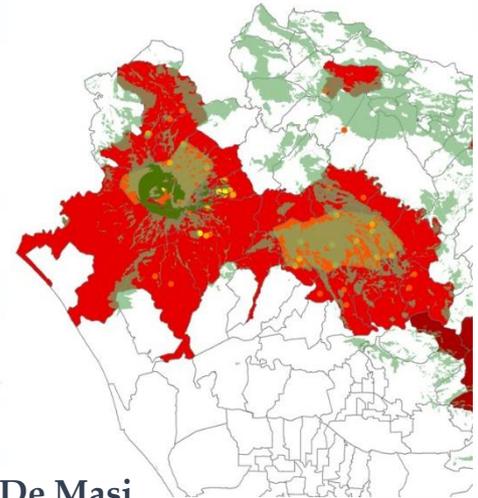
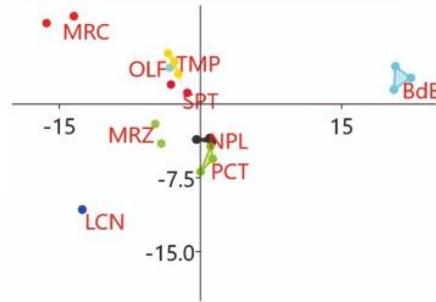
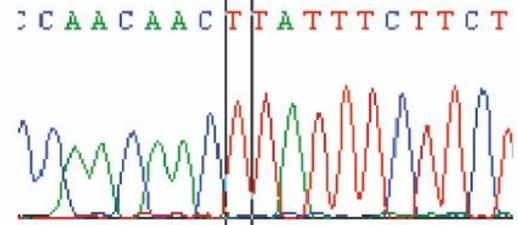
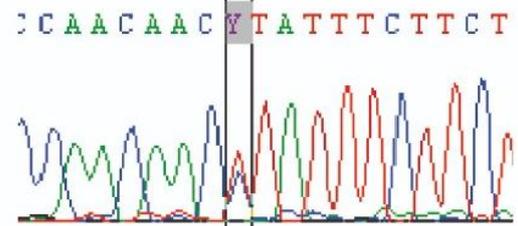




TRASFERIMENTO DI INNOVAZIONE PER LA VALORIZZAZIONE DEL CASTAGNO DA FRUTTO



a cura di
Marina Maura Calandrelli e Luigi De Masi



Consiglio Nazionale delle Ricerche
Istituto di Ricerca sugli Ecosistemi Terrestri
© Cnr Edizioni, anno 2022
Piazzale Aldo Moro, 7 - 00185 Roma
www.edizioni.cnr.it

ISBN 978-88-8080-366-9 (electronic edition)
DOI: <https://doi.org/10.61008/CASTARRAY2022>



Una valutazione tra pari ha approvato i contenuti del volume

TRASFERIMENTO DI INNOVAZIONE PER LA VALORIZZAZIONE DEL CASTAGNO DA FRUTTO

Curatori

Marina Maura Calandrelli - CNR, Istituto di Ricerca sugli Ecosistemi Terrestri (IRET), <https://www.iret.cnr.it>

Luigi De Masi - CNR, Istituto di Bioscienze e Biorisorse (IBBR), <https://www.ibbr.cnr.it>

Autori in ordine alfabetico

Andrea Becchimanzi, Marina Maura Calandrelli, Mario Conti, Emiddio de Franciscis di Casanova,
Luigi De Masi, Flora Della Valle, Franco Di Pippo, Elvira Ferrara, Rosario Nicoletti, Angelina Nunziata,
Milena Petriccione, Giulia Verrilli

Progetto grafico, coordinamento editoriale e impaginazione

Marina Maura Calandrelli

Immagine copertina

Marina Maura Calandrelli, Francesco Caracciolo, Angelina Nunziata

Ringraziamenti

Le attività svolte nell'ambito del progetto "CASTARRAY" sono state finanziate dalla Regione Campania in attuazione del Piano di Sviluppo Rurale (PSR) 2014-2020. Il Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA) è stato il coordinatore del progetto. Il Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR) e l'Azienda agricola "Franco Di Pippo" sono stati Partner del progetto.

Indice

<i>Prefazione</i>	pag.	7
Flora Della Valle, Emiddio de Franciscis di Casanova		
<i>Cenni di biogeografia ed etnobotanica del castagno</i>	“	11
Elvira Ferrara, Milena Petriccione		
<i>La castanicoltura in Campania: stato di fatto e sviluppi futuri</i>	“	27
Marina Maura Calandrelli		
<i>Profili genetico-molecolari per l'identificazione varietale del castagno</i>	“	41
Luigi De Masi		
<i>Fattibilità tecnica del trasferimento alla filiera castanicola di strumenti per il riconoscimento genetico varietale</i>	“	57
Angelina Nunziata, Giulia Verrilli, Elvira Ferrara		
<i>Risposta del castagno alle avversità, miceti endofiti e ruolo ecologico</i>	“	69
Rosario Nicoletti, Andrea Becchimanzi, Luigi De Masi		
<i>Attività agronomiche e studi di fattibilità di un'azienda castanicola pilota</i>	“	91
Mario Conti, Franco Di Pippo		

Risposta del castagno alle avversità, miceti endofiti e ruolo ecologico

Rosario Nicoletti ^{1,*}, Andrea Becchimanzi ², Luigi De Masi ^{3,*}

Affiliazioni

¹ CREA - Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria, Centro di Ricerca per l'Olivicoltura, la Frutticoltura e l'Agrumicoltura (OFA), Via Torrino, 3 - 81100 Caserta

² Dipartimento di Agraria, Università degli Studi di Napoli "Federico II", Via Università, 100 - 80055 Portici (NA)

³ CNR - Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto di Bioscienze e Biorisorse (IBBR), Via Università, 133 - 80055 Portici

