

## Basi fisio-patologiche dell'interazione tra olivo e funghi associati al Co.Di.R.O.: studi preliminari

G.L. Bruno, I. Di Tarsia, C. Cariddi, F. Tommasi

**Riassunto** – Il presente lavoro riporta i risultati preliminari sulla capacità di produrre *in vitro* metaboliti secondari fitotossici in colture liquide statiche (25 °C, al buio) di *Celerioriella prunicola* (CprAzF8P4T1), *Phaeoacremonium aleophilum* (PalArF2P1E), *P. inflatipes* (PinBF3P4Pi), *P. parasiticum* (PpaGF3P3R1) e *Neofusicoccum parvum* (NpaBF1P2R1) isolati da piante di 'Ogliarola salentina' con sintomi del Complesso del disseccamento rapido dell'olivo. Nei biosaggi su rametti recisi di 'Ogliarola salentina', concentrazioni diverse dei filtrati colturali di ciascuno dei cinque isolati saggati hanno indotto sintomi di ripiegamento, appassimento, ingiallimento o imbrunimento dell'area fogliare. Il sintomo finale causato dai filtrati prodotti dagli isolati CprAzF8P4T1, PpaGF3P3R1, PinBF3P4Pi e NpaBF1P2R1 si è manifestato sotto forma di filloptosi. Nessun sintomo è stato osservato sui rametti delle tesi di controllo dopo l'assorbimento di acqua distillata o substrato non inoculato. Nei filtrati colturali fitotossici è stata indagata la presenza di pullulano (omopolimero del maltotriosio unito da legame  $\alpha$ -1,6), scitalone e isosclerone, ben noti metaboliti secondari di specie dei generi *Phaeoconiella* e *Phaeoacremonium* associate a viti colpite da 'mal dell'esca'. Scitalone e isosclerone sono pentacetidi che, insieme a altri naftochinoni, sono parte integrante della via biosintetica delle melanine e il loro accumulo nei tessuti vegetali è evidenziato dalla colorazione bruno nerastra delle parti alterate. Gli isolati CprAzF8P4T1, PalArF2P1E e PpaGF3P3R1 hanno prodotto i tre metaboliti indagati - PinBF3P4Pi, pullulano e isosclerone -, mentre NpaB212R1 ha prodotto solo scitalone.

**Parole chiave:** *Celerioriella prunicola*, *Neofusicoccum parvum*, *Phaeoacremonium* spp., isosclerone, pullulano, scitalone

### Introduzione

Il "Complesso del disseccamento rapido dell'olivo" (indicato con l'acronimo Co.Di.R.O.), segnalato nel 2013 su piante di olivo (*Olea europaea* L.) 'Ogliarola di Lecce' ('Ogliarola salentina') e 'Cellina di Nardò', si manifesta sulle piante di olivo colpite con sintomi iniziali di bruscatura fogliare (disseccamento della parte apicale e/o marginale), poi avvizzimento e arrotolamento fogliare, seccumi di rami isolati e, successivamente di intere branche e dell'intera chioma. I rametti, le branche e il fusto delle piante infette mostrano inoltre imbrunimenti discontinui del legno. Inizialmente, responsabili di questa sindrome furono ritenuti: *Xylella fastidiosa* Wells, Raju, Hung, Weisburg, Mandelco, Brenner, il lepidottero *Zeuzera pyrina* L. e specie diverse di funghi lignicoli vascolari dei generi *Phaeoacremonium*, *Neofusicoccum*, *Pleurostomophora* e *Phaeoconiella*, ben noti agenti di tracheomicosi su olivo, vite e altre piante arboree (Saponari et al. 2013, Nigro et al. 2013, 2014, Carlucci et al. 2013, 2015). In seguito, la malattia è stata rinominata "Sindrome del Disseccamento Rapido dell'Olivo" (acronimo O.Q.D.S.: dall'inglese Olive Quick Decline Syndrome) grazie a osservazioni più estese che indicano *X. fastidiosa* sottospecie *pauca* ceppo CoDiRO l'unico responsabile della fitopatia (EFSA 2015, Martelli et al. 2016). Il presente lavoro si propone di dare un contributo alla conoscenza del ruolo di alcuni metaboliti secondari prodotti dai funghi presenti nelle piante di olivo con sintomi di disseccamento.

