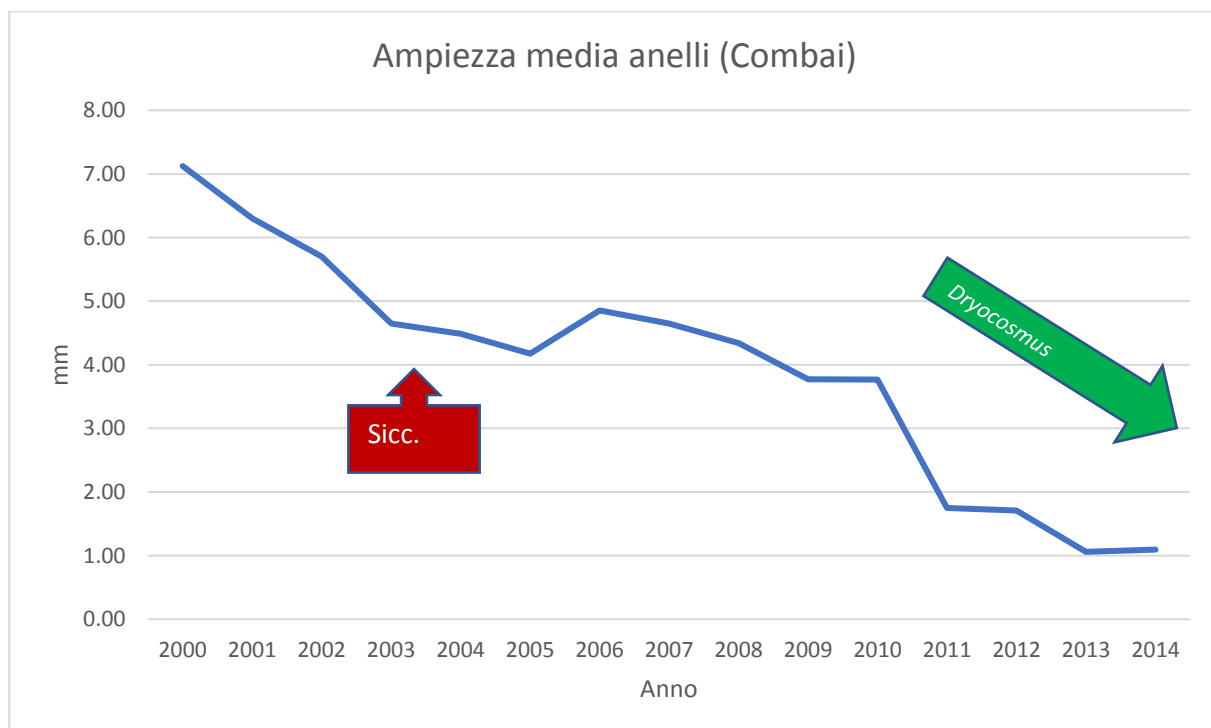


Figura 5.4: Ampiezza media degli anelli (MRW) espressa in mm relativa agli anni 2000-2014 nel sito di Combai. Le forme rosse stanno ad indicare gli anni siccitosi (Sicc.) mentre la freccia verde l'arrivo del cinipide (*Dryocosmus*).

Il grafico presenta un picco negativo significativo fondamentale, nell'anno 2011 dopo l'arrivo del *Dryocosmus kuriphilus*. In corrispondenza del 2003, si nota un calo rispetto all'anno precedente. L'accrescimento periodico medio a Combai è di 3.96 mm annui (con deviazione standard pari a 1.84 mm).

• MONTE RUA

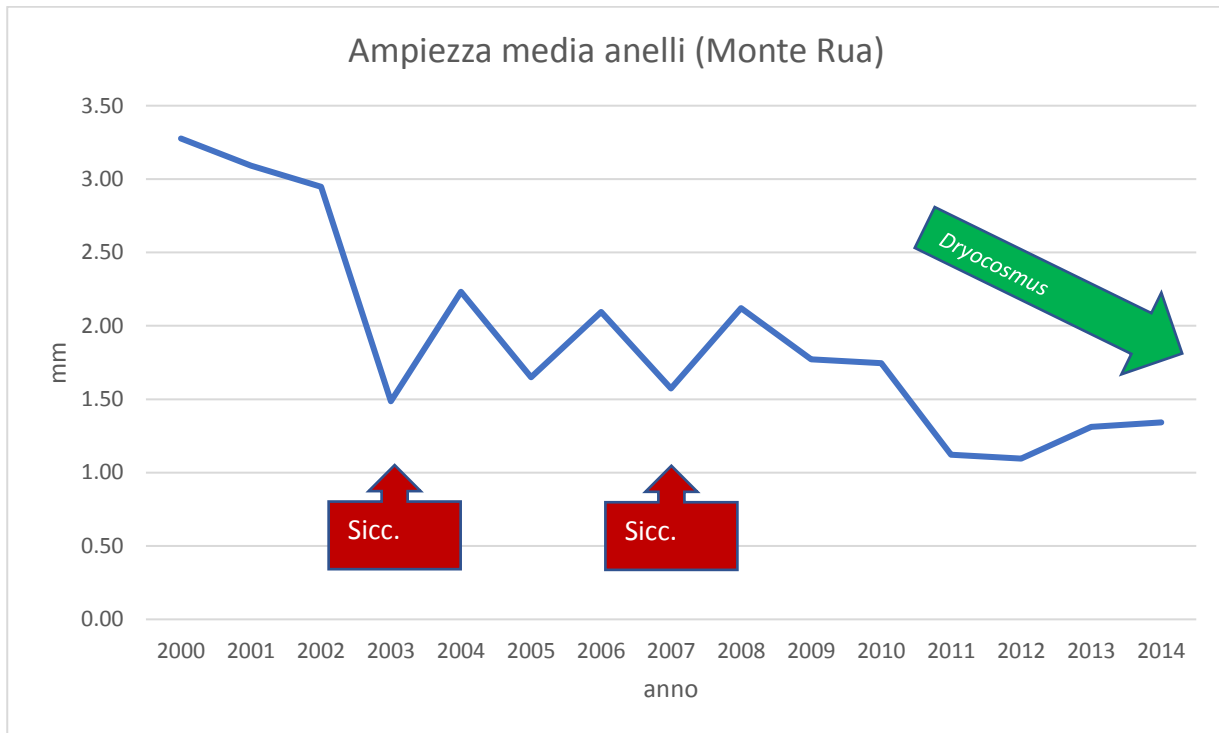


Figura 5.5: Ampiezza media degli anelli (MRW) espressa in mm relativa agli anni 2000-2014 nel sito di Monte Rua. Le forme rosse stanno ad indicare gli anni siccitosi (Sicc.) mentre la freccia verde l'arrivo del cinipide (*Dryocosmus*).

In questo grafico si possono notare diversi picchi negativi:

- nell'anno 2003 (anno siccitoso);
- nell'anno 2005;
- nell'anno 2007 (altro anno siccitoso);
- nel 2011 (dopo l'arrivo del cinipide).

Si può vedere come negli anni successivi all'arrivo del *Dryocosmus* i valori restino tendenzialmente stazionari.

L'accrescimento periodico medio a Monte Rua è di 1.92 mm annui (con deviazione standard pari a 0.70 mm).

In entrambi i grafici si denota una tendente diminuzione dell'ampiezza degli anelli legnosi con l'aumento dell'età delle piante.

L'accrescimento diametrico annuo è influenzato sia dalle condizioni ambientali che dall'età e dai processi fisiologici e genetici che ne conseguono. Un albero giovane cresce in genere più rapidamente formando anelli più grandi rispetto a un albero vecchio, per cui si assiste in genere a un trend di decremento dello spessore degli anelli con l'aumentare dell'età.

Si può notare come in entrambi i siti in seguito all'arrivo del *Dryocosmus* vi sia un calo nell'ampiezza media degli anelli. Dopo il calo iniziale, questo parametro continua a rimanere tendenzialmente costante anche negli anni successivi.

Dai dati meteo riguardanti gli anni 2009-2014 non si notano anni con caratteristiche meteorologiche straordinarie, dato che i valori di precipitazioni e temperatura non si discostano di più di una grandezza dalla deviazione standard (secondo il criterio scelto); si può quindi evincere che la perdita in termini di larghezza media degli anelli, in quel periodo, sia dovuta alla colonizzazione di *Dryocosmus* che causando anomalie all'apparato fotosintetico delle piante, le ha portate in uno stato di stress, a causa del quale hanno prodotto meno tessuto legnoso.

La perdita in termini di ampiezza media degli anelli da prima a dopo l'arrivo del cinipide è stata quantificata in percentuale ed è stata riportata nella *Figura 5.6* e nella *Figura 5.7*.

COMBAI						
2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
4.34	3.77	3.77	1.75	1.71	1.06	1.09
3.96			1.40			
PERDITA % DA PRIMA A DOPO IL CINIPIDE = 64.65%						

Figura 5.6: Tabella che riporta i dati relativi all'ampiezza media degli anelli (Combai). La prima riga riporta l'anno, la seconda i dati annui di ampiezza media degli anelli, la terza riga le medie prima e dopo il cinipide, la quarta riporta il valore % di perdita da prima a dopo il cinipide.

MONTE RUA						
2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
2.12	1.77	1.74	1.12	1.10	1.31	1.34
1.88			1.22			
PERDITA % DA PRIMA A DOPO IL CINIPIDE = 35.11%						

Figura 5.7: Tabella che riporta i dati relativi all'ampiezza media degli anelli (Monte Rua). La prima riga riporta l'anno, la seconda i dati annui di ampiezza media degli anelli, la terza riga le medie prima e dopo il cinipide, la quarta riporta il valore % di perdita da prima a dopo il cinipide.

La perdita percentuale in entrambi i siti da prima a dopo il cinipide è considerevole, e va dal 35% nel sito di Monte Rua al 65% nel sito di Combai.

Il perché i due siti presentino valori così lontani tra loro può essere legato al fatto che i campioni analizzati, in seguito alle selezioni, erano pochi (5 per sito), inoltre quelli di Combai provenivano più da piante giovani che mature, mentre quelli di Monte Rua più da piante mature che da piante giovani.

Le due aree di studio si trovano inoltre in zone con climi differenti: le precipitazioni medie annue nel periodo vegetativo (marzo-ottobre) a Monte Rua sono pari a 82,28 mm mentre a Combai sono pari a 128.53mm; piante della stessa specie, poste su zone con caratteristiche climatiche diverse presentano accrescimenti che possono essere diversi, come in questo caso.

L'accrescimento periodico medio a Combai ad esempio è di 3.96 micrometri annui (con deviazione standard pari a 1.84 micrometri), mentre quello di Monte Rua è di 1.92 micrometri annui (con deviazione standard pari a 0.70 micrometri).

Inoltre, sarebbe più opportuno confrontare gli accrescimenti legnosi parlando non di ampiezza media degli anelli, ma di incremento di area basimetrica visto che presenta il vantaggio, rispetto alle ampiezze anulari, di essere meno dipendente dalle dimensioni e dall'età delle piante (Biondi F. & Qeadan F., 2008).