*Email: rosario.nicoletti@crea.gov.it; luigi.demasi@ibbr.cnr.it

Introduzione

Il castagno europeo (*Castanea sativa* Mill.) è un albero da frutto con enorme impatto socio-economico nel settore agro-forestale, fornendo molteplici servizi ecosistemici essenziali. Studi relativamente recenti, inoltre, hanno dimostrato come la composizione dei frutti e della biomassa non utilizzabile a scopo alimentare sia rilevante ai fini salutistici [De Vasconcelos et al., 2010; Vella et al. 2019]. Nonostante ciò, per molti anni la coltivazione del castagno in Europa è stata interessata da diversi problemi, che hanno portato ad un drammatico collasso dell'intero sistema produttivo, in particolare nelle aree dove le produzioni castanicole concorrevano in misura sostanziale al reddito delle popolazioni residenti. In aggiunta ad aspetti di carattere socio-economico, la progressiva introduzione di nuovi parassiti e malattie ha causato ingenti danni alle coltivazioni di *C. sativa*, soprattutto in relazione alle varie difficoltà che connotano la gestione fitosanitaria di questa specie. Infatti, a differenza della maggior parte delle colture agrarie, il castagneto è pienamente inserito in un ecosistema montano che lo rende particolarmente esposto ai fattori biotici ed abiotici che ne disturbano l'equilibrio, e che rende problematica l'adozione di misure di controllo delle avversità con i metodi in uso nelle

aziende agrarie tradizionali. Quindi, più che in altre colture, nel caso del castagno si è affermata via via la consapevolezza che la lotta contro patogeni e parassiti andasse condotta con l'uso di metodiche ecocompatibili e in grado di ripristinare le condizioni di equilibrio alterate a seguito dell'introduzione di nuovi agenti nocivi. La visione della pianta come olobionte (un "superorganismo" formato dalla pianta ospite insieme ai suoi microrganismi simbiotici, il microbiota), introdotta da Margulis nel 1991 e recentemente affermata, ha indotto altresì a considerare tra questi metodi non solo quelli intesi ad intervenire direttamente sulla pianta (es. introduzione di ibridi resistenti) o sull'agente nocivo (es. lotta biologica), ma anche quelli basati sull'intermediazione della componente microbiologica associata [Morrison et al. 2021]. Di questa è ormai acclarato un fondamentale ruolo di supporto che si estrinseca nel miglioramento delle condizioni nutrizionali e nel cosiddetto 'mutualismo difensivo' [Saikkonen et al. 2010], quest'ultimo considerato fortemente dipendente dalla costituzione genetica della pianta [Tucci et al. 2011].

In questo capitolo vengono esaminate principalmente le proprietà dei miceti endofiti associati al castagno alla luce delle recenti acquisizioni desumibili dalla letteratura.

Il genotipo del castagno nella difesa dalle avversità

L'estremamente ampia diversità genetica oggi presente in *C. sativa*, rappresentata dalle centinaia di varietà locali e dalle popolazioni naturali, è il risultato dell'evoluzione a partire dalla variabilità naturale originaria, che nel caso delle cultivar è stata oggetto di selezione e miglioramento ad opera dell'attività umana. A conferma di ciò, numerosi studi hanno evidenziato differenze molecolari (polimorfismi) nel patrimonio genetico (genoma) di varietà tradizionali di castagno europeo mediante marcatori molecolari tradizionali [Silvanini et al. 2011], che contribuiscono a definire con certezza il "profilo del DNA" caratteristico di ciascuna varietà. Il primo studio di caratterizzazione genetico-molecolare del germoplasma varietale di *C. sativa* è stato effettuato in Italia (Galderisi et al. 1998) con fine di identificare e, successivamente, valorizzare importanti cultivar di castagno da frutto della Campania, regione con un'antichissima tradizione in castanicoltura e particolarmente rinomata per la produzione di castagne di qualità. A poca distanza, uno studio simile è stato condotto anche sul germoplasma coltivato e naturale di *C. sativa* in Calabria (De Masi et al. 2004). Più di

recente, con metodiche basate sul sequenziamento di brevi tratti del genoma, sono stati osservati nuovi polimorfismi a livello di singole basi nucleotidiche del DNA (SNP, Polimorfismo a Singolo Nucleotide) di cultivar pregiate di castagno della Campania [Nunziata et al. 2020]. Questi risultati potranno favorire l'avvio di programmi di miglioramento genetico nel castagno [Santos et al. 2017; Freitas et al. 2021]. Infatti, i marcatori SNP rappresentano potenti strumenti molecolari non solo per l'identificazione varietale, ma utilizzabili anche per far fronte alle nuove avversità e alla minaccia dei cambiamenti climatici, in quanto possono contribuire alla caratterizzazione delle risposte della pianta a stressori abiotici (temperatura, salinità, siccità etc.) e biotici (patogeni e parassiti). Nel castagno, la variabilità genetica naturale, utilizzabile come fonte di nuovi geni e nuovi alleli (varianti di uno stesso gene) per la resistenza/tolleranza a fitopatie (malattie e parassiti), è una risorsa importante ed imprescindibile per la selezione clonale e il miglioramento varietale. Nell'epoca dei cambiamenti climatici e delle nuove avversità del castagno (connesse alla globalizzazione), il miglioramento genetico (tradizionale o mediante *genome editing*) è un valido strumento a nostra disposizione per affrontare le sfide attuali e future, in quanto consente di favorire la resilienza eco-sostenibile attraverso la riduzione degli input chimici in agricoltura (pesticidi, erbicidi etc.). A livello globale, il rapido cambiamento climatico tuttora in atto è ritenuto come uno dei principali responsabili della riduzione di biodiversità negli ecosistemi castanicoli [Freitas et al. 2021].

Nel tempo, l'ambiente naturale ha fortemente contribuito nel plasmare la diversità genetica castanicola attraverso le accentuate differenze edafoclimatiche a livello locale. Difatti, se posti nelle stesse condizioni di coltivazione, alberi di varietà differenti di castagno mostrano differenti comportamenti fenologici, che sono evidentemente influenzati dalle caratteristiche genetiche individuali. Tra le differenze più evidenti a livello produttivo, la varietà 'Tempestiva' originaria di Roccamonfina (CE) è caratterizzata da una produzione molto precoce, già nella prima metà di settembre, che ne determina un particolare apprezzamento e interesse commerciale. Allo stesso modo, particolari composti biochimici sono strettamente connessi con le condizioni edafoclimatiche [Freitas et al. 2021], tuttavia a parità di condizioni di coltivazione gli stessi caratterizzano le singole varietà di castagno [Vella et al. 2019]. Complessivamente, le differenze fisiologiche, fenologiche, morfologiche, anatomiche, e biochimico-composizionali dei genotipi di castagno possono essere associate su base genetica con le loro capacità adattative ai differenti fattori locali di stress abiotici e biotici [Freitas et al.

2021]. Recenti studi hanno dimostrato come specifiche condizioni climatiche hanno influenzato la distribuzione e la fissazione di numerosi alleli portando all'adattamento locale dei castagneti naturali nel loro habitat, evidenziando così la stretta interrelazione esistente tra clima e genotipo [Castellana et al. 2021]. In altre parole, in archi di tempo estremamente lunghi, la variazione adattativa tra le popolazioni naturali ha determinato la distribuzione geografica del castagno a partire dalle caratteristiche genetiche originarie.