### Materiali e Metodi

Da 48 piante di 'Ogliarola salentina' con evidenti sintomi di disseccamento rapido, coltivate in regime di agricoltura biologica e nel rispetto dei trattamenti fitosanitari previsti dalla decisione UE 789/2015, in agro di Borgagne (Melendugno, Lecce) sono stati prelevati rametti di 5-7 mm in diametro e, utilizzando il succhiello di Pressler, porzioni di legno a 80-90 cm dal colletto. I campioni sono stati sottoposti a isolamento su Agar Acqua (AA) e Agar Malto (AM) modificato con l'aggiunta di 250 mg l<sup>-1</sup> di Cloranfenicolo (AMC). Le colonie pure ottenute sono state identificate su base morfologica e molecolare (Moster et al. 2006, Nigro et al. 2013, 2014). Colture monosporeiche di *Celerioriella prunicola* (Damm & Crous) Crous (CprAzF8P4T1), *Neofusicoccum parvum* (Penycook & Samuels) Crous, Slippers & A.J.L. Phillips (NpaBF1P2R1), *Phaeoacremonium aleophilum* W. Gams, Crous, M.J. Wingf. & Mugnai (PalArF2P1E), *P. inflatipes* W. Gams, Crous & M.J. Wingf. (PinBF3P4Pi) e *P. parasiticum* (Ajello, Georg & C.J.K. Wang) W. Gams, Crous & M.J. Wingf. (PpaGF3P3R1) sono state utilizzate per allestire colture liquide statiche in bottiglie di Roux su substrato (pH 5,7) a base di Czapek minerale, D-Glucosio (20 g l<sup>-1</sup>), estratto di malto (0,5 g l<sup>-1</sup>) e estratto di lievito (0,5 g l<sup>-1</sup>). Ciascuna bottiglia è stata inoculata con 20 tasselli (2×2×2 mm) di micelio prelevati da colonie monosporeiche su AM (15 giorni, 25±1 °C, al buio). Dopo 28 giorni di incubazione (25±1 °C, al buio), il filtrato colturale (FC) ottenuto dopo centrifugazione (centrifuga Thermo Scientific SL8R, 8.000×g, 20 min, 4 °C) è stato saggato per la tossicità su rametti recisi di 'Ogliarola salentina' prelevati da piante coltivate in area non soggetta a Co.Di.R.O. Nei saggi, condotti in cella climatica (23±2 °C, umidità relativa 50%, luce 150  $\mu$ E cm<sup>-2</sup> sec<sup>-1</sup>), ciascun FC è stato esaminato integro o dopo diluizione decimale con acqua distillata. Nelle tesi di controllo, i rametti hanno assorbito acqua distillata o substrato non inoculato. Dal terzo giorno dopo l'assorbimento, è stata osservata la manifestazione dei sintomi. Nei FC è stata accertata la presenza di scitalone,

isosclerone e pullulano seguendo le metodiche descritte da Bruno e Sparapano (2006a).

## Risultati e Discussione

Dalle 48 piante di olivo con sintomi di disseccamento rapido e presenza di *X. fastidiosa* (accertata mediante immunofluorescenza indiretta e isolamento in coltura), sono stati isolati *C. prunicola*, *P. aleophilum*, *P. inflatipes*, *P. parasiticum* e *N. parvum* (Tab. 1). La presenza di queste specie fungine associate alle piante di olivo infette da Co.Di.R.O, oggetto del presente studio, conferma quanto osservato in passato (Saponari et al. 2013, Carlucci et al. 2008, 2013, 2015, Nigro et al. 2013, 2014). Questi endofiti fungini, insieme a diverse specie del genere *Botryosphaeria*, sono ben noti agenti di malattie del legno su olivo, vite, pesco, querce e altre piante arboree (Denman et al. 2000, Phillips et al. 2002, Alves et al. 2004, Niekerk et al. 2004, Mostert et al. 2006, Damm et al. 2007, Burruano et al. 2008, Carlucci et al. 2008, Úrbez-Torres 2011, Spagnolo et al. 2014).