Per questo lavoro si è preferito riferirsi ai puri dati ottenuti con Roxas. Questi dati hanno portato ad affermare che l'arrivo del *Dryocosmus* ha contribuito ad una notevole perdita per quanto riguarda la crescita legnosa (in termini di ampiezza media degli anelli) confermando la conclusione alla quale è giunto (Battoni, 2014) analizzando gli incrementi in area basimetrica su un numero di campioni molto più ampio.

5.4 Numero dei vasi (CNo)

- COMBAI

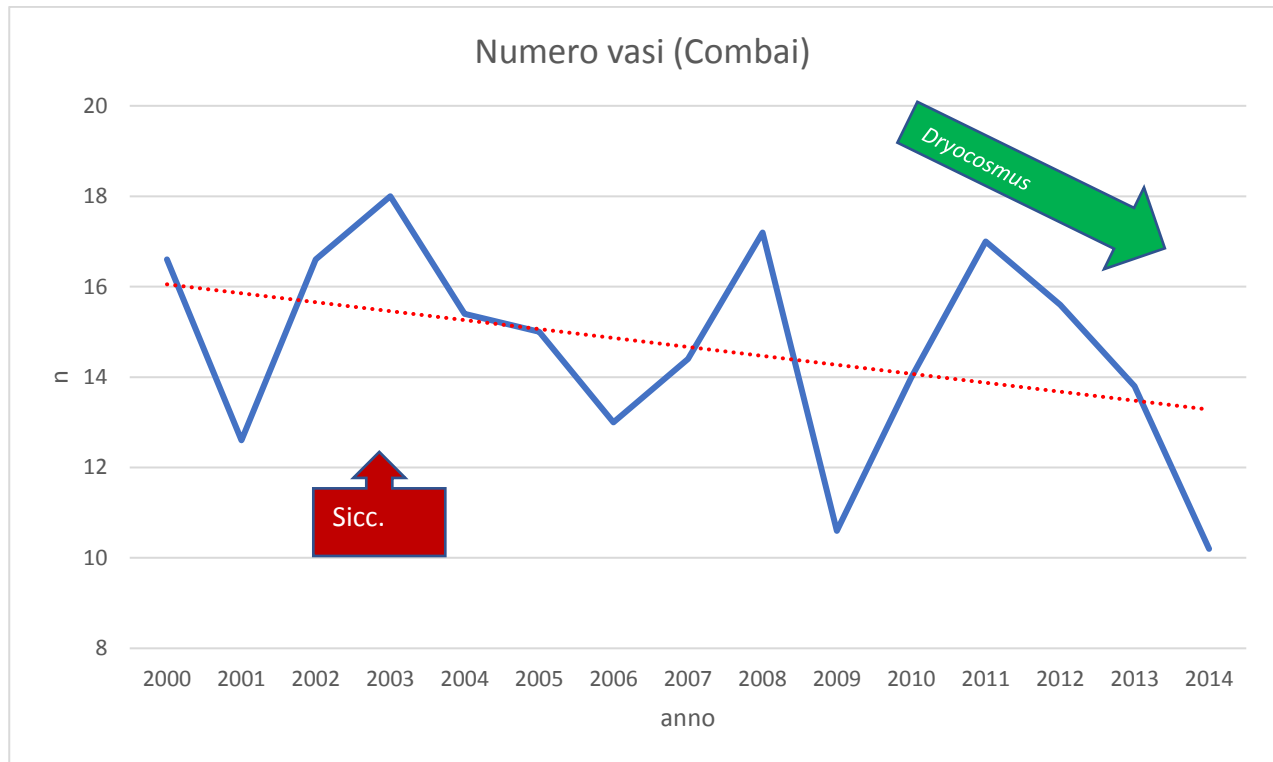


Figura 5.8: media tra il numero di vasi dell'earlywood misurati per campione (CNo, cell number), relativa ad ogni anno (2000-2014) nel sito di Combai. Le forme rosse stanno ad indicare gli anni siccitosi (Sicc.) mentre la freccia verde l'arrivo del cinipide (*Dryocosmus*). La linea rossa tratteggiata rappresenta la linea di tendenza lineare ($R^2 = 0.1428$)

Nell'anno siccitoso 2003 il numero di vasi raggiunge l'apice, per poi decrescere ancora fino al 2006, dal quale avviene una ulteriore crescita che culmina nel 2008. Nel 2009 (anno dell'arrivo del cinipide) il numero di vasi raggiunge un picco negativo, seguito da una rapida crescita nei due anni successivi, che torna poi a calare e raggiunge il valore minimo nell'anno 2014.

La media di CNo relativa a Combai è 14.67 (con deviazione standard di 2.34).

- MONTE RUA

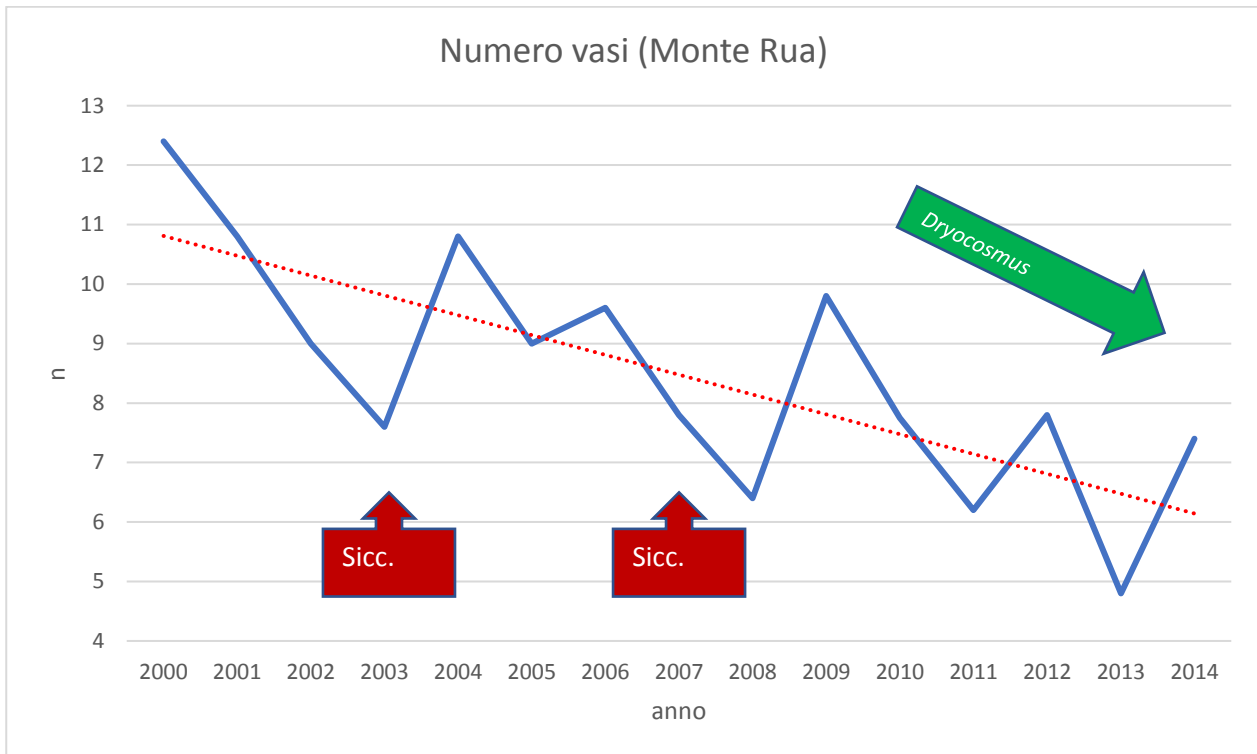


Figura 5.9 media tra il numero di vasi dell'earlywood misurati per campione (CNo, cell number), relativa ad ogni anno (2000-2014) nel sito di Monte Rua. Le forme rosse stanno ad indicare gli anni siccitosi (Sicc.) mentre la freccia verde l'arrivo del cinipide (*Dryocosmus*). La linea rossa tratteggiata rappresenta la linea di tendenza lineare ($R^2 = 0.5657$).

Nell'anno siccitoso 2003 si ha un picco negativo per quanto riguarda il numero di vasi, che torna poi ad aumentare per poi decrescere nell'anno siccitoso 2007. Dopo l'arrivo del cinipide nel 2008 il numero di vasi assume un picco positivo, per poi decrescere e ritornare a seguire la linea di tendenza lineare.

La media di CNo relativa a Monte Rua è di 8.48 (con deviazione standard di 2.00).

Si nota una tendente diminuzione del numero dei vasi all'aumentare dell'età delle piante in entrambi i siti, probabilmente per motivi fisiologici: all'aumentare dell'età e quindi dell'area relativa ad ogni anello, la pianta tende a diminuire la densità dei vasi, che vengono distribuiti nella superficie via via più ampia.

Il grafico più interessante è quello relativo a Combai, nel quale si nota un brusco picco negativo in corrispondenza dell'arrivo del cinipide, seguito poi da un drastico aumento nel numero di vasi negli anni successivi. Anche nel grafico relativo a Monte Rua si può notare un calo improvviso nel numero di vasi in corrispondenza dell'arrivo di *Dryocosmus*, in seguito al quale il grafico presenta un picco per poi ritornare a seguire il normale trend. Il picco positivo nel numero di vasi presente

dopo l'arrivo del cinipide nei due siti, potrebbe significare che come risposta allo stress, le piante abbiano eseguito più di una fogliazione per periodo vegetativo.