In Europa sono stati effettuati i primi incroci interspecifici tra *C. sativa* e *C. crenata* presso l'Istituto Nazionale per la Ricerca Agronomica (INRA, Francia) con lo scopo di introdurre nel castagno europeo i geni della resistenza al cancro della corteccia, causato da *C. parasitica*, e al mal dell'inchiostro, causato dagli oomiceti patogeni *Phytophthora cambivora* o *P. cinnamomi*. A questo proposito, è stata recentemente sviluppata la prima mappa genetica inter-specifica, derivata da popolazioni ibride di castagno euro-giapponese (*C. sativa* x *C. crenata*), che ha rivelato due regioni genetiche associate con la resistenza a *P. cinnamomi* utili per la selezione di marcatori molecolari e geni candidati [Santos et al. 2017]. I risultati ottenuti sono consistenti con un precedente studio preliminare su popolazioni ibride di castagno, *C. dentata* (americano) x *C. mollissima* (cinese), indicando l'esistenza di un meccanismo di difesa a *P. cinnamomi* comune alle diverse specie di castagno. La conoscenza approfondita delle basi genetiche della resistenza al mal dell'inchiostro e al cancro della corteccia nel genere *Castanea* consentirà di sviluppare programmi di breeding per ottenere castagni europei tolleranti/resistenti a queste malattie.

La specie aliena invasiva *Dryocosmus kuriphilus* Y. (1951), più nota nel settore come cinipide galligeno del castagno, originaria della Cina e accidentalmente introdotta in Europa per la prima volta nel 2002, ha compromesso l'intera filiera castanicola e messo a rischio la biodiversità a livello locale del castagno europeo. Le larve del cinipide causano estesi danni ai castagneti attraverso la formazione di numerose galle su gemme e foglie, riducendone l'attività fotosintetica e, di conseguenza, la crescita e la produttività. In Europa, a partire dal 2005, il controllo dell'infestazione di *D. kuriphilus* è ottenuto principalmente ricorrendo alla lotta biologica utilizzando il parassitoide *Torymus sinensis* Kamijo (1982). Una pratica comune in castanicoltura per migliorare la produzione dei frutti e del legno o i portainnesti è l'introduzione di ibridi interspecifici. Il castagno "Bouche de Bétizac" è una cultivar euro-giapponese derivata da ibridazione interspecifica tramite l'incrocio di 'Bouche Rouge' (*C. sativa*) x selezione CA04 (*C. crenata*) nel 1962, ben adattata in Europa con resistenza a diverse

avversità biotiche ed abiotiche, fornendo nel contempo castagne di buona qualità e rese elevate. L'ibrido Bouche de Bétizac è noto principalmente proprio per essere resistente all'imenottero cinipide galligeno del castagno (*D. kuriphilus* Y.). In pratica, nonostante che il cinipide riesca a deporre le uova nelle gemme dormienti di questa cultivar, nell'anno successivo lo sviluppo delle larve non raggiunge il completamento e non si formano galle. Questo effetto è causato da una repentina risposta di difesa della pianta, dovuta ad una reazione di ipersensibilità (*Hypersensitive Reaction*, HR) evocata tipicamente nelle gemme della cultivar ibrida, ma assente nelle cultivar di *C. sativa* suscettibili al cinipide come 'Madonna' [Dini et al. 2012]. Nelle piante, la HR è innescata dalla produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS), come il perossido di idrogeno H₂O₂, che conduce alla morte cellulare programmata (apoptosi) delle cellule vicine al sito di infezione con lo scopo di bloccare lo sviluppo del patogeno attraverso la privazione di sostanze nutritive e la creazione di un ambiente altamente ossidante che ne danneggia le strutture cellulari. Nella cultivar 'Bouche de Bétizac', l'analisi dell'espressione genica di un marker legato alle vie biochimiche dello stress ossidativo ha confermato che la sintesi di H₂O₂ è legata alla HR e porta alla morte della larva in risposta all'infestazione del cinipide [Dini et al. 2012].

Da studi successivi di segregazione del tratto di resistenza al cinipide nella prima generazione filiale (F1) derivante da incroci tra l'ibrido 'Bouche de Bétizac' e la cultivar di *C. sativa* 'Madonna' suscettibile al cinipide, è stato identificato un carattere monogenico (R) ereditato in maniera mendeliana semplice che determina la resistenza al cinipide [Torello-Marinoni et al. 2020]. Entrando più nel dettaglio dello studio, è stato conseguito come importante risultato l'identificazione di due geni candidati putativamente coinvolti nella risposta di resistenza al cinipide. Inoltre, recentemente, è stato rinvenuto in Campania un ecotipo di *C. sativa*, noto con la denominazione di 'Salernitano Rosso', che si è dimostrato moderatamente resistente al *D. kuriphilus* [Nugnes et al. 2018]. Sono stati anche individuati, e sono tuttora in corso di caratterizzazione, diversi genotipi locali resistenti/tolleranti al cinipide galligeno nell'ambito del Progetto Speciale Castagno presso la sede di Caserta del CREA-OFA. Questi risultati hanno un potenziale strategico per i futuri programmi di miglioramento genetico di *C. sativa*, in quanto il tratto di resistenza al cinipide può essere trasferito in maniera relativamente semplice tra alberi della stessa specie.

Complessivamente, gli studi di ibridazione interspecifica sono stati condotti per migliorare i punti di debolezza di ciascuna specie di castagno; mentre le attività di ricerca sul germoplasma castanicolo hanno consentito di caratterizzare il materiale genetico in funzione delle esigenze produttive e di resilienza, col fine di dare dei contributi concreti per fronteggiare la crisi della castanicoltura. La diversità genetica disponibile rappresenta una importante opzione eco-sostenibile per migliorare le performance dei nuovi castagneti attraverso lo sviluppo di nuove cultivar. Inoltre, la protezione dall'erosione genetica del germoplasma castanicolo *in situ* e *ex situ* è essenziale per la resilienza ai futuri e imprevedibili scenari ambientali.

Importanza dei miceti nella gestione della coltura del castagno

I funghi rappresentano senza dubbio il principale gruppo di microrganismi associati alle piante di castagno, influenzandone variamente l'adattamento ecologico. Naturalmente, in questa sede, non saranno direttamente considerati quelli che hanno un impatto negativo, sia in quanto agenti di malattie della pianta che per gli effetti da essi occasionalmente prodotti sulla qualità e la serbevolezza dei frutti.