Tabella 1

Frequenze percentuali di isolamento<sup>a</sup> di micromiceti presenti nei rametti (R) o tasselli (T) di 'Ogliarola salentina'.

Micromiceti isolati	Matrice d'isolamento <sup>b</sup>	
	R	T
<i>Alternaria</i> spp.	8	7,5
<i>Aureobasidium</i> spp.	6,5	NP <sup>c</sup>
<i>Celerioriella (Phaeomoniella) prunicola</i>	10,0	14,0
<i>Fusarium</i> spp.	6,5	NP <sup>c</sup>
<i>Neofusicoccum parvum</i>	11,0	18,0
<i>Oidiodendron</i> spp.	4,5	2,5
<i>Paecilomyces</i> spp.	4,0	3,0
<i>Phaeoacremonium aleophilum</i>	10,0	13,0
<i>Phaeoacremonium inflatipes</i>	6,0	11,0
<i>Phaeoacremonium parasiticum</i>	3,5	3,0
Altri funghi	2,0	6,0
Isolamenti nulli	18,0	12,0

<sup>a</sup> calcolata come riportato da Ragazzi et al. (2003)

<sup>b</sup> Frammenti utilizzati: 305 da rametti e 275 da tronco

<sup>c</sup> NP = non presente

Ad eccezione delle specie di *Aureobasidium* e *Fusarium* ritrovati solo nei rametti, la presenza di tutti gli altri miceti isolati sia nel tronco che nei rametti indica una loro diffusione sistemica all'interno delle piante.

Sono oltre 133 le specie di miceti, incluse specie di *Alternaria*, *Aureobasidium* e *Aspergillus*, considerate "endofiti opportunistici" del microcosmo ospitato dalle piante di olivo (Petri 1915, Frisullo et al. 2002). Queste sono talvolta in grado di conferire resistenza a patogeni e insetti (Webber 1981), ma spesso contribuiscono ad aggravare gli effetti di stress biotici e abiotici partecipando al deperimento di molte piante arboree (Petrini 1991, Halmschlager 1992, Ragazzi et al. 2001), pur senza essere di per sé causa di malattie.

Alcuni funghi fitopatogeni producono fitotossine, ossia sostanze in grado, a concentrazioni molto basse, di danneggiare o addirittura portare alla morte cellule delle piante ospiti e non ospiti (Durbin 1981, Graniti 1996, Agrios 2005). In questo lavoro, FC saggiati su rametti

recisi di 'Ogliarola salentina' hanno evidenziato risposte diverse (Fig. 1).

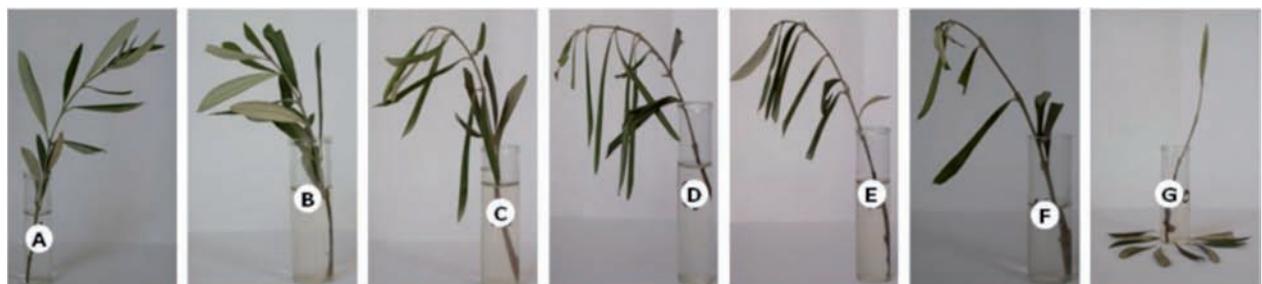


Fig. 1

Biosaggio su *Olea europaea* cv. 'Ogliarola salentina' con 3 ml di: A) acqua distillata, B) substrato non inoculato, filtrato culturale di C) *Celerioriella prunicola* isolato CprAzF8P4T1, D) *Phaeoacremonium inflatipes* isolato PinBF3P4Pi, E) *Pm. aleophilum* isolato PalArF2P1E, F) *Pm. parasiticum* isolato PpaGF3P3R1, G) *Neofusicoccum parvum* isolato NpaBF1P2R1. Le immagini riportano i rametti dopo 15 giorni dall'assorbimento delle soluzioni saggiate.