5.5 Densità dei vasi (CD)

- COMBAI

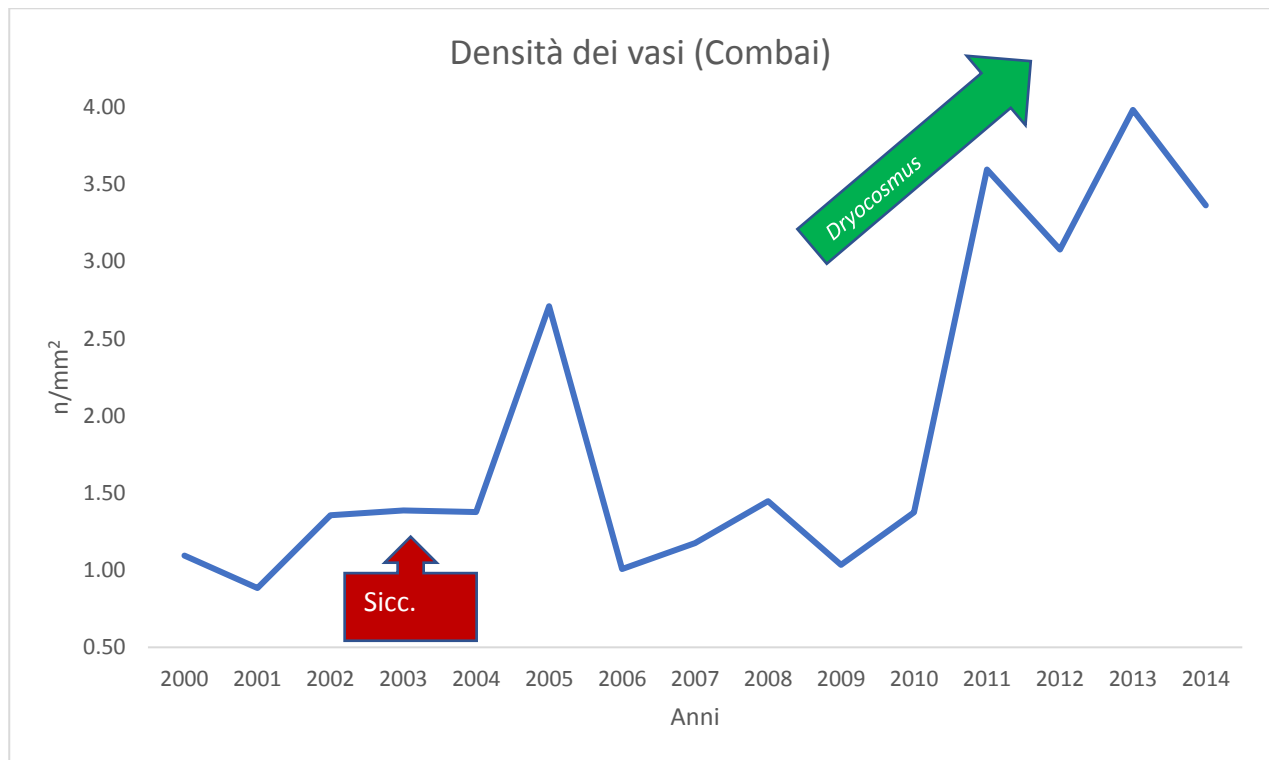


Figura 5.10: media di densità dei vasi (CD, cell density) per ogni anno (2000-2014) nel sito di Combai. Le forme rosse stanno ad indicare gli anni siccitosi (Sicc.) mentre la freccia verde l'arrivo del cinipide (Dryocosmus).

Nella figura si nota un picco corrispondente all'anno 2005, a seguito del quale la densità torna ad assumere valori simili agli anni precedenti, fino ad arrivare al 2009, anno dell'arrivo del cinipide, in seguito al quale si ha una repentina crescita della curva che culmina all'anno 2011, per poi mantenere valori comunque alti rispetto al periodo precedente. In questo caso, nel 2003, anno siccitoso, non si notano valori straordinari.

La media di CD relativa a Combai è di 1.92 vasi per mm² (con deviazione standard di 1.08 vasi per mm²).

- MONTE RUA

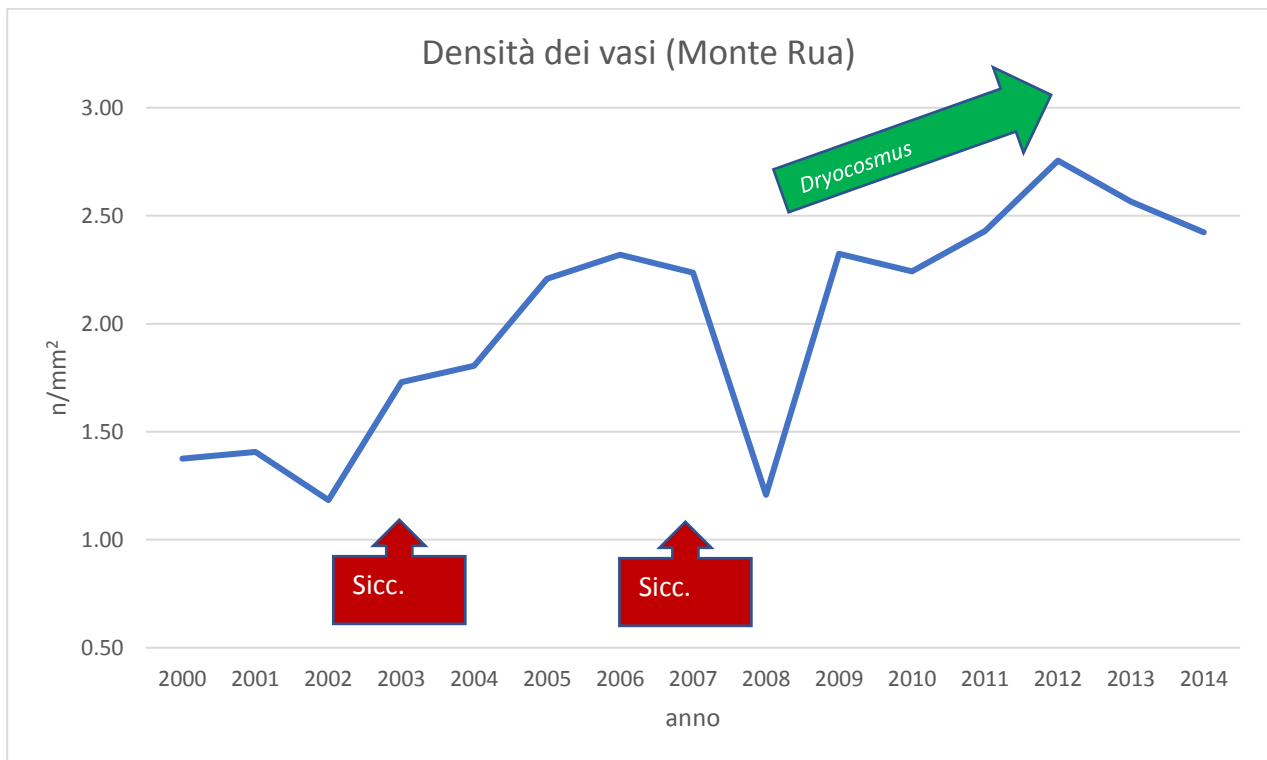


Figura 5.11: media di densità dei vasi (CD, cell density) per ogni anno (2000-2014) nel sito di Monte Rua. Le forme rosse stanno ad indicare gli anni siccitosi (Sicc.) mentre la freccia verde l'arrivo del cinipide (*Dryocosmus*).

Il grafico mostra una tendente crescere col passare degli anni; l'unico evento degno di nota è il picco negativo nell'anno 2008 (arrivo di *Dryocosmus*) e il successivo picco positivo, seguito poi da un aumento nel valore di densità negli anni successivi, che culmina nell'anno 2012.

La media di CD relativa a Monte Rua è di 2.01 vasi per mm² (con deviazione standard di 0.52 vasi per mm²).

La densità dei vasi (CD) mette in relazione il numero di vasi di conduzione prodotti dalla pianta, con la superficie di legno annuale prodotta; più alta è la CD, più vasi sono stati prodotti, a parità di superficie. Va da sé che se la superficie diminuisce, ma il numero di vasi rimane costante, si ha comunque un aumento del valore di CD.

L'aumento drastico della densità dei vasi nel sito di Combai successivo all'attacco del cinipide potrebbe indicare come le piante, conseguentemente al danno alla chioma (paragonabile a una defogliazione) abbiano agito investendo le risorse per la creazione di un nuovo apparato fogliare, invece che per la creazione di tessuto meccanico o di riserva.

Un drastico calo nella densità dei vasi seguito nell'anno successivo da un rapido incremento si nota anche nel grafico relativo a Monte Rua, proprio nell'anno di arrivo del cinipide (2008). Anche in

questo caso negli ultimi anni si può notare come la densità sia maggiore rispetto al periodo precedente l'arrivo del *Dryocosmus*.

5.6 Media del lume cellulare nell'earlywood (MCA)

- COMBAI

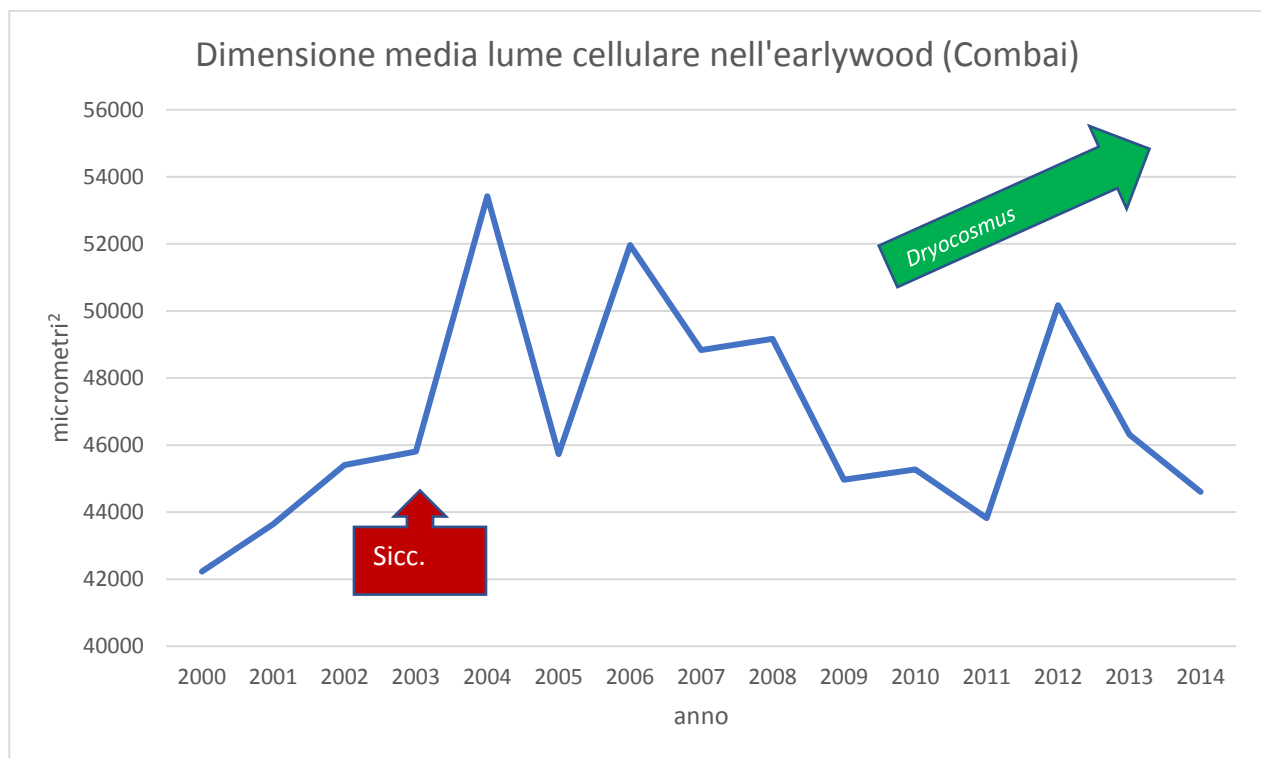


Figura 5.12: media del lume cellulare nell'earlywood (MCA) per ogni anno (2000-2014) nel sito di Combai. Le forme rosse stanno ad indicare gli anni siccitosi (Sicc.) mentre la freccia verde l'arrivo del cinipide (*Dryocosmus*).

Il grafico relativo alla dimensione media del lume cellulare nel sito di Combai mostra vari picchi, successivi all'anno 2003: un picco positivo al 2004, uno negativo al 2005, un altro positivo al 2006. In seguito all'anno 2006 il grafico tende a decrescere fino al 2011, per poi avere un altro picco nel 2012 e decrescere nuovamente negli ultimi 2 anni. L'anno siccitoso 2003 non mostra di per se caratteristiche particolari, ma si può notare come l'anno successivo (2004) presenti un picco positivo.

