

Sezione Speciale: RI.SELV.ITALIA

(Guest Editor: M. Bianchi)

## Indagini preliminari per la messa a punto di test precoci di resistenza a *Phytophthora* sp. in alcuni cloni italiani di ciliegio da legno (*Prunus avium* L.)

Barzanti GP <sup>(1)</sup>, Biancalani F <sup>(2)</sup>, De Rogatis A\* <sup>(1)</sup>, Ghelardini L <sup>(2)</sup>, Guerri S <sup>(1)</sup>, Santini A <sup>(2)</sup>

(1) Istituto Sperimentale per la Selvicoltura di Arezzo, v.le Santa Margherita 80, 52100 Arezzo; (2) Istituto per la Protezione delle Piante del CNR, v. Madonna del Piano snc, 50019 Sesto fiorentino (FI) - \* Corresponding author: De Rogatis A, [aderogatis@ricercaforestale.it](mailto:aderogatis@ricercaforestale.it)

**Abstract:** Early screening of wild cherry clones (*Prunus avium* L.) for resistance to *Phytophthora* sp. A new method for early selection of wild cherry clones for resistance to *Phytophthora* sp. is presented. Four *Phytophthora* species (*P. cinnamomi*, *P. citrophthora*, *P. megasperma*, *P. alni*) were tested *in vitro* on four micropropagated cherry (*Prunus avium*) clones, obtaining reliable and reproducible results. Variability in clones susceptibilities and in parasite virulence has been evidenced. *Phytophthora citrophthora* is confirmed to be a dangerous parasite, due to its capability to produce symptoms rapidly and its fitness to Mediterranean environments. On the contrary *P. alni* does not seem a dangerous parasite for wild cherry.

**Keywords:** *Prunus avium*, micropropagation, *Phytophthora* sp., resistance

Received: Sep 26, 2004 - Accepted: Nov 09, 2004

**Citation:** Barzanti GP, Biancalani F, De Rogatis A, Ghelardini L, Guerri S, Santini A, 2004. Indagini preliminari per la messa a punto di test precoci di resistenza a *Phytophthora* sp. in alcuni cloni italiani di ciliegio da legno (*Prunus avium* L.). *Forest@* 1 (2): 135-140. [online] URL: <http://www.sisef.it/>

### Introduzione

Data l'ampia possibilità di impiego del ciliegio da legno (*Prunus avium* L.) in foresta e nell'arboricoltura da legno (Hammatt & Grant 1997), in Italia da diversi anni sono stati intrapresi programmi di miglioramento genetico di questa specie (Ducci et al. 1987, Ducci et al. 1988, Ducci & Santi 1996, Ducci & Santi 1997), come in altri paesi dell'Europa quali Francia (Santi 1988, Santi & Lemoine 1990), Inghilterra (Nicoll 1993), Germania, Olanda, Danimarca, Belgio, Svezia e Norvegia (Grant et al. 1998). L'obiettivo del miglioramento è di incrementare la produzione di legname pregiato, migliorarne la qualità e selezionare materiale di propagazione resistente/tollerante ai patogeni che più comunemente colpiscono questa specie.

Il genere *Prunus* è soggetto ad infezioni di *Phytophthora* spp. In particolare, *P. avium* è ospite di *P. cambivora* (Petri e Buisman), *P. cactorum* (Lebert e Cohn), *P. drechsleri* (Tucker), *P. megasperma* (Drech-

sler), *P. citrophthora* (Smith e Smith), *P. syringae* (Klebahn) (Erwin & Ribeiro 1996). Questi patogeni causano il marciume del capillizio radicale, con conseguenti microfillia e filloptosi anticipata, appassimento e mancata crescita dei getti terminali. In casi estremi si può arrivare alla morte della pianta in estate, anche senza la precedente manifestazione di sintomi visibili. La malattia, attualmente, può essere controllata solamente attraverso l'uso di materiale di propagazione sano e selezionato per un alto grado di resistenza al patogeno.