Tra i funghi in grado di concorrere positivamente allo sviluppo e alla produzione dei castagneti, un ruolo primario è svolto dalle specie associate alle radici, molte delle quali sono meglio note come promotrici di micorrize. I funghi ectomicorrizici (EMF) che si sviluppano abbondantemente sulle estreme propaggini dell'apparato radicale sono ben documentati come simbionti delle specie di *Castanea* [Aryal et al. 2020], e forniscono indiscutibili effetti benefici all'ecosistema del castagneto. Stimolano, infatti, il rilascio di nutrienti dal complesso di adsorbimento del suolo, rendendoli disponibili alla pianta ospite. Inoltre, il costante accesso alle risorse idriche e minerali rende gli alberi più resistenti agli stress biotici e abiotici.

La composizione del complesso dei funghi micorrizici cambia con l'età degli alberi. Gli alberi maturi possono ospitare fino a 46 specie di EMF [Baptista et al. 2010], mentre 39 generi di EMF sono stati individuati sulle radici di castagni centenari [Reis et al. 2016]. I giovani castagni sono ospiti di specie 'precoci', come *Scleroderma* spp., *Laccaria* spp. e *Cenococcum geophilum*. La capacità di rapida colonizzazione di questi funghi su giovani apparati radicali, anche in condizioni di stress, può essere sfruttata per l'inoculazione in vivaio [Twieg et al. 2007; Itoo e Reshi 2014]. Le specie di *Amanita*, *Boletus*, *Cantharellus*, *Cortinarius*, *Lactarius*, *Russula* e *Tricholoma*,

che generalmente dominano nei castagneti maturi, rivestono particolare interesse in quanto possibile fonte di ulteriori profitti per le comunità locali [Peintner et al. 2007; Martins et al. 2011]. Inoltre, sono state effettuate con successo prove che hanno dimostrato la capacità delle specie di tartufo (*Tuber aestivum*, *T. uncinatum* e *T. brumale*) di colonizzare le radici di *C. sativa*. Il recente sviluppo di protocolli per l'inoculazione con queste specie assume quindi grande rilevanza economica [Álvarez-Lafuente et al. 2018].

In termini più specificamente protettivi, degni di nota sono i casi di specie dei generi *Hebeloma*, *Laccaria* e *Paxillus*, la cui inoculazione è risultata in grado di diminuire i sintomi in piante di *C. sativa* infette dal mal dell'inchiostro causato da *P. cambivora* e *P. cinnamomi* [Branzanti et al. 1999; Blom et al. 2009].

Occorrenza di funghi endofiti del castagno

Sebbene si sviluppino anche all'interno dei tessuti vegetali, i funghi micorrizogeni non sono annoverati nella categoria degli endofiti in senso stretto. In effetti la definizione di endofiti, riferita ai funghi che più specificamente sono considerati in questo capitolo, non riflette una funzione nutrizionale specializzata e viene convenzionalmente applicata a microrganismi che colonizzano i tessuti viventi interni delle piante senza causare alcun effetto negativo immediato e manifesto [Hyde e Soyong 2008].

A parte una quantità limitata relativa ad Australia e Nuova Zelanda dove il castagno europeo è stato introdotto [Washington et al. 1999; Wadia et al. 2000], i dati relativi alla presenza di funghi endofiti in *C. sativa* sono disponibili solo da un numero limitato di paesi dell'Europa meridionale, a testimonianza del fatto che la considerazione di questa componente della biodiversità relativamente alle implicazioni ecologiche e all'impatto economico è ancora piuttosto limitata. Complessivamente sono stati finora segnalati 76 taxa, due terzi dei quali identificati a livello di specie [Nicoletti et al. 2021]. Come notazione generale, le segnalazioni riguardanti il fusto (germogli, rami, ecc.) si riferiscono alla presenza nei tessuti sottocorticali, mentre non sono stati riportati isolamenti dallo xilema forse è necessario riportare referenze recenti? [Bissegger e Sieber 1994; Wadia et al. 2000].

In alcune circostanze, le condizioni di rilevazione non consentono di risalire con certezza all'associazione endofitica. È il caso di un recente studio mirante a stabilire se le comunità fungine all'interno delle galle di

cinipidi siano, o meno, diverse da quelle degli endofiti associate a tessuti sani. I risultati ottenuti tramite sequenziamento di ITS (Spaziatori Trascritti Interni) sono stati presentati sostanzialmente con riferimento alle identificazioni a livello di specie per le unità tassonomiche principali, senza distinguerne l'origine da galla o da foglia [Fernandez-Conradi et al. 2019]. Pertanto, i dati relativi a questo studio devono essere considerati con cautela miravano a distinguere da galla o foglie ma poi non ci sono riusciti??. Alcune segnalazioni relative a funghi endofiti isolati da cancri prodotti da *Cryphonectria parasitica* sono pure connotate da incertezza [Akilli et al. 2009; Aghayeva et al. 2017; Murolo et al. 2019; Gonzalez ed Estefania 2020]. Anche se in questi casi il materiale vegetale utilizzato per gli isolamenti era sintomatico per effetto dell'infezione procurata da un patogeno noto, la procedura di sterilizzazione ha almeno assicurato che i funghi isolati avessero colonizzato i tessuti vegetali prima del prelievo, non trattandosi pertanto di contaminanti epifiti.

Funghi endofiti del castagno noti anche come agenti patogeni

Il castagno è affetto da molti patogeni fungini e oomiceti, che talvolta hanno provocato epidemie in contesti geografici più o meno estesi. In particolare, il cancro della corteccia e il mal dell'inchiostro, causati rispettivamente da *C. parasitica* e *P. cinnamomi* o *P. cambivora*, hanno richiesto misure di controllo su larga scala con l'impiego concomitante di metodi genetici, agronomici e biologici (Milgroom e Cortesi 2004; Turchetti e Maresi 2008; EFSA Panel on Plant Health 2014; Rigling e Prospero 2018). Come noto per molti altri fitopatogeni, questi funghi possono presentare uno stadio latente durante il ciclo della malattia che può dar conto del loro eventuale isolamento da tessuti asintomatici. Infatti, recenti indagini sui microrganismi simbiotici di diverse specie vegetali hanno rivelato casi in cui i patogeni fungini persistono nella condizione endofitica per periodi prolungati [Nicoletti 2019; Nicoletti et al. 2020; Salvatore et al. 2020], a sostegno dell'ipotesi che almeno alcuni ceppi potrebbero comportarsi come veri endofiti in assenza di fattori che ne stimolino la patogenicità. Nel caso di *C. sativa*, questo aspetto è stato proposto come possibile spiegazione per l'isolamento di *C. parasitica* da germogli asintomatici [Bissegger e Sieber 1994], cui ha fatto seguito una segnalazione dalla Francia riportante il re-isolamento del fungo da tessuti asintomatici avvenuto fino a sette mesi dopo l'inoculazione artificiale [Guérin e Robin 2003]. Sebbene siano stati sviluppati metodi di biologia

molecolare per la rilevazione di *C. parasitica* nei tessuti vegetali mediante *real time* PCR [Rubio et al. 2017; Chandelier et al. 2019], per quanto a nostra conoscenza finora non sono state effettuate indagini sistematiche relativamente alla diffusione endofitica di questo fungo.