La media di MCA relativa a Combai è di 46756 micrometri² (con deviazione standard di 3231 micrometri²).

- MONTE RUA

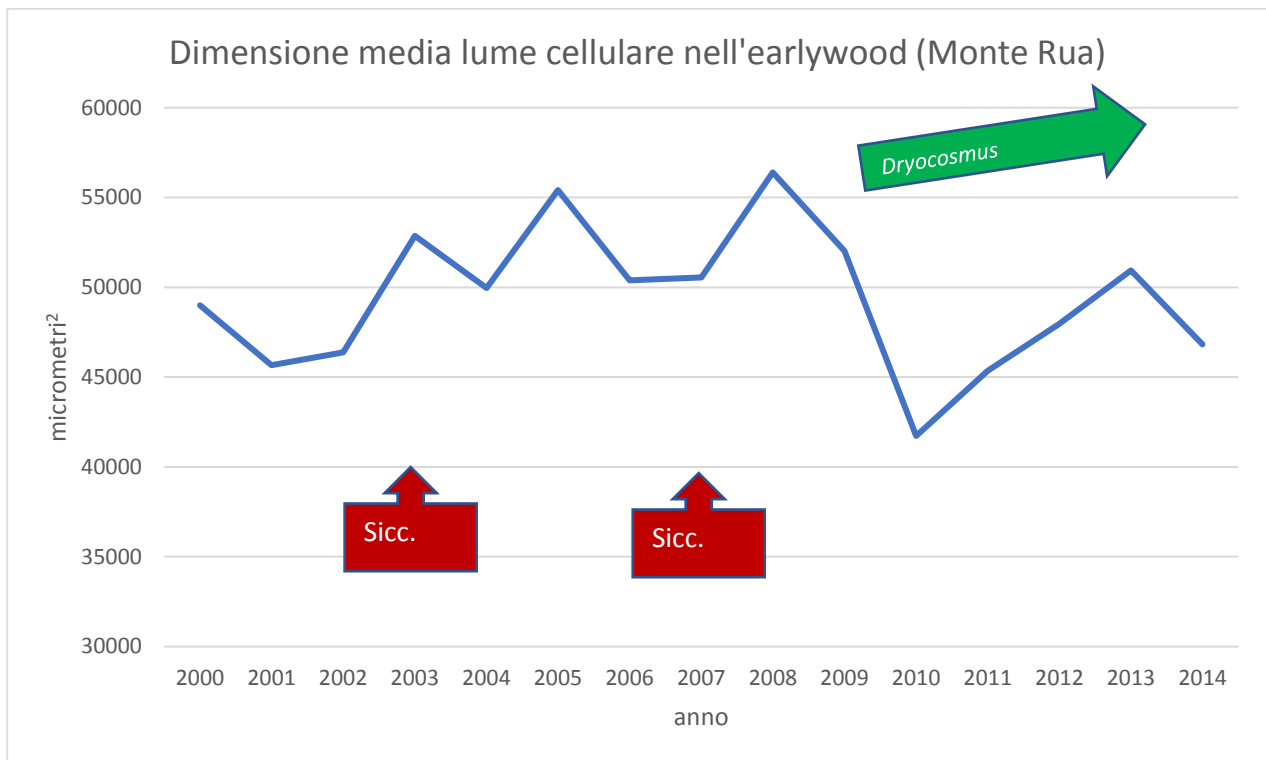


Figura 5.13: media del lume cellulare nell'earlywood (MCA) per ogni anno (2000-2014) nel sito di Monte Rua. Le forme rosse stanno ad indicare gli anni siccitosi (Sicc.) mentre la freccia verde l'arrivo del cinipide (*Dryocosmus*).

A partire dall'anno 2002 abbiamo una serie di picchi più o meno accentuati: nel 2003 (siccitoso) nel 2005 e nel 2008. In seguito all'anno 2008 (arrivo *Dryocosmus*) si nota una repentina decrescita del parametro che raggiunge il valore più basso del quinquennio nell'anno 2010, per poi tornare a crescere.

La media di MCA relativa a Monte Rua è di 49430 micrometri² (con deviazione standard di 3932 micrometri²).

Ciò che accomuna i due grafici è una progressiva decrescita in seguito all'arrivo del cinipide (2009 Combai, 2008 Monte Rua), che culmina in entrambi i casi con un picco negativo due anni dopo. In seguito a questo picco, nel pieno dell'attacco di *Dryocosmus*, la dimensione media dei vasi ricomincia a crescere.

Per quanto riguarda gli anni siccitosi, in seguito al 2003 a Combai e al 2007 a Monte Rua, la dimensione media dei vasi tende a crescere repentinamente, per poi riabbassarsi e tornare a seguire il trend che aveva precedentemente a questi anni di stress.

Ciò potrebbe significare che le piante colpite da uno stress, tendano a produrre prima vasi più piccoli rispetto alla media, e poi l'anno successivo cerchino di produrre vasi più grandi per compensare al danno.

5.7 Area cumulata dei vasi nell'earlywood (CTA)

- COMBAI

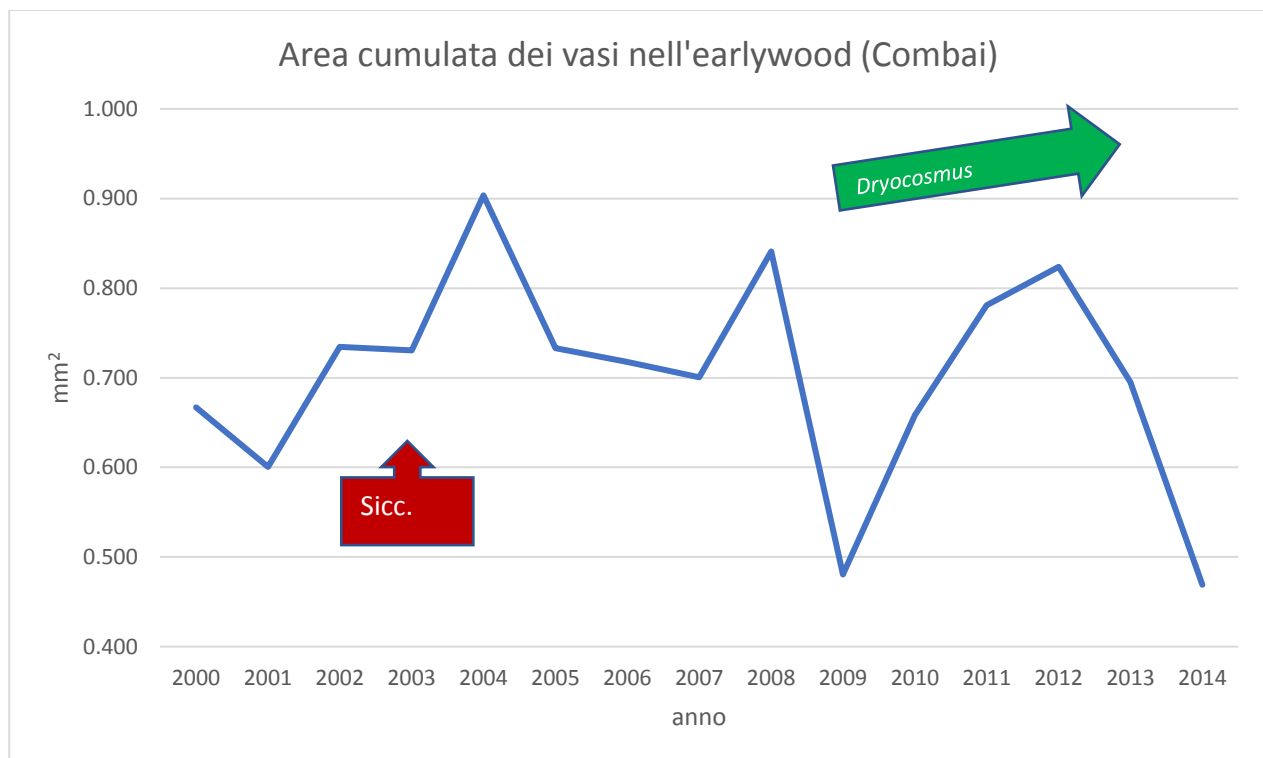


Figura 5.14: media dell'area cumulata dei vasi nell'earlywood (CTA) di ogni campione relativa ad ogni anno (2000-2014) nel sito di Combai. Le forme rosse stanno ad indicare gli anni siccitosi (Sicc.) mentre la freccia verde l'arrivo del cinipide (*Dryocosmus*).

In seguito all'anno siccitoso 2003, abbiamo un leggero picco. Un altro picco positivo è individuabile in corrispondenza dell'anno 2008, in seguito al quale il valore del parametro assume un picco negativo (anno 2009, arrivo del cinipide). Negli anni successivi all'arrivo del cinipide, il valore del parametro si innalza repentinamente, per poi culminare nel 2012, anno dopo il quale decresce rapidamente.

La media di CTA relativa a Combai è di 0.70 mm^2 (con deviazione standard di 0.12 mm^2).

- MONTE RUA

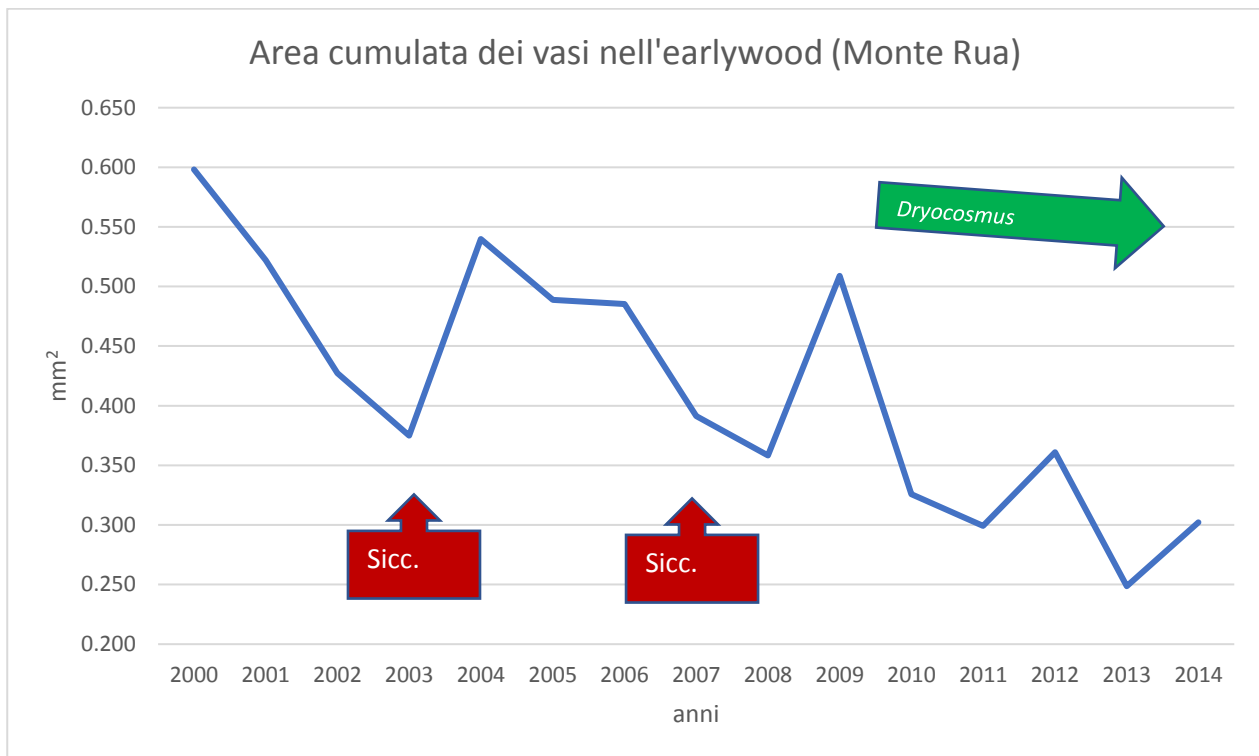


Figura 5.15: media dell'area cumulata dei vasi nell'earlywood (CTA) di ogni campione relativa ad ogni anno (2000-2014) nel sito di Monte Rua. Le forme rosse stanno ad indicare gli anni siccitosi (Sicc.) mentre la freccia verde l'arrivo del cinipide (*Dryocosmus*).