La presenza di *Phytophthora megasperma* e *P. cryptogea* (Pethybridge e Lafferty) su ciliegio è stata segnalata in Svizzera (Bolay 1992), mentre la patogenicità di *P. cactorum*, *P. citrophthora* e *P. syringae* verso ciliegio è stata provata recentemente (Thomidis 2001). Sebbene in Italia gli studi sul patosistema ciliegio-*Phytophthora* siano ancora pochi, un'importante segnalazione di questo patogeno su ciliegio si ha nella provincia di Arezzo, dove *P. megasperma* è stata iso-

**Tab. 1** - I cloni studiati.

Clone	Provenienza	Collezione clonale
AP06	Alpago-Veneto	Pomaio (AR)
ACW10	Alpe Catenaia-Toscana	ISSA (AR)
VM02	Valle Metauro-Marche	ISSA (AR)
VTS02	Val Tiberina-Umbria	ISSA (AR)

lata da piante deperienti in una collezione clonale dell'Istituto Sperimentale per la Selvicoltura (Motta et al. 1997). Recentemente in Italia (Santini et al. 2001, Anselmi et al. 2001) è stata segnalata la presenza di *P. alni* su ontano. La comune consociazione di questa specie al ciliegio negli impianti per la produzione legnosa rende necessario indagare la patogenicità di questo nuovo *taxon* su ciliegio.

Per abbreviare i tempi troppo lunghi richiesti dal miglioramento genetico tradizionale, data l'impossibilità di eseguire inoculazioni nelle parcelle sperimentali senza conseguenze dannose per l'impianto, si è scelto di adottare la tecnica della selezione attraverso test precoci *in vitro*.

La micropropagazione di *P. avium* è stata ampiamente studiata (Riffaud 1980, Riffaud & Cornu 1981, Cornu & Chaix 1981, Snir 1982, Hammatt & Grant 1993, Hammatt 1994, Grant & Hammatt 1999) per cui sono disponibili molti protocolli di riferimento. Questa tecnica, utilizzata già da molti anni nel Laboratorio di Genetica dell'Istituto Sperimentale per la Selvicoltura per la propagazione del ciliegio, è stata scelta per la produzione dei cloni studiati in questo lavoro. Tenendo presente che le colture cellulari *in vitro* sul ciliegio sono fortemente influenzate dal genotipo (Grant et al. 1998), i protocolli di propagazione sono stati adeguati alle esigenze dei genotipi analizzati in questi studi. L'obiettivo di questo lavoro è quello di mettere a punto un metodo idoneo alla selezione precoce di genotipi di *P. avium* per la resistenza a *Phytophthora* spp.

## Materiali e metodi

### Il materiale vegetale

I cloni utilizzati in questo lavoro, AP06, ACW10, VM02, VTS02 (tab. 1) fanno parte di un ampio gruppo di cloni selezionati dall'Istituto Sperimentale

per la Selvicoltura di Arezzo per caratteri fenotipici (Ducci et al. 1988), e mantenuti in collezione clonale. Di questi, un elevato numero è oggetto di studio per molteplici caratteristiche, tra cui la resistenza a differenti malattie.

### Il microrganismo

Nelle prove è stato utilizzato un isolato per ciascuna delle seguenti quattro specie di *Phytophthora*: *P. cinnamomi* (Ph 17) gentilmente fornitaci dal Prof. C.M. Brasier, *P. citrophthora* (Ph 9) gentilmente fornitaci dalla Dott.ssa S.O. Cacciola, *P. megasperma* (Ph 78) isolata da ciliegio nella collezione clonale adiacente all'Istituto Sperimentale per la Selvicoltura (AR), *P. alni* (Brasier et al. 2004) (Ph 68, CBS 109280) isolata da ontano napoletano in un vivaio forestale in Toscana.

Le colonie sono state coltivate *in vitro* per due settimane a 20 °C al buio su piastre Petri da 90 mm contenenti 20 ml di V8 agar sterile, composto da 100 ml l<sup>-1</sup> V8 (Campbell Grocery Products), 3 g l<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>, 20 g l<sup>-1</sup> Agar (Technical DIFCO, Detroit, USA).