L'occasionale reperimento endofitico dell'agente del cancro della corteccia del castagno non deve essere confuso con il caso ben documentato di ceppi ipovirulenti. Infatti, pur in assenza di gravi danni alle piante, il concetto di ipovirulenza riflette sostanzialmente l'instaurarsi di un'interazione di carattere patologico [Rigling e Prospero 2018]. D'altra parte, è anche da considerare che i ceppi ipovirulenti possono essere re-isolati da cancri guariti in piante dove erano stati inoculati sperimentalmente, anche a una certa distanza dai tessuti sintomatici [Coelho et al. 2021]. Considerando che la famiglia *Cryphonectriaceae* comprende principalmente specie con habitus endofitico [Mausse-Sitoe et al. 2016; Granados et al. 2020], la diffusione di ceppi ipovirulenti all'interno del castagno, sia dopo inoculazione sia in conseguenza della dispersione naturale, rappresenta un caso studio meritevole di essere analizzato a fondo in vista di una valutazione formale su come considerare queste interazioni ecologiche *border line*. In effetti, osservazioni recenti sembrano supportare la congettura che i micovirus possano interagire direttamente con il genoma dei funghi e convertire i patogeni necrotrofi in endofiti non dannosi, o addirittura benefici [Zhang et al. 2020; Zhou et al. 2021]. Inoltre, vi è da considerare l'evidenza che la transizione patogena in *C. parasitica* possa essere stata guidata dalla perdita di geni implicati nel metabolismo dei carboidrati [Stauber et al. 2020].

Altre specie fungine note per la patogenicità su castagno sono state anche segnalate come endofite. Tra queste sono state individuate occasionalmente specie causanti cancri e deperimento, come *Coryneum modonium* (= *Melanconia modonia*) [Adamčíková et al. 2013], *Diplodina castaneae* (= *Sirococcus castaneae*), meglio conosciuta come agente della malattia di Javart del castagno [Meyer et al. 2017], e *Dendrostoma castaneum* [Bissegger e Sieber 1994; Sieber et al. 2007]. Quest'ultimo rappresenta un nuovo nome per *Amphiportha castanea* (*Diaporthales, Erythrogloeaceae*) [Jaklitsch e Voglmayr 2019], già nota per essere diffusa in Europa su *C. sativa*; probabilmente questa specie è trasmessa in modo verticale, essendo stata verificata la sua capacità di infettare i frutti prima della raccolta [Sieber et al. 2007]. La recente descrizione di altre specie castanicole di *Dendrostoma* [Jaklitsch e Voglmayr 2019] richiede ulteriori accertamenti in merito alla reale natura delle relazioni simbiotiche. *Botryosphaeria dothidea*, ben nota per la sua attitudine endofitica [Slippers e Wingfield 2007;

Marsberg et al. 2017], è stata segnalata come causa di cancri nella regione turca del Mar Nero [Akilli et al. 2009], e di marciume dei frutti in Croazia, unitamente a *Diaporthe eres* [Ivić e Novak 2018]. Altri funghi che danneggiano i frutti sono gli agenti del marciume bruno e del marciume rosa, rispettivamente *Sclerotinia pseudotuberosa* (= *Ciboria batschiana*) [Maresi et al. 2013] e *Colletotrichum acutatum* [Gaffuri et al. 2017]; e inoltre *Trichothecium roseum*, *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea*, specie di *Penicillium*, *Aspergillus* e *Mucor*, e il già citato *D. castaneum*, la cui incidenza nel determinare l'ammuffimento delle castagne è sostanzialmente secondaria alle erosioni provocate dalle larve di tignola e punteruolo [Sieber et al. 2007]. Viceversa, finora non vi sono segnalazioni riguardanti la presenza endofitica dell'agente della maculatura fogliare, *Mycosphaerella maculiformis* [Vannini et al. 2018], e di *Fistulina hepatica*, che causa lo scolorimento e l'arrossamento del legno di castagno [Yurkewich et al. 2017].

Da ultima, ma non per questo meno importante, *Gnomoniopsis castaneae* (= *G. smithogiloyi*) [Shuttleworth et al. 2012] è recentemente diventata la specie fungina di maggior rilievo associata alle castagne risultando in grado di stabilire vari tipi di interazione, probabilmente anche in relazione alla capacità di particolari ceppi di produrre fitotossine, o altri composti eventualmente coinvolti nella patogenesi [Vinale et al. 2014]. Caratterizzata circa 10 anni fa [Visentin et al. 2012], dopo essere stata in un primo tempo rinvenuta in castagneti nei pressi di Cuneo e descritta come *Gnomonia pascoe* (= *Discula pascoe*) [Gentile et al. 2009], essa è stata riscontrata come endofita in diverse parti della pianta, ma è altresì capace di indurre sintomi di malattia sui frutti maturi. Gli accertamenti condotti hanno messo in luce come in realtà questa specie fosse già nota in tassonomia fin dal 1879 con il nome *Phoma endogena* [Spegazzini 1879]. In seguito, in diverse segnalazioni indipendenti furono utilizzati i nomi *Phomopsis endogena*, *Phomopsis castanea* e *Phomopsis viterbensis*, che ora sono considerati sinonimi sulla base di immagini e descrizioni, non essendo più possibile un confronto diretto [Maresi et al. 2013]. Come accennato in precedenza per *D. castaneum*, anche di questa specie è stata riportata la possibilità di trasmissione verticale [Washington et al. 1999]. Sebbene a volte il fungo sia associato a cancri, la maggior parte dei rinvenimenti riguarda i frutti. Inoltre, è stato descritto come agente di danni alle foglie e ai germogli, e più recentemente riportato come causa di cancro dei rametti in India e in Europa [Dar e Rai 2015; Pasche et al. 2016a]. La recente messa a punto di saggi molecolari rapidi per l'identificazione

direttamente nei tessuti vegetali [Turco et al. 2021; Vettrai et al. 2021] consentirà di ottenere un quadro più definito della sua capacità di colonizzare le piante in maniera asintomatica.