Il grafico mostra come, in questo caso, il valore tenda a decrescere con il passare degli anni.

Si nota come in corrispondenza dell'anno siccitoso 2003 e dell'arrivo del cinipide (2008) vi sia una ripida decrescita del parametro, seguita l'anno successivo da un picco positivo.

In corrispondenza dell'anno siccitoso 2007 si nota una diminuzione del valore rispetto all'anno precedente.

La media di CTA relativa a Monte Rua è di 0.42 mm² (con deviazione standard di 0.10 mm²).

L'area cumulativa di tutte le cellule è direttamente proporzionale alla superficie della chioma: più foglie avranno bisogno di più sostanze nutritive per essere mantenute.

Analizzando questo grafico si potrebbe avanzare l'ipotesi che nel periodo seguente al cinipide le piante possano aver eseguito più di una fogliazione nello stesso anno.

5.8 Percentuale dell'area conduttiva (RCTA)

- COMBAI

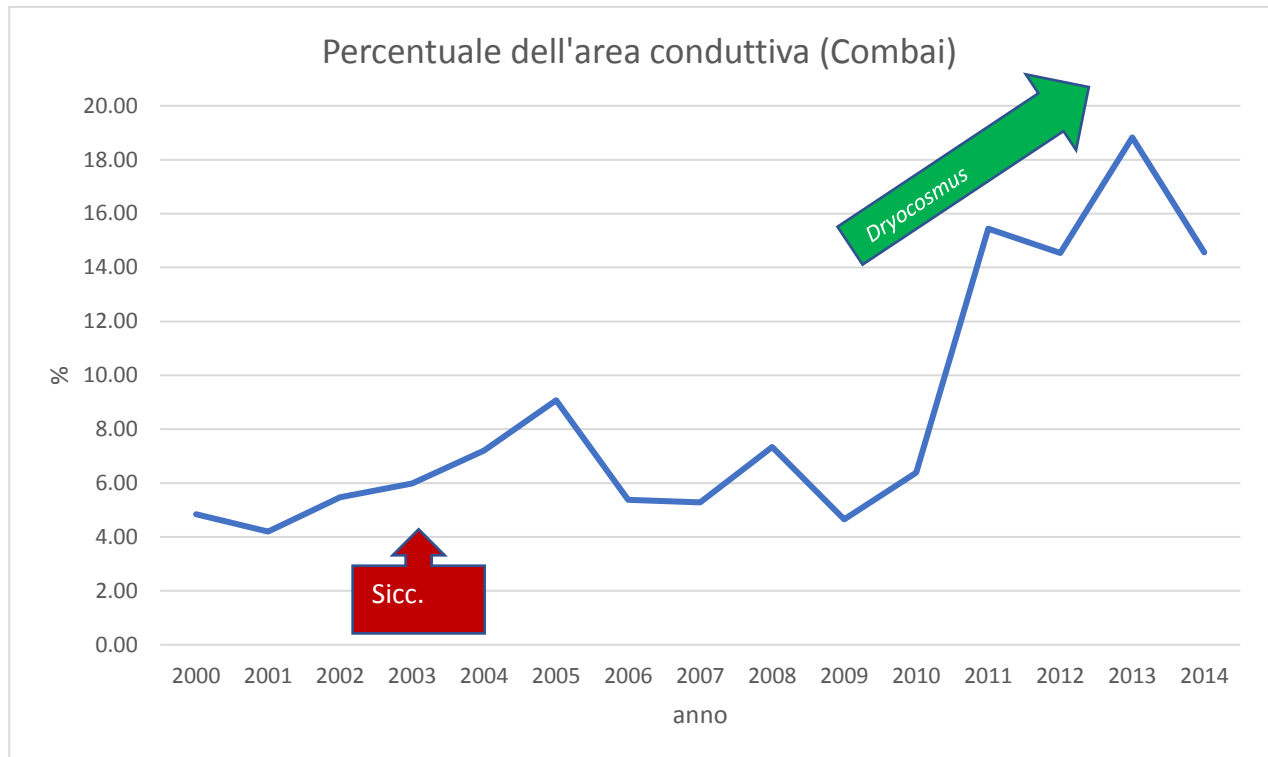


Figura 5.16: media della percentuale di area conduttiva (RCTA, percentage of conductive area), per ogni anno (2000-2014) nel sito di Combai. Le forme rosse stanno ad indicare gli anni siccitosi (Sicc.) mentre la freccia verde l'arrivo del cinipide (*Dryocosmus*).

Il grafico presenta una tendenza ad oscillare attorno ad un valore medio, tendenza che però sparisce dall'anno 2010 (attacco del cinipide), in seguito al quale vi è una repentina crescita dei valori che rimane sempre elevata nel corso degli ultimi anni. In corrispondenza dell'anno siccitoso 2003 non si notano picchi significativi.

La media di RCTA relativa a Combai è di 8.71% (con deviazione standard di 4.77 %).

- MONTE RUA

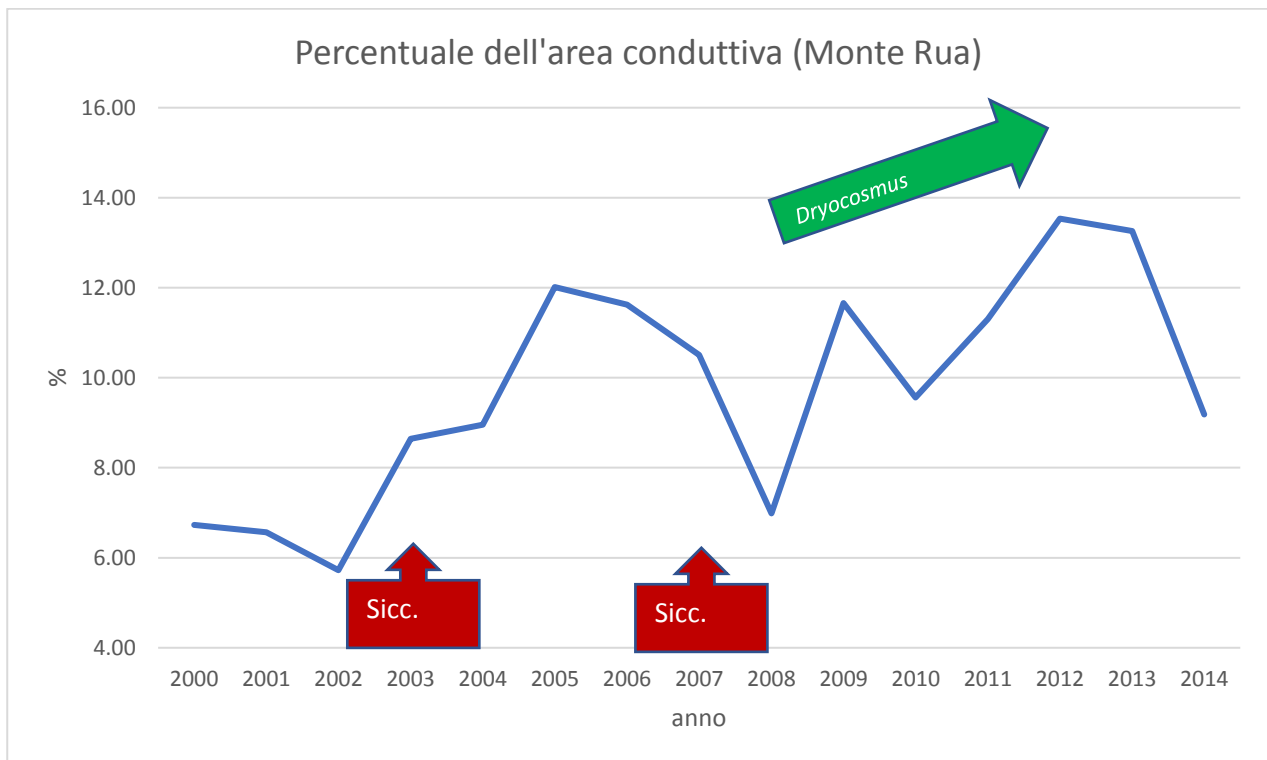


Figura 5.17: media della percentuale di area conduttiva (RCTA, percentage of conductive area) per ogni anno (2000-2014) nel sito di Monte Rua. Le forme rosse stanno ad indicare gli anni siccitosi (Sicc.) mentre la freccia verde l'arrivo del cinipide (*Dryocosmus*).

Il grafico relativo alla percentuale di area conduttiva nel sito di Monte Rua presenta una tendenza a crescere all'aumentare degli anni.

Nei due anni siccitosi (2003 e 2007) non vi sono picchi degni di nota, che si trovano invece in corrispondenza dell'anno 2008 (arrivo del cinipide) che presenta un picco negativo, e 2009 che presenta un picco positivo. Il valore successivamente torna a calare per poi innalzarsi nuovamente fino all'anno 2012, dopo il quale cala drasticamente.

La media di RCTA relativa a Monte Rua è di 9.75% (con deviazione standard di 2.50 %).

Si nota come l'andamento dei due grafici relativi alla percentuale di area conduttiva, abbia un andamento molto simile a quello dei grafici relativi alla densità dei vasi (Figura 5.10 e Figura 5.11). La percentuale di area conduttiva, altro non è che l'area cumulata di tutti i vasi, fratto la superficie e portata poi in valore percentuale. Indica quanta superficie dell'anello la pianta impiega per conduzione, rispetto alla superficie totale. Anche la percentuale di area conduttiva, come la densità dei vasi, è una variabile che dipende dalla superficie dell'anello, quindi quando la superficie cala e quando i vasi aumentano, aumenta essa stessa.

Questo parametro dimostra che in seguito all'arrivo del *Dryocosmus* le piante hanno cominciato a produrre più tessuto conduttore che tessuto meccanico, e questo lo si vede molto di più nel grafico relativo a Combai. Nel grafico relativo a Monte Rua, comunque, si notano valori più alti in seguito all'arrivo del cinipide, anche se non così marcati come nel caso di Combai.