Ripiegamento, appassimento, ingiallimento o imbrunimento di ampie aree fogliari hanno caratterizzato i rametti che hanno assorbito i FC di *C. prunicola*, *P. inflatipes* e *P. aleophilum* (Fig. 1 C, D, E), mentre i FC di *P. parasiticum* e *N. parvum* hanno causato filloptosi di intensità diversa (Fig. 1 F, G). Nessun sintomo è stato osservato sui rametti delle tesi di controllo con acqua distillata o substrato non inoculato (Fig. 1 A, B). Dai diversi FC sono stati purificati e quantificati pullulano, scitalone e isosclerone, molecole che la letteratura associa a specie dei generi *Phaeoacremonium* e *Phaeomoniella* presenti su viti con venature brune del legno (Evidente et al. 2000, Tabacchi et al.

2000, Abou-Mansour et al. 2004, Bruno, Sparapano 2006a, b). Il pullulano è stato prodotto dagli isolati *Cpr*AzF8P4T1 di *C. prunicola* ( $900 \pm 102 \text{ mg l}^{-1}$ ), *Ppa*GF3P3R1 di *P. parasiticum* ( $585 \pm 65 \text{ mg l}^{-1}$ ), *Pal*ArF2P1E di *P. aleophilum* ( $75 \pm 8 \text{ mg l}^{-1}$ ) e *Pin*BF3P4Pi di *P. inflatipes* ( $0,1 \pm 0,02 \text{ mg l}^{-1}$ ). Lo scitalone è presente nei FC di *P. parasiticum* ( $22 \pm 2,3 \text{ mg l}^{-1}$ ), *P. aleophilum* ( $20 \pm 1,9 \text{ mg l}^{-1}$ ), *Npa*BF1P2R1 di *N. parvum* ( $14 \pm 1,8 \text{ mg l}^{-1}$ ) e *C. prunicola* ( $8,5 \pm 0,77 \text{ mg l}^{-1}$ ). L'isosclerone caratterizza *P. aleophilum*, *P. parasiticum*, *P. inflatipes* e *C. prunicola* (Fig. 2). Scitalone e isosclerone sono due pentacetidi che, insieme ad altri naftochinoni, sono parte integrante della via

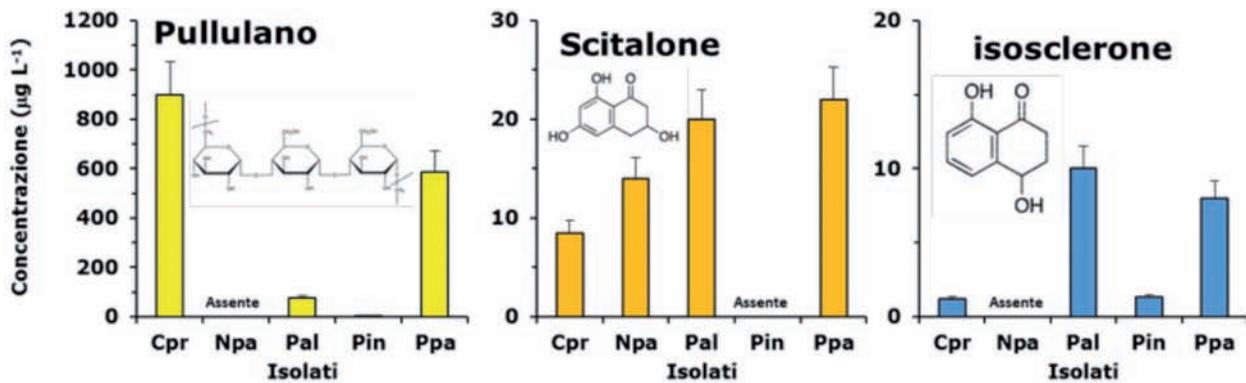


Fig. 2

Produzione di pullulano, scitalone e isosclerone in coltura liquida statica (28 giorni,  $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ , al buio) di: *Celerioriella prunicola* (*Cpr*), *Neofusicoccum parvum* (*Npa*), *Phaeoacremonium inflatipes* (*Pin*), *P. aleophilum* (*Pal*) e *P. parasiticum* (*Ppa*). Ciascun valore rappresenta la media di 6 ripetizioni  $\pm$  d.s.