Mutualismo dei miceti endofiti del castagno

Oltre ad avere un effetto diretto sul patogeno, i ceppi ipovirulenti di *C. parasitica* possono influenzare il decorso del cancro della corteccia interferendo con lo sviluppo degli endofiti. A questo proposito, un'indagine condotta in Portogallo ha mostrato che, con l'unica eccezione di *Penicillium glabrum*, i funghi endofiti risultano meno abbondanti dentro e intorno ai cancri guariti dopo il trattamento con ceppi ipovirulenti [Coelho et al. 2021]. Le interazioni tra *C. parasitica* e funghi endofiti hanno certamente un impatto sull'evoluzione della malattia, e meritano di essere approfondite. In linea generale, l'attitudine antagonista nei confronti dei ceppi ipovirulenti è maggiore rispetto ai ceppi virulenti, il che implica che alcuni endofiti potrebbero compromettere l'efficacia del controllo biologico interferendo negativamente con la naturale diffusione dei primi [Coelho et al. 2021].

Oltre al potenziale ruolo antagonista nei confronti di *C. parasitica* riconosciuto a *G. castaneae* e *C. acutatum* [Meyer et al. 2015], diverse specie fungine sono state segnalate per un possibile coinvolgimento nella difesa del castagno contro parassiti e agenti patogeni, rappresentando così esempi della relazione simbiotica ecologica descritta come mutualismo difensivo [Saikkonen et al. 2010]. Questo elenco comprende *Epicoccum nigrum*, *Fusarium lateritium*, *Paraconiothyrium brasiliense*, ma anche specie di *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Penicillium* e *Pestalotiopsis* sono frequentemente citate in indagini condotte al riguardo, con particolare riferimento alla produzione di composti bioattivi [Nicoletti et al. 2014; Fatima et al. 2016; Deshmukh et al. 2017; El-hawary et al. 2020]. Tuttavia, in questo senso, il ruolo più efficace è probabilmente svolto dalle specie di *Trichoderma*, che indubbiamente rappresentano gli antagonisti dei funghi fitopatogeni più considerati in termini di impiego pratico in lotta biologica [Tucci et al. 2011]. Diverse specie di questo genere sono state isolate da piante di castagno, con indicazioni di un probabile coinvolgimento diretto nella difesa contro *C. parasitica*. In particolare, *T. atroviride* è stato individuato come endofita in foglie sane [Muñoz-Adalia et al. 2019]. Inoltre, sono stati documentati effetti antagonisti di questa specie contro *G. castaneae* su talee innestate [Pasche et al. 2016b],

mentre altri studi hanno dimostrato l'efficacia dei ceppi di *Trichoderma* nel ridurre i sintomi del cancro corticale [Tattar et al. 1996; Akilli et al. 2011; Murolo et al. 2019]. Infine, in altri studi la valutazione delle proprietà antagoniste nei confronti di *C. parasitica* è stata limitata a saggi *in vitro*, dove una certa efficacia è stata osservata per ceppi di *Pezizula cinnamomea* [Bissegger e Sieber 1994], *Penicillium spp.* [Murolo et al. 2019] e *Neopestalotiopsis zimbabwana* [González e Estefanía 2020].

Relazioni tra miceti endofiti e cinipidi galligeni

Come precedentemente anticipato, i funghi segnalati nelle galle causate dal cinipide *D. kuriphilus* Y. [Cooper e Rieske 2010] non sono da considerarsi endofiti in senso stretto, dato che si sviluppano in tessuti vegetali alterati. Tuttavia, molte indagini condotte su questa avversità biologica hanno considerato il possibile ruolo di funghi associati alle galle in relazione alla loro derivazione endofitica.

La vera natura delle interazioni tra cinipidi e funghi non è ancora stata delucidata. Associazioni sistematiche sono state accertate per altri insetti galligeni, come i Ditteri Asfondiliini, che indipendentemente dalla pianta ospite risultano costantemente associati al già citato micete cosmopolita *B. dothidea*, sulla base di una relazione di carattere trofico [Zimowska et al. 2020]. Viceversa, nel caso di *D. kuriphilus* le indicazioni non sono univoche. Un'indagine condotta in Svizzera ha mostrato l'esistenza di un possibile legame tra cinipidi e l'aumento della diffusione dell'agente del cancro della corteccia. Infatti, le galle abbandonate sono risultate frequentemente colonizzate da ceppi virulenti di *C. parasitica*, e ritenute possibili punti di partenza di nuove infezioni; allo stesso tempo, tale associazione è sembrata essere più rilevante nelle stazioni in cui l'insetto risultava residente da più tempo [Meyer et al. 2015]. Nonostante ciò, in uno studio dedicato, il fungo non è stato rinvenuto sul corpo degli adulti emergenti dalle galle, il che sembra escludere il loro possibile ruolo come vettori. Tuttavia, il ritrovamento di alcuni endofiti, come *C. acutatum*, *G. castaneae* e *E. nigrum*, rappresenta un'indicazione della capacità dei cinipidi di agire in tal senso, il che riveste possibile rilievo epidemiologico [Gaffuri et al. 2015; Morales-Rodriguez et al. 2019]. È interessante notare come le stesse specie fungine siano state isolate da galle di cinipidi in uno studio condotto in Spagna [Muñoz-Adalia et al. 2019], e ancora nel corso della già citata indagine svizzera mirante all'approfondimento del loro ruolo nelle relazioni tripartite con piante e insetti

[Meyer et al. 2015]. Oltre alle tre specie di cui sopra, quest'ultimo studio riporta una lunga serie di funghi associati alle galle, molti dei quali noti anche come endofiti del castagno, tra cui *Alternaria alternata*, *Aureobasidium pullulans*, *Biscogniauxia mediterranea*, *B. dothidea*, *B. cinerea*, *F. oxysporum*, *Hyphodermella rosae*, *Neocucurbitaria cava*, *Nigrospora oryzae*, *P. brasiliense*, *P. glabrum*, *T. citrinoviride* e *T. harzianum*.

Un altro patogeno/endofita del castagno già citato, *D. castaneae*, è stato isolato diffusamente da galle di cinipidi necrotiche in diverse località dell'Azerbaijan e della Svizzera [Meyer et al. 2017]. In effetti, si pensa che la degenerazione necrotica della galla influisca gravemente sulla vitalità di *D. kuriphilus*. Indagini specifiche su *G. castaneae* hanno mostrato un aumento esponenziale della necrosi delle galle durante la stagione estiva??, raggiungendo il 75,4% a metà luglio. Questo processo, che può essere innescato da endofiti residenti, potrebbe condurre ad un efficace controllo del cinipide nei castagneti, ma l'elevata attitudine patogena a carico dei frutti preclude l'uso di questo fungo nelle strategie di lotta biologica [Vannini et al. 2017; Morales-Rodriguez et al. 2021].