Ciò potrebbe dimostrare che le piante hanno risposto alle anomalie causate al sistema fotosintetico apportate dall'insetto, eseguendo più fogliazioni nel periodo vegetativo, e impiegando quindi le risorse energetiche per il tessuto conduttore a discapito di quello meccanico.

Questo parametro è stato ritenuto uno dei più importanti e caratterizzante riguardo gli effetti del *Dryocosmus* sugli accrescimenti cellulari del castagno, pertanto sono state riportate delle tabelle che spiegano la variazione percentuale di tale parametro prima e dopo l'arrivo del cinipide.

COMBAI						
2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
7.16	8.16	7.8	13.37	14.04	16.04	11.87
7.71			13.83			
AUMENTO % DA PRIMA A DOPO IL CINIPIDE = 44.28%						

Figura 5.18: Tabella che riporta i dati relativi percentuale di area conduttiva (Combai). La prima riga riporta l'anno, la seconda i dati annui di percentuale di area conduttiva, la terza riga le medie prima e dopo il cinipide, la quarta riporta l'aumento % del valore da prima a dopo il cinipide.

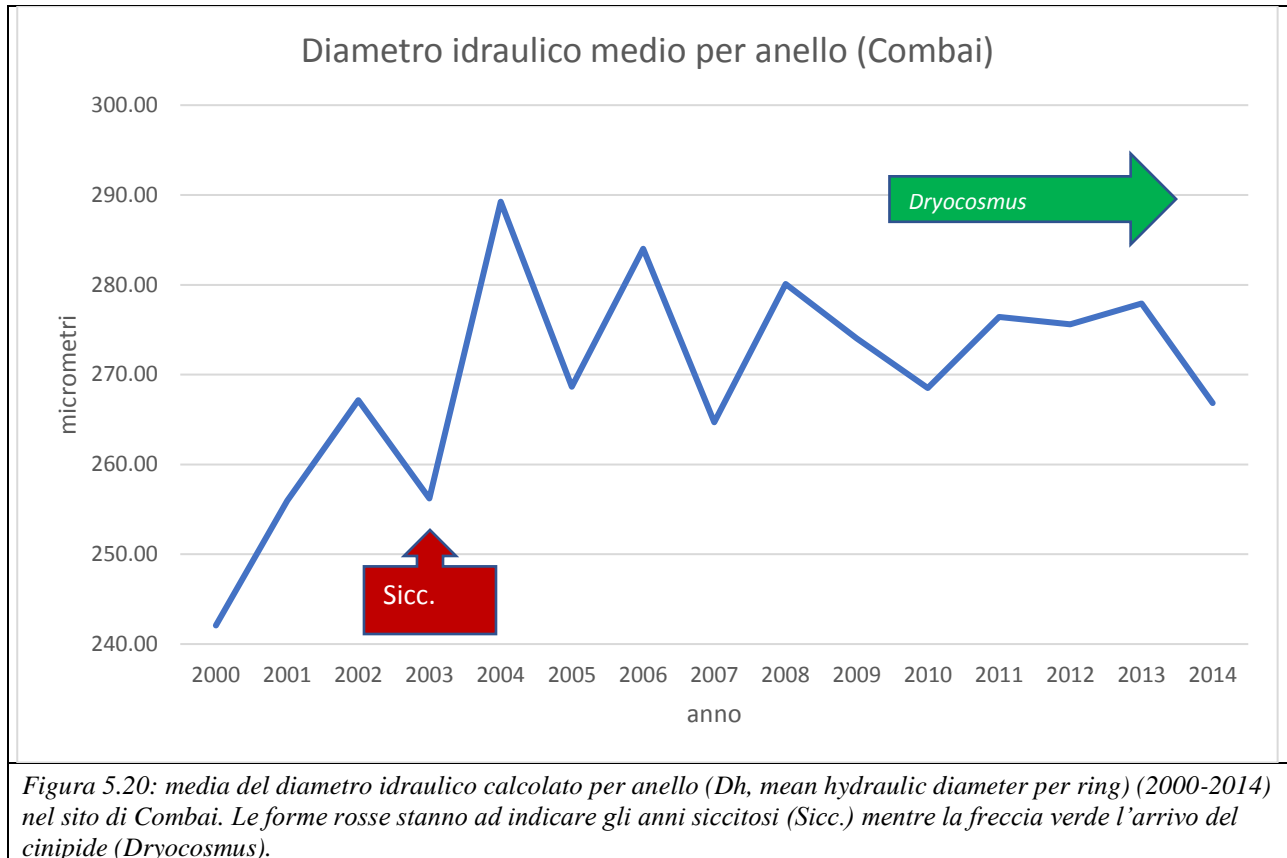
MONTE RUA						
2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
6.99	11.66	9.56	11.3	13.53	13.26	9.18
9.40			11.82			
AUMENTO % DA PRIMA A DOPO IL CINIPIDE = 20.43%						

Figura 5.19: Tabella che riporta i dati relativi percentuale di area conduttiva (Monte Rua). La prima riga riporta l'anno, la seconda i dati annui di percentuale di area conduttiva, la terza riga le medie prima e dopo il cinipide, la quarta riporta l'aumento % del valore da prima a dopo il cinipide.

Dalle due tabelle si può notare come l'aumento % della percentuale di area conduttiva sia notevole, anche se assume un valore diverso in base all'area di studio presa in considerazione. Dato il basso numero di campioni analizzati e dalla diversa situazione climatica nei due siti, questo parametro assume un valore più qualitativo che quantitativo: le piante hanno di certo aumentato l'area conduttiva rispetto al tessuto meccanico, sarebbero però necessari più dati per comprendere precisamente come. Sta di fatto che questo parametro è un utile indicatore dell'effetto di *Dryocosmus* sull'accrescimento cellulare di *Castanea sativa*.

5.9 Diametro idraulico medio per anello (Dh)

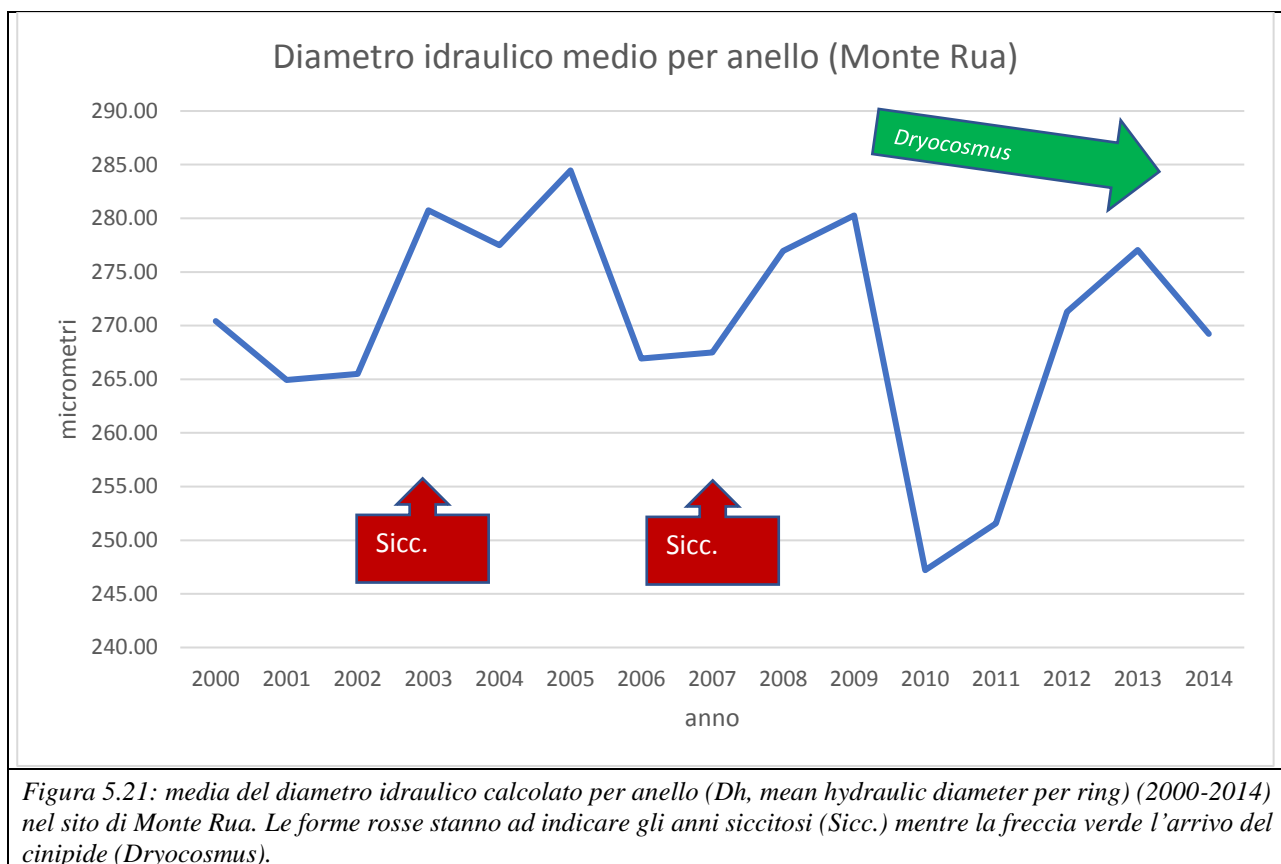
- COMBAI



Il grafico parte dal punto con valore minore del periodo, sale progressivamente, e assume un picco negativo in corrispondenza dell'anno siccitoso 2003 in seguito a questo, presenta una serie di picchi positivi e negativi. Dopo l'arrivo del cinipide (2009) assume un altro picco negativo per poi innalzarsi e procedere più regolarmente. Nel 2014 cala di nuovo e torna ad assumere circa il valore che aveva nel 2010.

La media di Dh relativa a Combai è di 269.83 micrometri (con deviazione standard di 12.06 micrometri).

- MONTE RUA



Il grafico presenta un caratteristico picco negativo molto marcato nell'anno 2010 (presenza del cinipide) anno nel quale raggiunge il valore minimo del periodo. Nel periodo precedente e seguente all'anno 2010, il grafico presenta oscillazioni più o meno ampie, che però sembra si mantengano attorno ad un valore medio.

La media di D_h relativa a Combai è di 270.10 micrometri (con deviazione standard di 10.38 micrometri).