biosintetica delle melanine: lo scitalone è un metabolita intermedio delle DHN-melanine, l'isosclerone è un prodotto di ossidazione del precursore 1,3,8-triidrossinaftalene (Wheeler 1982, Evidente et al. 2000, 2010). Le melanine sono pigmenti di natura fenolica, colorati dal marrone al nero, a elevato peso molecolare, presenti in tessuti animali, vegetali e prodotte da vari funghi quali *Verticillium dahliae* Klebahn, *Thielaviopsis basicola* (Berk. & Broome) Ferraris, *Pyricularia oryzae* Cavara, *Phaeoconiella chlamydospora* (W. Gams, Crous, M.J. Wingf. & Mugnai) Crous & W. Gams e specie di *Phaeoacremonium*. Il loro accumulo nei tessuti vegetali è stato messo in relazione con la colorazione bruno nerastra che assumono le parti alterate del legno di viti colpite da venature brune del legno (Pascoe, Cottral 2000). L'isosclerone è prodotto anche da *N. parvum* (Evidente et al. 2010, Abou-Mansour et al. 2015), patogeno cosmopolita, endofita asintomatico di almeno 90 specie di angiosperme, arboree e arbustive, e di alcune conifere (Slippers, Wingfield 2007, Golzar, Burgess 2011, Urbez-Torres, Gubler 2011, Sidoti 2016). Il pullulano è un omopolimero del maltotriosio con legame  $\alpha$ -1,6. Questo polisaccaride, isolato per la prima volta da colture del fungo *Aureobasidium pullulans* (De Bary) G. Arnaud (Barros-Velazquez 2015), è prodotto anche da importanti funghi fitopatogeni come *Cryphonectria parasitica* (Murrill) M.E. Barr (Forabosco et al. 2006), *P. aleophilum* e *Pa. chlamydospora* (Bruno, Sparapano 2006b). Questo polimero, per gli organismi produttori svolge funzione di protezione contro essiccazione e predazione ed è utilizzato nella farmacopea per racchiudere farmaci in compresse e capsule, e, con la sigla E1204, nell'industria alimentare (Satyanarayana et al 2012). Diversi studi sono stati condotti sulle caratteristiche tossigeniche di queste tre molecole e per stabilire il loro ruolo nel 'mal dell'esca' della vite e nelle altre malattie in cui sono coinvolte. Lo scitalone, saggiato su foglie di vite 'Italia', causa macchie clorotiche irregolari, marginali o internervali. L'isosclerone, sempre su foglie recise di 'Italia', causa macchie estese, prima clorotiche, poi coalescenti e necrotiche, cui è accompagnata la distorsione della lamina fogliare. Soluzioni acquose di pullulano, assorbite da foglie recise di vite, sono traslocate sino ai parenchimi fogliari, e causano clorosi internervali che divengono brune o rossicce, poi necrotiche (Evidente et al. 2000, Sparapano et al. 2000, Bruno, Sparapano 2006a).

Nei risultati dei saggi su rametti recisi, l'accartocciamento fogliare è uno dei sintomi che accomuna tutti i FC saggiati (Fig. 1).

I dati riportati in questo lavoro confermano le capacità tossigeniche dei funghi inseriti nei generi *Phaeoacremonium*, *Phaeoconiella* e *Neofusicoccum*. I sintomi fogliari osservati nelle prove con rametti recisi di olivo della cv. 'Ogliarola salentina' suggeriscono che le tossine prodotte dai funghi possano avere un ruolo nella senescenza anticipata delle foglie, anche se in nessun caso i filtrati colturali saggiati hanno causato sintomi di bruscatura tipici del Disseccamento Rapido dell'Olivo, indicando che altre molecole o cause potrebbero indurre su 'Ogliarola salentina' questa sintomatologia.

Tuttavia, le molecole fitotossiche prodotte da ciascuna specie fungina, accumulandosi nelle foglie, alterano la normale fisiologia, determinando il cambiamento di colore e l'abscissione.