### Le colture vegetali

**Induzione delle gemme.** Un elevato numero di gemme di ogni clone, prelevate prevalentemente in febbraio, è stato sterilizzato con alcool etilico al 99% per 30 s ed inoculate in provetta in condizioni di sterilità. Come substrato di coltura è stato utilizzato MS (Murashige & Skoog 1962 - Sigma M5519) al quale sono stati aggiunti 0.0537 µM di NAA (acido naftalenacetico) e 6.6578 µM di BAP (benzilaminopurina), 30 g l<sup>-1</sup> di saccarosio e 6 g l<sup>-1</sup> di agar (Sigma type A, A-4550). Il pH è stato aggiustato a 5.6 prima della sterilizzazione in autoclave. Il terreno è stato rinnovato ogni 4 settimane.

**Sviluppo delle piantine.** Dopo il primo sviluppo delle gemme, alla terza subcultura, i germogli sono stati trasferiti in un substrato di coltura MS con 0.0537 µM di NAA e 3.107 µM di BAP con 30 g l<sup>-1</sup> di saccarosio, 6 g l<sup>-1</sup> di agar. Il pH è stato aggiustato a 5.6 prima della sterilizzazione in autoclave. Infine, per evitare la vitrificazione dei tessuti, i germogli completamente affermati sono stati trasferiti in terreno MS al quale sono stati aggiunti 30 g l<sup>-1</sup> di saccarosio, 6 g l<sup>-1</sup> di agar, 0.49 µM di IBA e 2.22 µM di BAP. Analogamente il pH è stato aggiustato a 5.6 prima della sterilizzazione in autoclave. Le colture sono state mantenute ad una temperatura di 24±1°C, con un fotoperiodo di 16h ed una intensità luminosa di 70 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> prodotta da tubi fluorescenti Philips 58 W 840. I germogli allungati sono stati trasferiti in

terreno di radicazione composto da MS arricchito con  $14.76 \mu\text{M}$  di IBA,  $30 \text{ g l}^{-1}$  di saccarosio e  $6 \text{ g l}^{-1}$  di agar a pH 5.6. I germogli sono stati fatti radicare nelle condizioni colturali sopra citate (fig. 1).

Le piantine affermate sono state trapiantate in barattoli sterili di vetro da 1 litro contenenti ciascuno 300 ml di terreno sterile costituito al 50% da terriccio commerciale per vivaismo e vermiculite. Il substrato di ogni barattolo è stato irrigato con 25 ml di acqua deionizzata sterile. Dopo 15 giorni dal trapianto in terra le piantine che si erano affermate sono state inoculate.

### Inoculazione

Per ciascun isolato di *Phytophthora* sono state inoculate cinque piantine, dopo 4 mesi dall'avvenuta radicazione, per ciascun clone di ciliegio, in due prove distinte. Nella prima sono stati inoculati i cloni ACW10, VM02 e VTS02, nella seconda i cloni AP06 e VTS02. Nella prima prova è stato utilizzato un isolato per specie di *P. cinnamomi* (Ph 17), *P. citrophthora* (Ph 9), *P. megasperma* (Ph 78). Nella seconda prova è stato utilizzato un isolato per specie di *P. cinnamomi* (Ph 17), *P. citrophthora* (Ph 9), *P. megasperma* (Ph 78), oltre ad un isolato di *P. alni* (Ph 68, CBS 109280). Sotto cappa a flusso laminare, in prossimità del colletto e delle radici di ogni pianta sono stati posti 2 tasselli di V8 agar del diametro di 0.6 cm colonizzati dal micelio del fungo. Per ogni clone sono state inoculate solo con agar anche cinque piante di controllo. Il materiale è stato conservato a temperatura ambiente, in condizioni di luce solare naturale diffusa. La prima prova di inoculazione è stata effettuata il 6 Novembre 2002, la seconda prova il 17 Giugno 2003. In entrambe le prove sono stati eseguiti 2 rilievi settimanali ripetuti per un periodo complessivo di circa 30 giorni. Per ogni pianta sono stati considerati i seguenti parametri: numero di foglie appassite, numero di foglie con clorosi, numero di foglie con necrosi marginali e/o apicali, numero di foglie morte, presenza di annerimento alla base del fusto, presenza di annerimento all'apice del fusto. Inoltre, è stato assegnato a ciascuna pianta un valore variabile da 0 (pianta sana) a 5 (pianta morta) in base al grado generale di appassimento e/o ingiallimento della pianta. Al valore assegnato è stato aggiunto mezzo punto nel caso in cui fosse presente un annerimento del fusto.