Il diametro idraulico viene utilizzato per eseguire diversi calcoli di flusso in canali che siano a sezione non circolare, come ad esempio nel caso de vasi conduttive di una pianta. È definito come il diametro di un'ipotetica particella sferica che presenta lo stesso comportamento geometrico, ottico, elettrico o aerodinamico di una particella reale non sferica. In termini matematici, viene definito come il diametro che avrebbe una sezione circolare con lo stesso rapporto tra perimetro l e sezione S : $d = 4S/l$, con S : area della sezione di passaggio, e l : perimetro bagnato dal fluido (in questo caso rappresentato dalle sostanze nutritive)

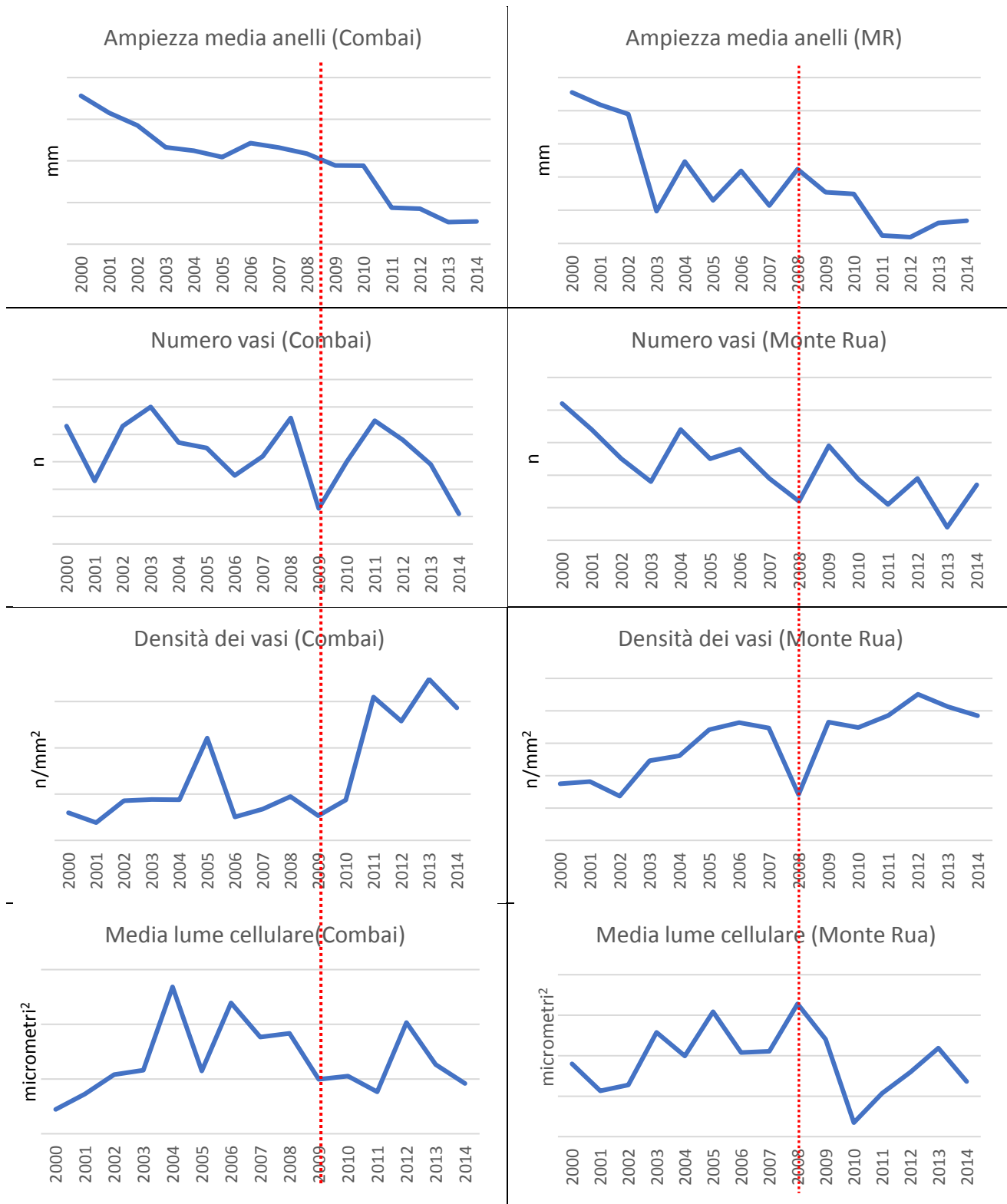
(https://en.wikipedia.org/wiki/Hydraulic_diameter).

Più è alto il valore di diametro idraulico, più sostanze nutritive riesce a condurre il vaso.

In entrambi i grafici, in seguito all'arrivo del galligeno, abbiamo un calo nel valore di diametro idraulico medio per anello seguito da un suo repentino re-innalzamento che torna ad assumere negli ultimi anni valori a quelli prima dell'arrivo di *Dryocosmus*).

Questo può significare che la pianta afflitta da anomalie nella chioma causate dal cinipide, crea in un primo momento vasi con minore diametro idraulico minore e quindi meno efficienti nel trasporto di sostanze nutritive. Dopo di che la pianta tenta di recuperare producendo vasi con diametro idraulico maggiore e quindi più efficienti.

6. Conclusioni e considerazioni



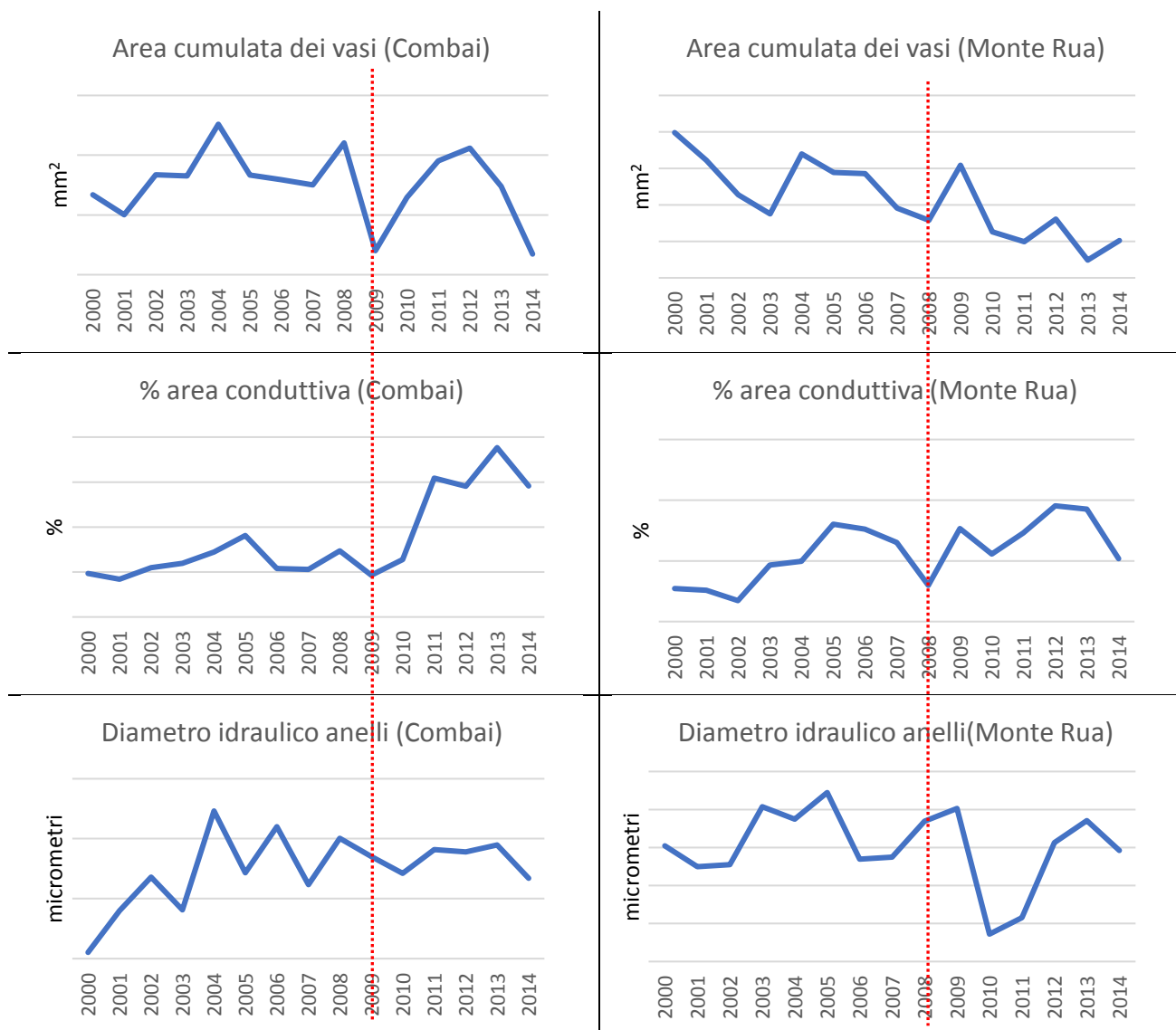


Figura 6.1: raccolta dei grafici relativi ai vari parametri ricavati con il software Roxas. Nel lato sinistro si trovano i grafici relativi al sito di Combai, mentre a destra quelli relativi al sito di Monte Rua. Le linee rosse tratteggiate rappresentano l'anno di arrivo del cinipide (Combai 2009, Monte Rua 2008).

Si è scelto di riportare tutti i grafici relativi ai parametri ricavati con Roxas (Figura 6.1) in modo da avere una visione chiara, almeno qualitativamente, di come sono variati i valori prima e dopo l'arrivo di *Dryocosmus kuriphilus*. Si può notare come tendenzialmente in tutti i grafici, sia relativi a Combai che a Monte Rua, il tratto di curva che va dall'anno di arrivo del galligeno (2008 a Monte Rua e 2009 a Combai) fino al 2014 sia da considerarsi una segnatura, ossia una sequenza di intervalli caratteristici. All'anno di arrivo del cinipide, nella maggioranza dei casi, si possono osservare variazioni particolari nei vari parametri rispetto alla tendenza media, indice che l'insetto causando danni all'apparato fogliare delle piante, ha portato sicuramente ad una anomalia negli accrescimenti cellulari.

I grafici relativi al numero dei vasi, alla densità dei vasi, all'area cumulata e alla percentuale di area conduttiva all'arrivo del cinipide presentano curve negative, seguite poi da un repentino

innalzamento dei valori; ciò potrebbe significare che le piante hanno reagito producendo una seconda fogliazione in risposta allo stress alla chioma (paragonabile ad una defogliazione) causato dall'insetto. Si può notare come nel sito di Combai le variazioni ai parametri dall'arrivo del cinipide siano più marcate rispetto al sito di Monte Rua. Il motivo potrebbe essere che a Combai i campioni erano per la maggioranza provenienti da piante giovani, mentre a Monte Rua provenivano per lo più da piante mature. Inoltre le zone presentano caratteristiche di precipitazioni molto differenti; Combai ha una piovosità media annuale di circa 1400 mm, mentre Monte Rua ha una piovosità media annuale di 871 mm. Le differenze stagionali potrebbero quindi aver contribuito alle differenze nelle curve.

Il basso numero di campioni analizzato, in seguito alle varie selezioni è risultato essere un fattore limitante per il calcolo quantitativo delle variazioni dei vari parametri. Non riuscendo ad avere un numero minimo di campioni per un'analisi statisticamente valida (ossia almeno 20) si è preferito seguire un percorso più qualitativo che quantitativo, analizzando i grafici visivamente e non calcolando le differenze percentuali prima e dopo il cinipide.

Avendo un numero così basso di campioni, la possibilità di errore aumenta considerevolmente; la presenza di *break* (rottture) negli anelli legnosi (*Figura 6.2*) ad esempio, con conseguente perdita dei dati relativi al numero di vasi, alla loro dimensione ecc, ha portato ad un consistente abbassamento della medie dei parametri in corrispondenza dell'anno di *break*.