Ad ogni modo, la questione delle relazioni tra il cinipide galligeno e *G. castaneae* rimane piuttosto controversa. Infatti, in un altro studio il fungo non è mai stato isolato dagli insetti, suggerendo l'improbabilità che *D. kuriphilus* possa agire come vettore di inoculo vitale. In effetti il fungo risultava essere presente nel 33,8% delle gemme già prima dell'ovideposizione, e nessuna associazione tra colonizzazione fungina e ovodeposizione è stata rilevata. Inoltre, il numero di adulti emergenti è risultato significativamente più alto da galle colonizzate da *G. castaneae* rispetto a quelle non colonizzate, indicando una possibile sinergia tra fungo e insetto. Questi risultati suggeriscono che l'associazione simbiotica viene a stabilirsi dopo l'ovideposizione ed è asimmetricamente favorevole all'insetto [Lione et al. 2016, 2019].

Conclusioni

Come per altre specie coltivate, le nostre conoscenze sull'effettivo impatto dei funghi endofiti sullo sviluppo vegetativo e sulle rese economiche del castagno sono ancora in una fase preliminare. La misura in cui la ricerca in questo specifico campo potrà tradursi in evidenze più chiare e in applicazioni pratiche dipende fondamentalmente dalla capacità di caratterizzare in maniera più accurata gli assortimenti di specie che si

determinano nelle diverse condizioni climatiche e fitosanitarie, con particolare riferimento al possibile mutamento nel ruolo ecologico documentato per molte specie fungine. In effetti, il ruolo fondamentale dell'interazione tra specie diverse è ormai diffusamente riconosciuto, in particolare per le piante forestali. Nel caso del castagno appaiono inoltre necessarie indagini più approfondite finalizzate a una migliore comprensione della natura dei processi che portano alla conversione endofita/patogeno, anche con riferimento alla diversità genetica in *C. sativa* e agli effetti indotti dal cambiamento climatico.

Riferimenti bibliografici

- Adamčíková, K.; Juhásová, G.; Kobza, M.; Ondrušková, E. Diversity of microfungi on branches of *Castanea sativa* in Slovakia. *Pol. Bot. J.* **2013**, *58*, 741–746.
- Aghayeva, D.N.; Rigling, D.; Meyer, J.B.; Mustafabeyli, E. Diversity of fungi occurring in the bark of *Castanea sativa* in Azerbaijan. *Acta Hort.* **2017**, *1220*, 79–86.
- Akilli S.; Katircioğlu, Y.Z.; Maden, S. Chestnut blight cankers in black sea region of Turkey. *Acta Hort.* **2009**, *815*, 247–252.
- Akilli, S.; Katircioğlu, Y.Z.; Maden, S. Biological control of chestnut canker, caused by *Cryphonectria parasitica*, by antagonistic organisms and hypovirulent isolates. *Turkish J. Agric. For.* **2011**, *35*, 515–523.
- Álvarez-Lafuente, A.; Benito-Matías, L.F.; Peñuelas-Rubira, J.L.; Suz, L.M. Multi-cropping edible truffles and sweet chestnuts: production of high-quality *Castanea sativa* seedlings inoculated with *Tuber aestivum*, its ecotype *T. uncinatum*, *T. brumale*, and *T. macrosporum*. *Mycorrhiza* **2018**, *28*, 29–38.
- Aryal, P.; Meiners, S.J.; Carlswald, B.S. Ectomycorrhizae determine chestnut seedling growth and drought response. *Agrofor. Sys.* **2020**, doi.org/10.1007/s10457-020-00488-4.
- Baptista, P.; Martins, A.; Tavares, R.M.; Lino-Neto, T. Diversity and fruiting pattern of macrofungi associated with chestnut (*Castanea sativa*) in the Trás-os-Montes region (Northeast Portugal). *Fungal Ecol.* **2010**, *3*, 9–19.
- Bissegger, M.; Sieber, T.N. Assemblages of endophytic fungi in coppice shoots of *Castanea sativa*. *Mycologia* **1994**, *86*, 648–655.

- Blom, J.M.; Vannini, A.; Vettrai, A.M.; Hale, M.D.; Godbold, D.L. Ectomycorrhizal community structure in a healthy and a *Phytophthora*-infected chestnut (*Castanea sativa* Mill.) stand in central Italy. *Mycorrhiza* **2009**, *20*, 25–38.
- Branzanti, M.B.; Rocca, E.; Pisi, A. Effect of ectomycorrhizal fungi on chestnut ink disease. *Mycorrhiza* **1999**, *9*, 103–109.
- Castellana, S.; Martin, M.Á.; Solla, A.; Alcaide, F.; Villani, F.; Cherubini, M.; Neale, D.; Mattioni, C. Signatures of local adaptation to climate in natural populations of sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) from southern Europe. *Ann. For. Sci.* **2021**, *78*. <https://doi.org/10.1007/s13595-021-01027-6>.
- Chandelier, A.; Massot, M.; Fabreguettes, O.; Gischer, F.; Teng, F.; Robin, C. Early detection of *Cryphonectria parasitica* by real-time PCR. *Eur. J. Plant Pathol.* **2019**, *153*, 29–46.
- Coelho, V.; Nunes, L.; Gouveia, E. Short and long term efficacy and prevalence of *Cryphonectria parasitica* hypovirulent strains released as biocontrol agents of chestnut blight. *Eur. J. Plant Pathol.* **2021**, doi.org/10.1007/s10658-021-02200-3.
- Cooper, W.R.; Rieske, L.K. Gall structure affects ecological associations of *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae). *Environ. Entomol.* **2010**, *39*, 787–797.
- Dar, M.A.; Rai, M.K. *Gnomoniopsis smithogiloyi* a canker causing pathogen on *Castanea sativa*: first report. *Mycosphere* **2015**, *6*, 327–336.
- De Masi, L.; Castaldo, D.; Minasi, P.; Laratta, B. Caratterizzazione e certificazione di qualità di fico e castagno calabresi attraverso moderne tecniche di biologia molecolare. *Monografia della Stazione Sperimentale per l'Industria delle Essenze e dei Derivati dagli Agrumi*, **2004**, Reggio Calabria.
- Deshmukh, S.K.; Prakash, V.; Ranjan, N. Recent advances in the discovery of bioactive metabolites from *Pestalotiopsis*. *Phytochem. Rev.* **2017**, *16*, 883–920.
- EFSA Panel on Plant Health (PLH). Scientific opinion on the pest categorisation of *Cryphonectria parasitica* (Murrill) Barr. *EFSA J.* **2014**, *12*, 3859.
- El-hawary, S.S.; Moawad, A.S.; Bahr, H.S.; Abdelmohsen, U.R., Mohammed, R. Natural product diversity from the endophytic fungi of the genus *Aspergillus*. *RSC Advan.* **2020**, *10*, 22058–22079.