### Analisi dei dati

I dati sono stati sottoposti ad analisi della varianza



Fig. 1 - Piantina in fase di radicazione.

utilizzando il software *Statistica 6.0*. I risultati ottenuti vengono di seguito trattati separatamente per ciascuna prova.

## Risultati

### Micropropagazione in vitro

Come nei precedenti studi fatti dall'ISSA, la propagazione *in vitro* del ciliegio selvatico nei quattro cloni utilizzati non è risultata particolarmente problematica. Dopo una lieve difficoltà iniziale nell'induzione delle gemme avventizie dei cloni VM02 e ACW10, sono stati ottenuti per tutti i cloni germogli con una buona capacità di moltiplicarsi e di svilupparsi. I cloni VM02 e ACW10 hanno anche mostrato una minore capacità nello sviluppo dell'apparato radicale. Le piantine hanno presentato buone caratteristiche di sviluppo e conformazione, con elevata capacità di sopravvivenza. Tuttavia, il differente comportamento dei cloni rispecchia una diversa capacità di sviluppo *in vitro* tra i genotipi.

### Prove d'inoculazione

**Prima prova.** Nella prima prova (tab. 2) i cloni hanno dato differenze significative per  $p < 0.01$  nei rilievi eseguiti dopo 13, 16, 20, 23 giorni dall'inoculazione. Al primo rilievo, dopo 7 giorni, nessuna pianta aveva ancora mostrato i sintomi della malattia, mentre negli ultimi tre rilievi tutti i cloni presentavano gravi sintomi. Possiamo tuttavia evidenziare che il clone ACW10 ha manifestato sintomi gravi dopo 13 giorni dall'inoculazione, il clone VTS02 li ha mostrati dopo 16 giorni, mentre il clone VM02 dopo 23 giorni. L'effetto ascrivibile alle diverse specie di *Phytophthora* è risultato significativo ( $p < 0.05$ ) per tutti i rilievi successivi al settimo giorno.

**Tab. 2** - Analisi della varianza alle diverse date di rilievo, espresse come numero di giorni dall'inoculazione, nella prima prova di inoculazione di cloni di ciliegio (ACW10, VM02, VTS02) con isolati di varie specie di *Phytophthora* (*P. citrophthora*, *P. cinnamomi*, *P. megasperma*); gl = gradi di libertà; MS= varianza; n.s.= non significativo, Phyto= specie di *Phytophthora*, CxP = effetto dovuto all'interazione clone x *Phytophthora*.

Effetto	gl	7			13			16			20		
		MS	F	p	MS	F	p	MS	F	p	MS	F	p
Clone	2	0.71	2.57	n.s.	20.78	33.31	0	16.66	20.4	0	9.25	13.47	0
Phyto	2	0.5	1.83	n.s.	17.27	27.69	0	12.29	15.04	0	10.69	15.57	0
CxP	4	0.04	0.13	n.s.	7.03	11.27	0	6.47	7.93	0	4.5	6.56	0
Errore	33	0.28			0.62			0.82			0.68		
Totale	41												

  

Effetto	gl	23			27			30			37		
		MS	F	p	MS	F	p	MS	F	p	MS	F	p
Clone	2	3.75	6.22	0	1.2	1.64	n.s.	1.25	1.78	n.s.	0.64	3.06	n.s.
Phyto	2	8.64	14.32	0	4.57	6.21	0.01	2.57	3.65	0.04	0.71	3.39	0.04
CxP	4	2.88	4.77	0	1.51	2.06	n.s.	1.54	2.18	n.s.	0.58	2.77	0.04
Errore	33	0.6			0.74			0.71			0.21		
Totale	41												

*P. citrophthora* (Ph9) è risultata la specie più aggressiva, seguita da *P. cinnamomi* (Ph 17) e da *P. megasperma* (Ph 78). L'effetto dovuto all'interazione clone x *Phytophthora* è risultato significativo ( $p < 0.01$ ) dopo 13, 16, 20 e 23 giorni dall'inoculazione. I cloni che hanno avuto un decorso dei sintomi più lento sono stati VTS02, inoculato con Ph78, e VM02 inoculato con Ph17 e con Ph78, mentre tutte le altre combinazioni hanno avuto un decorso più rapido senza differenze significative.