In conclusione, le prove eseguite dimostrano che i cinque isolati delle specie fungine endofiti di piante di olivo affette da disseccamento rapido producono metaboliti secondari in grado di causare sintomi diversi sulle foglie di 'Ogliarola salentina', ma non del tutto coincidenti con quelli descritti per la suddetta sindrome. Resta comunque da approfondire il ruolo di queste sostanze nella pianta ospite e le eventuali interazioni con i funghi lignicoli e le infezioni di *X. Fastidiosa*, nonostante che questa specie batterica sia stata ritenuta l'unica responsabile della "Sindrome del Disseccamento Rapido dell'Olivo" (EFSA 2015, Martelli et al. 2016).

**Ringraziamenti** - Gli autori ringraziano Luca Scarola e Francesco Mannerucci (Dipartimento di Scienze del Suolo della Pianta e degli Alimenti, Università degli Studi di Bari Aldo Moro) per il valido supporto tecnico nella realizzazione delle prove. Questo lavoro è stato in parte realizzato nell'ambito del progetto "Prove di Lotta contro *Xylella fastidiosa* su Ogliarola (acronimo Pro.Lo.Co.Ogliarola)" finanziato dalla Regione Puglia nell'ambito dei Bandi Pubblici di Ricerca a valere su "Linee guida per il parco della ricerca e sperimentazione finalizzata alla prevenzione e al contenimento del complesso del disseccamento rapido dell'olivo (CODIRO)".