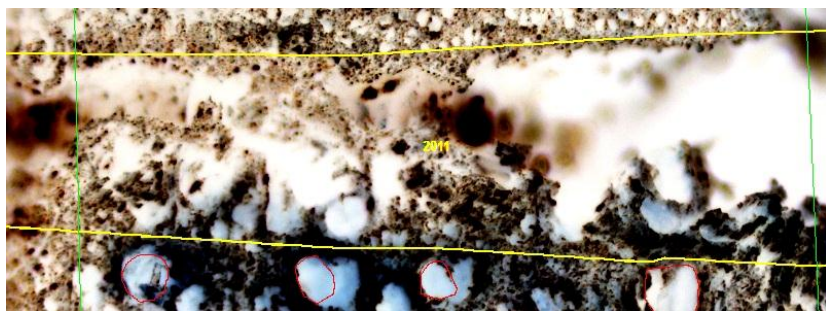


Figura 6.2: esempio di break nell'anello legnoso.

Un altro errore da tenere in considerazione è quello umano, ossia dell'operatore che ha dovuto procedere manualmente editando i vasi coperti da tilde che non venivano rilevati da Roxas e quindi con possibilità d'errore sensibilmente maggiore. La notevole presenza di tilde potrebbe confermare inoltre un aumento della vulnerabilità della pianta nel periodo di attacco del cinipide: le piante in seguito all'attacco all'apparato fogliare sono state costrette a chiudere i vasi collegati alle gemme compromesse dal galligeno e a produrre nuovi vasi per una eventuale seconda fogliazione (Andrew J. McElrone et al., 2010).

Anche durante i periodi siccitosi (in questo caso 2003 a Combai, 2003 e 2007 a Monte Rua) le piante tendono a produrre più tille per occludere i vasi (Gentilesca et al., 2014).

Si può affermare che, in seguito all'arrivo dell'insetto galligeno *Dryocosmus kuriphilus* le piante abbiano tendenzialmente ridotto l'ampiezza media degli anelli (MRW), aumentato il numero di vasi (CNo) per sostenere una eventuale seconda fogliazione investendo quindi le risorse sulla costruzione di tessuto conduttore a discapito di tessuto meccanico. Ciò ha portato ad un aumento dei parametri relativi alla densità dei vasi (CD) all'area cumulata dei vasi (CTA) e alla percentuale di area conduttiva (RCTA).

Le ampiezze dei vasi sono calate nei primi anni dell'attacco, per poi ritornare alla normalità, e lo stesso vale per il diametro idraulico, indice che le piante hanno reagito producendo prima vasi più piccoli e meno efficienti, per poi ritornare negli ultimi due anni a produrre vasi di ampiezza e diametro idraulico come prima dell'attacco.

Il rilascio dei esemplari di *Torymus sinensis*, come metodo di lotta biologica, avvenuto negli anni 2011 e 2012 potrebbe portare ad una normalizzazione delle curve dei parametri riguardanti gli accrescimenti legnosi. Dall'apertura delle galle degli anni 2014-2015 la presenza del torimide nei loculi è stata attestata essere sopra al 75% (controllo biologico).

Ciò significa che la lotta biologica ha avuto l'effetto sperato. Per vedere i risultati sugli accrescimenti a livello cellulare, sarebbe opportuno svolgere nuovi campionamenti sulle aree di studio di Combai e Monte Rua, e analizzare le carote con gli stessi criteri utilizzati per questo lavoro aggiungendo alle curve già calcolate quelle relative agli anni 2015, 2016 e 2017.

7. Bibliografia

ANAGNOSTAKIS S.L. (1999) - *Chestnut research in Connecticut: breeding and biological control*. - Acta Horticulturae, 494: 391-394.

BASSI R., 1990 - *La coltivazione del castagno*. - Edizioni L'informatore agrario, Verona.

BATTISTI A., BENVENÙ I., COLOMBARI F., HAACK R.A., 2014 - *Invasion by the chestnut gall wasp in Italy causes significant yield loss in Castanea sativa nut production*. - Agricultural and Forest Entomology, Volume 16, Issue 1, pages 75-79, February 2014.

BATTISTI A., DE BATTISTI R., FACCOLI M., MASUTTI L., PAOLUCCI P., STERGULC F. (2013) - *Lineamenti di zoologia forestale*. - Padova University Press, , Palazzo del Bo, Via VIII Febbraio, 2, Padova Italia, luglio 2013.

BATTISTI A., COLOMBARI F., SIMONATO M., HAACK R., VILLARI C., 2014 - XXIV *Congresso Nazionale Italiano di Entomologia*. - Orosei (Sardegna), 9-14 giugno 2014.

BATTISTI A., BENVENÙ I., COLOMBARI F. & HAACK R.A. (2014) - *Invasion by the chestnut gall wasp in Italy causes significant yield loss in Castanea sativa nut production*. - Agricultural and Forest Entomology 16, 75–79.

BATTONI F. (2015) - *Effetti di Dryocosmus kuriphilus Yasumatsu sull'accrescimento legnoso di Castanea sativa Miller in Veneto, nei siti di Combai (TV) e Monte Rua (PD)*. - Master's level thesis. University of Padova, Padova (IT).

BIONDI F. & QEADAN F., 2008 - *A theory-driven approach to tree-ring standardization: defining the biological trend from expected basal area increment*. - Tree-Ring Society.

BOUNOUS G., 2002 – *Il castagno. Coltura, ambiente e utilizzazioni in Italia e nel mondo*. – Edagricole – Edizioni Agricole de Il Sole 24 ORE Edagricole S.r.l., Bologna.

CARLQUIST S. 1975 - *Ecological strategies of xylem evolution*. - Berkeley, CA, USA: University of California Press.

COLOMBARI F, BATTISTI A (2016) - *Spread of the introduced biocontrol agent *Torymus sinensis* in north-eastern Italy: dispersal through active flight or assisted by wind?*. - *BioControl* 61, 127–139.

COLOMBARI F, BATTISTI A (2016) - *Native and introduced parasitoids in the biocontrol of *Dryocosmus kuriphilus* in Veneto (Italy)*. - *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* (2016) 46 (2), 275–285.

DEL FAVERO R., 2004 – *I boschi delle regioni alpine italiane*. – Coop. Libreria Editrice Università di Padova, Padova.

FONTI PATRICK, SOLOMONOFF NATALIE, GARCÍA-GONZÁLEZ IGNACIO, 2006 - *Earlywood vessels of *Castanea sativa* record temperature before their formation*. - WSL, Sottostazione Sud delle Alpi, Via Belsoggiorno 22, CH-6504 Bellinzona-Ravecchia Switzerland; Dep. de Botanica- University Santiago de Compostela, Escola Politecnica Superior- Campus de Lugo, E-27002 Lugo, Spain.

FONTI PATRICK E GARCÍA-GONZÁLEZ IGNACIO 2004 - *Suitability of chestnut earlywood vessel chronologies for ecological studies*. - WSL, Sottostazione Sud delle Alpi, Via Belsoggiorno 22, CH-6504 Bellinzona-Ravecchia Switzerland; Dep. de Botanica- University Santiago de Compostela, Escola Politecnica Superior- Campus de Lugo, E-27002 Lugo, Spain.

GENTILESCA TIZIANA, CAMELE IPPOLITO, COLANGELO MICHELE, LAUTERI MARCO, LAPOLLA ANTONIO, RIPULLONE FRANCESCO, 2014 - *Il declino dei soprassuoli di querce nel Sud Italia: il caso di studio del bosco di Gorgoglione*. - *Proceedings of the second international congress of silviculture*, Florence, November 26th - 29th 2014.

GUALACCINI G., 1958 – *Una virosi nuova del castagno*. Boll. Staz. Patol. Veg., Roma. (citato da BOUNOUS G., 2002 – *Il castagno. Coltura, ambiente e utilizzazioni in Italia e nel mondo*. – Edagricole – Edizioni Agricole de Il Sole 24 ORE Edagricole S.r.l., Bologna).

KOLB KJ, SPERRY JS. 1999 - *Transport constraints on water use by the Great Basin shrub, Artemisia tridentate*. - Plant, Cell and Environment 22: 925-935.

MCELDRONE, JOSEPH A. GRANT AND DANEIL A. KLUEPFEL. 2010 - *The role of tyloses in crown hydraulic failure of mature walnut trees afflicted by apoplexy disorder*. - Tree Physiology 30, 761–772. California, USA, published online May 6, 2010.

MIHELIC C., 2000 – *Il castagno alle pendici del Baldo*. – editrice la grafica, Mori (TN).

PAIK UN-HA ET AL. (1963) - *Pure black chestnut tree wasp*. - pp. 391-392. In: A study of the noxious insect pests harmful to crops and trees in our country. Hyang-Moon-Sa, Seoul, Korea.

MORIYA SEIICHI, SHIGA MASAKAZU, AND ADACHI ISHIZUE. (2002) - *Classical biological control of the chestnut gall wasp in Japan*. - 1st International Symposium on Biological Control of Arthropods, Honolulu, Hawaii, USA, January 14-18, 2002.

MORIYA SEIICHI (2010) - *A Global Serious Pest of Chestnut Trees, Dryocosmus kuriphilus: Yesterday, Today and Tomorrow*. - Proceedings of the Japan-Italy Joint International Symposium Held at Tsukuba, Japan, on November 24-25, 2009. National Agricultural Research Center. James H. Speer, 2010, "Fundamentals of tree-ring research".

RINN F., 2005 - *Time Series Analysis and Presentation software (TSAP-Win)*. - User Reference (Version 4.69), RinnTech, Heidelberg.

TIAN S.P., BERTOLINI P., 1997 – *Biology and pathogenicity of Rachiodiella castanea in chestnut stored at low temperatures*. Journal of Plant Disease and Protection (citato da BOUNOUS G., 2002 – *Il castagno. Coltura, ambiente e utilizzazioni in Italia e nel mondo*. – Edagricole – Edizioni Agricole de Il Sole 24 ORE Edagricole S.r.l., Bologna).

TURCHETTI T., ADDARIO E., MARESI G., 2010 - *Interactions between chestnut gall wasp and blight: a new criticality for chestnut*. - Forest@.

YASUMATSU K. (1951) - *A new Dryocosmus injurious to chestnut trees in Japan (Hym., Cynipidae)*. - Mushi, 22(15): 89-92.

8. Sitografia

<http://www.arpa.veneto.it/temi-ambientali/meteo/dati>

<http://www.agraria.org/entomologia-agraria/cinipide-galligeno-del-castagno.htm>

http://www.wsl.ch/standorte/cadenazzo/index_IT

http://www.wsl.ch/dienstleistungen/produkte/software/roxas/index_EN

<https://folk.uio.no/ohammer/past/>

https://it.wikipedia.org/wiki/Diametro_equivalente

https://en.wikipedia.org/wiki/Hydraulic_diameter

<http://www.treccani.it/enciclopedia/>

<https://agriregionieuropa.univpm.it/it/content/article/31/24/situazione-e-prospettive-della-castanicoltura-da-frutto-italia>

<http://www.unipd.it/esterni/wwwfitfo/inchiostro.htm>