**Seconda prova.** Nella seconda prova (tab. 3) i due cloni saggiati hanno mostrato differenze significative ( $p < 0.05$ ) dopo 6, 9, 20, 23, 27 e 29 giorni dall'inoculazione. Al termine della prova il clone maggiormente danneggiato è risultato l'AP06, mentre il VTS02 è risultato mediamente più resistente al patogeno. Tra le quattro specie di *Phytophthora* inoculate si sono registrate differenze significative ( $p < 0.05$ ) per tutta la durata della prova. In particolare, *P. citrophthora* (Ph9) è risultata la più aggressiva mentre la *P. alni* (Ph68) è risultata la meno dannosa. L'interazione clone x *Phytophthora* è risultata significativa ( $p < 0.01$ ) solamente nei primi due rilievi. Il clone AP06 è risultato quello più suscettibile a tutte e quattro le specie di *Phytophthora*.

## Discussione e conclusioni

La lotta contro le avversità biotiche negli impianti industriali da legno si è spesso orientata verso metodi di basso impatto ambientale, come il miglioramento genetico. Tuttavia, non siamo a conoscenza di programmi volti alla selezione di individui di ciliegio resistenti a *Phytophthora*. Dallo studio condotto è emerso come *Phytophthora* spp. rappresenti effettivamente un potenziale pericolo per gli impianti di ciliegio italiani. Si è potuto inoltre osservare l'esistenza di una certa variabilità nella suscettibilità a questo patogeno dei diversi cloni considerati, anche se nessuno di essi ha mostrato un marcato livello di resistenza. La metodologia di inoculazione adottata è risultata efficace e ripetibile, dando buoni risultati e permettendo di confrontare il materiale di ciliegio disponibile.

Dei quattro cloni considerati nelle prove, l'ACW10 e l'AP06, testati rispettivamente nella prima e nella seconda prova, sono risultati quelli più colpiti, mentre il clone VM02, ha presentato sintomi gravi ma con un decorso della malattia più lento rispetto agli altri cloni. Dal nostro studio la capacità di moltiplicazione e rigenerazione *in vitro* di *P. avium* risulta fortemente dipendente dal genotipo, così come os-

**Tab. 3** - Analisi della varianza alle diverse date di rilievo, espresse come numero di giorni dall'inoculazione, nella seconda prova di inoculazione di cloni di ciliegio (AP06, VTS02) con isolati di varie specie di *Phytophthora* (*P. citrophthora*, *P. cinnamomi*, *P. megasperma*, *P. alni*); gl= gradi di libertà; MS= varianza; n.s.= non significativo, Phyto= specie di *Phytophthora*, CxP = effetto dovuto all'interazione clone x *Phytophthora*.

Effetto	gl	7			13			16			20		
		MS	F	p	MS	F	p	MS	F	p	MS	F	p
Clone	2	0.71	2.57	n.s.	20.78	33.31	0.00	16.66	20.40	0.00	9.25	13.47	0.00
Phyto	2	0.50	1.83	n.s.	17.27	27.69	0.00	12.29	15.04	0.00	10.69	15.57	0.00
CxP	4	0.04	0.13	n.s.	7.03	11.27	0.00	6.47	7.93	0.00	4.50	6.56	0.00
Error	33	0.28			0.82			0.62			0.68		
<b>Totale</b>	<b>41</b>												

  

Effetto	gl	20			23			27			29		
		MS	F	p	MS	F	p	MS	F	p	MS	F	p
Clone	1	11.13	5.44	0.03	16.21	6.29	0.02	18.78	6.43	0.02	17.79	4.87	0.04
Phyto	3	23.81	11.64	0.00	18.63	7.23	0.00	15.89	5.44	0.00	13.21	3.62	0.03
CxP	3	3.64	1.78	n.s.	3.80	1.47	n.s.	3.62	1.24	n.s.	3.26	0.89	n.s.
Error	30	2.05			2.58			2.92			3.65		
<b>Totale</b>	<b>37</b>												

servato da Grant et al. (1998). Peraltro, non sono emerse relazioni fra la capacità di sviluppo *in vitro* dei differenti genotipi e la loro diversa suscettibilità al patogeno. Infatti, i cloni ACW10 e VM02 si sono sviluppati in coltura con più difficoltà, ma poi non hanno mostrato una maggiore suscettibilità al patogeno; pertanto la differente adattabilità *in vitro* dei genotipi studiati non sembra influire sulla resistenza al patogeno, anche se questo aspetto meriterà di essere confermato da studi condotti su un numero maggiore di cloni.