### Letteratura citata

- Abou-Mansour E, Couche E, Tabacchi R (2004) Do fungal naphthalenones have a role in the development of esca symptoms? *Phytopathologia Mediterranea* 43: 75-82.
- Abou-Mansour E, Débieux J-L, Ramírez-Suero M, Bénard-Gellon M, Magnin-Robert M, Spagnolo A, Chong J, Farine S, Bertsch S, L'Haridon F, Serrano M, Fontaine F, Rego C, Larignon F (2015) Phytotoxic metabolites from *Neofusicoccum parvum*, a pathogen of *Botryosphaeria* dieback of grapevine. *Phytochemistry* 115: 207-215.
- Agrios GN (2005) *Plant Pathology*, 5th Ed. Academic Press, San Diego, CA.
- Alves A, Luque J, Phillips AJL (2004) *Botryosphaeria corticola* sp. nov. on *Quercus* species, with notes and description of *Botryosphaeria stevensii* and its anamorph, *Diplodia mutila*. *Mycologia* 96: 598-613.
- Barros-Velazquez J (2015) *Antimicrobial food packaging*, Academic Press, New York.
- Bruno G, Sparapano L (2006a) Effects of three esca-associated fungi on *Vitis vinifera* L. I. Characterization of secondary metabolites in culture media and host responses to the pathogens in calli. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 69: 209-223.
- Bruno G, Sparapano L (2006b) Effects of three esca-associated fungi on *Vitis vinifera* L. II. Characterization of biomolecules in xylem sap and leaves of healthy and diseased vines. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 69: 195-208.
- Burruano S, Mondello V, Conigliaro G, Alfonzo A, Spagnolo A, Mugnai L (2008) Grapevine decline in Italy caused by *Lasiodiplodia theobromae*. *Phytopathologia Mediterranea* 47: 132-136.
- Carlucci A, Lops F, Cibelli F, Raimondo ML (2015) *Phaeoacremonium* species associated with olive wilt and decline in southern Italy. *European Journal of Plant Pathology* 141(4): 717-729.
- Carlucci A, Lops F, Raimondo ML, Gentile V, Colatruglio L, Mucci M, Frisullo S (2008) Comportamento patogenetico di alcuni isolati fungini associati a striature brune del legno di olivo. *Petria* 18(1): 15-25.
- Carlucci A, Raimondo ML, Cibelli F, Phillips AJL, Lops F. (2013) *Pleurostomophora richardsiae*, *Neofusicoccum parvum* and *Phaeoacremonium aleophilum* associated with a decline of olives in southern Italy. *Phytopathologia Mediterranea* 52: 517-527.
- Damm U, Crous PW, Fourie PH (2007) *Botryosphaeriaceae* as potential pathogens of *Prunus* species in South Africa, with descriptions of *Diplodia africana* and *Lasiodiplodia plurivora* sp. nov. *Mycologia* 99: 664-680.
- Denman S, Crous PW, Taylor JE, Pascoe I, Wingfield MJ (2000) An overview of the taxonomic history of *Botryosphaeria*, and a re-evaluation of its anamorphs based on morphology and ITS rDNA phylogeny. *Studies in Mycology* 45: 129-140.
- Durbin RD (1981) *Toxins in Plant Disease*. Academic Press, New York.
- European Food Safety Authority (2015). Scientific Opinion on the risk to plant health posed by *Xylella fastidiosa* in the EU territory, with the identification and evaluation of risk reduction options. *EFSA Journal* 2015, 13(1): 3989.
- Evidente A, Peduto F, Andolfi A, Marchi G, Mugnai L, Surico G (2010) Fattori di virulenza dei funghi dell'esca. Fitotossine da *Phaeoacremonium aleophilum*, *Phaeoacremonium aleophilum* e *Fomitiporia mediterranea*: produzione e attività biologica. In: Surico G, Mugnai L (Eds.) Il mal dell'esca della vite: interventi di ricerca e sperimentazione per il contenimento della malattia. Progetto MesVit. Arsia Regione Toscana, Firenze, Italy: 214-231.
- Evidente A, Sparapano L, Andolfi A, Bruno G (2000) Two naphthalenone pentaketides isolated from liquid cultures of *Phaeoacremonium aleophilum*, a fungus associated with esca disease syndrome. *Phytopathologia Mediterranea* 39: 162-168.
- Forabosco A, Bruno G, Sparapano L, Liut G, Marino D, Delben F (2006) Pullulans produced by strains of *Cryphonectria parasitica*. I. Production and characterization of the exopolysaccharides. *Carbohydrate Polymer* 63(4): 535-544.
- Frisullo S, Lops F, Carlucci A (2002) Indagini sui funghi endofiti nei rametti di olivo apparentemente sani con foglie e malati defogliati. In: Franceschini A e Marras F (Eds.) Atti Convegno Nazionale "L'Endofitismo di funghi e batteri patogeni in piante arboree ed arbustive". Tempio Pausania (Sassari), 19-21 maggio 2002: 113-125.
- Golzar H, Burgess TI (2011) *Neofusicoccum parvum*, a causal agent associated with cankers and decline of Norfolk Island pine in Australia. *Australasian Plant Pathology* 40: 484-489.
- Graniti A (1996) Microrganismi fitopatogeni e metaboliti attivi. *Petria* 6: 17-27.
- Halmschlagler E (1992) Endophytic fungi and oak decline. In: Proceedings of the International Congress "Recent advances in studies on Oak Decline". Selva di Fasano (Brindisi) Italy, 13-18 September 1992: 77-83.
- Martelli GP, Boscia D, Porcelli F, Saponari M. (2016) The olive quick decline syndrome in south-east Italy: a threatening phytosanitary emergency. *European Journal of Plant Pathology* 144: 235-243.