I dati sperimentali relativi al clone VTS02, testato sia nella prima che nella seconda prova, sono apparsi controversi. Su tale clone *P. megasperma* e *P. citrophthora* hanno prodotto sintomi analoghi, mentre *P. cinnamomi* ha fatto registrare risultati diversi fra le due prove. Ciò è imputabile probabilmente alle condizioni ambientali differenti in cui si sono svolte le inoculazioni, essendo state compiute l'una nel periodo autunnale e l'altra nel periodo estivo. Questa diversa aggressività è probabilmente imputabile alla particolare termosensibilità di questa specie (Erwin & Ribeiro 1996).

Delle quattro specie di *Phytophthora* inoculate *P. ci-*

*trophthora* è risultata capace di arrecare gravi danni al ciliegio in minor tempo, indipendentemente dai cloni saggiati. Questi risultati sono in accordo con gli studi condotti in Grecia da Thomidis (2001), secondo cui *P. citrophthora* è risultata estremamente aggressiva sul clone da frutto 'Gizella' sia *in vitro* che *in vivo*. La concordanza di questi risultati sottolinea che questa specie deve essere considerata un grave rischio per gli impianti di ciliegio dell'area mediterranea, dove *P. citrophthora*, particolarmente termofila (Erwin & Ribeiro 1996), trova condizioni di sviluppo ottimali. Si rende quindi necessario anche in Italia un attento controllo di questo patogeno al fine di evitare la sua diffusione epidemica nei ciliegeti. *P. megasperma* ha mostrato un diverso grado di aggressività nei confronti dei cloni testati determinando gravi sintomi su ACW10, VM02 e AP06 e sintomi minori sul clone VTS02, sia nella prima che nella seconda prova. La *P. alni* è stata recentemente segnalata in Italia su ontano sia in vivaio (Santini et al. 2001) che in impianti da legno (Anselmi et al. 2001). Dai risultati qui ottenuti non sembra che sussista il rischio che questo patogeno possa passare da ontano a ciliegio. Infatti, sui cloni VTS02 e AP06 non ha causato

particolari danni.

In conclusione, il metodo di inoculazione qui saggiato si è rivelato come un valido test precoce per saggiare la resistenza a *Phytophthora* in ciliegio, fornendo risultati attendibili e riproducibili. Infatti, ha consentito di evidenziare la presenza di variabilità nel grado di suscettibilità dei cloni e nella virulenza dei parassiti. La ricerca dovrà ora svilupparsi per esplorare la variabilità del carattere resistenza a *Phytophthora* nell'intera popolazione clonale già selezionata per l'arboricoltura da legno.

## Ringraziamenti

Lavoro svolto nell'ambito del progetto Ri.Selv.Italia, Sottoprogetto 1.1 "Biodiversità e produzione di materiale forestale di propagazione".

## Bibliografia

- Anselmi N, Vettraino AM, Natalini G, Tannini A (2001). Una nuova avversità per gli impianti industriali da legno: il marciume del pedale dell'ontano da *Phytophthora*. *Informatore Fitopatologico* 7-8: 65-67.
- Bolay A (1992). Les deperissements des arbres fruitiers due a des champignons du genre *Phytophthora* en Suisse romande et du Tessin. 1. Nature et importance des degats; especes identifiees. *Revue Suisse de Viticulture d'Arboriculture et d'Horticulture* 24 (5) : 281-292.
- Brasier CM, Kirk SA, Delcan J, Cooke D.E.L, Jung T, e Man in't Veldt WA (2004). *Phytophthora alni* sp. nov. and its variants : designation and emerging hetroplid hybrid pathogens spreading on *Alnus* trees. *Mycological Research* 108: 1172-1184.
- Cornu D, Chaix C (1981). Multiplication par culture *in vitro* de merisier adultes (*Prunus avium*) application à un large éventail de clones. *Colloque Intern. sur la culture "in vitro" des essences forestieres*, 31 agut- 4 sept. 1981, Fontainebleau, France, Publiés par AFOCEL: pp. 71-80.
- Ducci F, Canciani L, Biondi S (1987). Prospettive di miglioramento, propagazione e coltivazione del ciliegio da legno (*Prunus avium* L.). *Monti e Boschi XXXVIII* (2): 14-19.
- Ducci F, Tocci A, Veracini A (1988). Sintesi del registro del materiale di base di *Prunus avium* L. in Italia centro settentrionale, Basilicata e Calabria. *Annali dell'Istituto Sperimentale per la Selvicoltura XIX*: 265-303.
- Ducci F, Santi F (1996). Cloni naturali di ciliegio selvatico (*Prunus avium* L.): loro significato in foresta e per l'arboricoltura da legno. *Sherwood* 14: 11-16.
- Ducci F, Santi F (1997). The distribution of clones in managed and unmanaged populations of wild cherry (*Prunus avium* L.). *Can. J. For. Res.* 27: 1998-2004.
- Erwin DC, Ribeiro OK (1996). *Phytophthora* diseases worldwide. APS Press, St. Paul, Minnesota, 562 pp.
- Hammatt N, Grant NJ (1993). Apparent rejuvenation of mature wild cherry (*Prunus avium* L.) during micropropagation. *J. Plant Physiol.* 141: 341-346.
- Hammatt N (1994). Propagation and physiological improvement of mature wild cherry (*Prunus avium* L.) and common ash (*Fraxinus excelsior* L.) by tissue culture. In: *Physiology, Growth and Development of Plants in Culture* (Lumsden PJ, Nicholas JR, Davies WJ eds.). Kluwer Academic Publishers, pp. 332-338.
- Hammatt N, Grant NJ (1997). Micropropagation of mature British wild cherry. *Plant, Cell, Tissue and Organ Culture* 47:103-110.
- Grant NJ, Fenning TM, Hammatt N (1998). Regeneration and trasformation of wild cherry (*Prunus avium* L.) and bird cherry (*Prunus padus* L.). In: *Tree Biotechnology towards the millennium* (Davey MR, Alderson PG, Lowe KC, Power JB eds). Nottingham Univ. Press, pp. 249-257.
- Grant NJ, Hammatt N (1999). Increased root and shoot production during micropropagation of cherry and apple rootstocks: effect of subculture frequency. *Tree Physiology* 19: 899-903.
- Motta E, Scortichini M, Biocca M (1997). Gravi malattie del ciliegio da legno in Italia Centrale. *Ann. Ist. Sper. Selv.* XXV-XXVI: 373-390.
- Murashige T, Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.
- Nicoll F (1993). Genetic improvement of wild cherry for farm woodlands. *Q. J. For.* 87: 187-194.
- Riffaud JL (1980). La multiplication vegetative du merisier (*Prunus avium* L.) par drageonnage et culture *in vitro*. *Centre de Recherches Forestieres D'Orleans. Document* 80/1: 110.
- Riffaud JL, Cornu D (1981). Utilisation de la culture *in vitro* pour la multiplication de merisiers adultes (*Prunus avium* L.). sélectionnés en forêt. *Agronomie* 1: 633-640.
- Santi F (1988). Variabilità genetica intra et inter-populationns chez le merisier (*Prunus avium* L.). Thesis of the Institut National Agronomique Paris Grignon: 80 pp.
- Santi F, Lemoine M (1990). Genetic markers for *Prunus avium* L. 1. Inheritance and linkage of isozyme loci. *Ann. Sci. For.* 4: 131-140.
- Santini A, Barzanti G.P, Capretti P (2001). A new *Phytophthora* root disease of alder in Italy. *Plant Disease* 5: 560.
- Snir I (1982). *In vitro* propagation of sweet cherry cultivars. *Hort. Sci.* 17: 192-193.
- Thomidis T (2001). Testing Variability in Pathogenicity of *Phytophthora cactorum*, *P. citrophthora* and *P. Syringae* to Apple, Pear, Peach, Cherry and Plum Rootstocks. *Phytoparasitica* 29 (1): 47-49.