- Mostert L, Groenewald JZ, Summerbell RC, Gams W, Crous PW (2006) Taxonomy and pathology of *Togninia* (Diaporthales) and its *Phaeoacremonium* anamorphs. *Studies in Mycology* 54: 1-113.
- Niekerk van JM, Crous PW, Groenewald JZ, Fourie PH, Halleen F (2004) DNA phylogeny, morphology and pathogenicity of *Botryosphaeria* species on grapevines. *Mycologia* 96: 781-798.
- Nigro F, Antelmi I, Ippolito A. (2014) Identification and characterization of fungal species associated with the olive quick decline syndrome. In: International symposium on the European outbreak of *Xylella fastidiosa* in olive. *Journal of Plant Pathology* 96: S4.101.
- Nigro F, Boscia D, Antelmi I, Ippolito A. (2013). Fungal species associated with a severe decline of Olive in Southern Italy. *Journal of Plant Pathology* 95: 668.
- Pascoe IG, Cottral E (2000) Developments in grapevine trunk diseases research in Australia. *Phytopathologia Mediterranea* 39: 68-75.
- Pascoe I, Cottral E. (2000) Developments in grapevine trunk diseases research in Australia. *Phytopathologia Mediterranea* 39: 68-75.
- Petri L (1915) Le malattie dell'olivo. Manuale per l'identificazione delle malattie non parassitarie e di quelle prodotte da parassiti vegetali, con speciale riguardo ai mezzi per combatterle. Istituto micrografico italiano.
- Petrini O (1991) Fungal endophytes in the leaves. In: Andrews JH, Hirano SS (Eds) *Microbial ecology of leaves*: 179-197. Springer-Verlag, New York.
- Phillips AJL, Fonseca F, Pova V, Castilho R, Nolasco G (2002) A reassessment of the anamorphic fungus *Fusicoccum luteum* and description of its teleomorph *Botryosphaeria lutea* sp. nov. *Sydowia* 54: 59-77.
- Ragazzi A, Moricca S, Capretti P, Dellavalle I, Mancini F, Turco E (2001) Endophytic fungi in *Quercus cerris*: isolation frequency in relation to phenological phase, tree health and the organ affected. *Phytopathologia Mediterranea* 40: 165-171.
- Ragazzi A, Moricca S, Capretti P, Dellavalle I, Turco E (2003) Differences in composition of endophytic mycobiota in twigs and leaves of healthy and declining *Quercus* species in Italy. *Forest Pathology* 33: 31-38.
- Saponari M, Boscia D, Nigro F, Martelli GP (2013) Identification of DNA sequences related to *Xylella fastidiosa* in oleander, almond and olive trees exhibiting leaf scorch symptoms in Apulia (southern Italy). *Journal of Plant Pathology* 95: 668.
- Satyanarayana T, Johri BN, Prakash A (2012) *Microorganisms in sustainable agriculture and biotechnology*. Springer Science & Business Media
- Sidoti A (2016) Canker and decline caused by *Neofusicoccum parvum* on *Acacia melanoxylon* in Italy. *Forest@-Journal of Silviculture and Forest Ecology* 13: 41-46.
- Slippers B, Wingfield MJ (2007) Botryosphaeriaceae as endophytes and latent pathogens of woody plants: diversity, ecology and impact. *Fungal Biological Reviews* 21: 90-106.
- Spagnolo A, Magnin-Robert M, Alayi TD, Cilindre C, Schaeffer-Reiss C, Van Dorsselaer A, Clément C, Larignon P, Ramirez-Suero M, Chong J, Bertsch C, Abou-Mansour E, Fontaine F (2014) Differential responses of three grapevine cultivars to *Botryosphaeria dieback*. *Phytopathology* 104(10): 1021-1035.
- Sparapano L, Bruno G, Graniti A (2000) Effects on plants of metabolites produced in culture by *Phaeoacremonium chlamydosporum*, *P. aleophilum* and *Fomitiporia punctata*. *Phytopathologia Mediterranea* 39: 169-177.
- Tabacchi R, Fkyerat A, Poliart C, Dubin GM (2000) Phytotoxins from fungi of esca of grapevine. *Phytopathologia Mediterranea* 39: 156-161.
- Úrbez-Torres JR (2011) The status of Botryosphaeriaceae species infecting grapevines. *Phytopathologia Mediterranea* 50: S5-S45.
- Úrbez-Torres JR, Gubler WD (2011) Susceptibility of grapevine pruning wounds to infection by *Lasiodiplodia theobromae* and *Neofusicoccum parvum*. *Plant Pathology* 60: 261-270.
- Webber JF (1981) A natural biological control of Dutch elm disease. *Nature* 292: 449-451.
- Wheeler MH (1982) Melanin biosynthesis in *Verticillium dahliae*: dehydration and reduction reactions in cell-free homogenates. *Experimental Mycology* 6: 171-179.

#### AUTORI

Giovanni Luigi Bruno (giovanniluigi.bruno@uniba.it), Cariddi Corrado, Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti (Di.S.S.P.A.), Università di Bari Aldo Moro, Via G. Amendola 165/A, 70126 Bari

Franca Tommasi (franca.tommasi@uniba.it), Ilaria Di Tarsia, Dipartimento di Biologia, Università di Bari Aldo Moro, Via Orabona 4, 70125 Bari

Autore di riferimento: Giovanni Luigi Bruno