- Fatima, N.; Muhammad, S.A.; Khan, I.; Qazi, M.A.; Shahzadi, I.; Mumtaz, A.; Hashmi, M.A., Khan, A.K., Ismail, T. *Chaetomium* endophytes: a repository of pharmacologically active metabolites. *Acta Physiol. Plant.* **2016**, *38*, 136.
- Fernandez-Conradi, P.; Fort, T.; Castagneyrol, B.; Jactel, H.; Robin, C. Fungal endophyte communities differ between chestnut galls and surrounding foliar tissues. *Fungal Ecol.* **2019**, *42*, 100876.
- Freitas, T.R.; Santos, J.A.; Silva, A.P.; Fraga, H. Influence of climate change on chestnut trees: A review. *Plants* **2021**, *10*, 1463. <https://doi.org/10.3390/plants10071463>.
- Gaffuri, F.; Longa, C.M.O.; Turchetti, T.; Danti, R.; Maresi, G. 'Pink rot': infection of *Castanea sativa* fruits by *Colletotrichum acutatum*. *Forest Pathol.* **2017**, *47*, e12307.
- Gaffuri, F.; Maresi, G.; Pedrazzoli, F.; Longa, C.M.O.; Boriani, M.; Molinari, M.; Tantardini, A.; Sieber, T. *Colletotrichum acutatum* associated with *Dryocosmus kuriphilus* galls on *Castanea sativa*. *For. Pathol.* **2015**, *45*, 169–171.
- Galderisi, U.; Cipollaro, M.; Di Bernardo, G.; De Masi, L.; Galano, G.; Cascino, A. Molecular typing of Italian sweet chestnut cultivars by random amplified polymorphic DNA analysis. *J. Hort. Sci. Biotech.* **1998**, *73*(2), 259–263. <https://doi.org/10.1080/14620316.1998.11510973>.
- Gentile, S.; Valentino, D.; Visentin, I.; Tamietti, G. An epidemic of *Gnomonia pascoe* on nuts of *Castanea sativa* in the Cuneo area. *Acta Hort.* **2009**, *866*, 363–368.
- González, A.J.; Estefanía, T. Strains of *Neopestalotiopsis* sp. are in vitro antagonists of *Cryphonectria parasitica*. *Biol. Contr.* **2020**, *143*, 104187.
- Granados, G.M.; McTaggart, A.R.; Rodas, C.A.; Roux, J.; Wingfield, M.J. Species of Cryphonectriaceae occupy an endophytic niche in the Melastomataceae and are putative latent pathogens of *Eucalyptus*. *Eur. J. Plant Pathol.* **2020**, *156*, 273–283.
- Grünig, C.R.; Queloz, V.; Duò, A., Sieber, T.N. Phylogeny of *Phaeomollisia piceae* gen. sp. nov.: a dark, septate, conifer-needle endophyte and its relationships to *Phialocephala* and *Acephala*. *Mycol. Res.* **2009**, *113*, 207–221.
- Guérin, L.; Robin, C. Seasonal effect on infection and development of lesions caused by *Cryphonectria parasitica* in *Castanea sativa*. *Forest Pathol.* **2003**, *33*, 223–235.

- Hyde, K.D.; Soyton, K. The fungal endophyte dilemma. *Fungal Div.* **2008**, *33*, 163–173.
- Ito, Z.; Reshi, Z. Influence of ectomycorrhizal inoculation on *Pinus wallichiana* and *Cedrus deodara* seedlings under nursery conditions. *Front. Biol.* **2014**, *9*, 82–88.
- Ivić, D.; Novak, A. Gljive povezane s truleži plodova pitomog kestena, s prvim nalazom *Gnomoniopsis smithogilvyi* u Hrvatskoj. *Pomologia Croatica: Glasilo Hrvatskog agronomskog društva* **2018**, *22*, 13–22.
- Jaklitsch, W.M.; Voglmayr, H. European species of *Dendrostoma* (Diaporthales). *MycKeys* **2019**, *59*, 1.
- Lione, G.; Giordano, L.; Ferracini, C.; Alma, A.; Gonthier, P. Testing ecological interactions between *Gnomoniopsis castaneae* and *Dryocosmus kuriphilus*. *Acta Oecol.* **2016**, *77*, 10–17.
- Lione, G.; Danti, R.; Fernandez-Conradi, P.; Ferreira-Cardoso, J.V.; Lefort, F.; Marques, G.; Meyer, J.B.; Prospero, S.; Radocz, L.; Robin, C.; Turchetti, T.; Vettraino, A.M.; Gonthier, P. The emerging pathogen of chestnut *Gnomoniopsis castaneae*: the challenge posed by a versatile fungus. *Eur. J. Plant Pathol.* **2019**, *153*, 671–685.
- Maresi, G.; Oliveira Longa, C.M.; Turchetti, T. Brown rot on nuts of *Castanea sativa* Mill: an emerging disease and its causal agent. *iForest – Biogeosci. For.* **2013**, *6*, 294–301.
- Marsberg, A.; Kemler, M.; Jami, F.; Nagel, J.H.; Postma-Smidt, A.; Naidoo, S.; Wingfield, M.J.; Crous, P.W.; Spatafora, J.W.; Hesse, C.N.; et al. *Botryosphaeria dothidea*: a latent pathogen of global importance to woody plant health. *Mol. Plant Pathol.* **2017**, *18*, 477–488.
- Martins, A.; Marques, G.; Borges, O.; Portela, E.; Lousada, J.; Raimundo, F.; Madeira, M. Management of chestnut plantations for a multifunctional land use under Mediterranean conditions: effects on productivity and sustainability. *Agrofor. Syst.* **2011**, *81*, 175–189.
- Mausse-Sitoe, S.N.; Rodas, C.A.; Wingfield, M.J.; Chen, S.; Roux, J. Endophytic Cryphonectriaceae on native Myrtales: Possible origin of *Chrysosporthe* canker on plantation-grown *Eucalyptus*. *Fungal Biol.* **2016**, *120*, 827–835.
- Meyer, J.B.; Gallien, L.; Prospero, S. Interaction between two invasive organisms on the European chestnut: does the chestnut blight fungus benefit from the presence of the gall wasp? *FEMS Microbiol. Ecol.* **2015**, *91*, fiv122.

- Meyer, J.B.; Trapiello, E.; Senn-Irlet, B.; Sieber, T.N.; Cornejo, C.; Aghayeva, D.; González A.J.; Prospero, S. Phylogenetic and phenotypic characterisation of *Sirococcus castaneae* comb. nov. (synonym *Diplodina castaneae*), a fungal endophyte of European chestnut. *Fungal Biol.* **2017**, *121*, 625–637.
- Milgroom, M.G.; Cortesi, P. Biological control of chestnut blight with hypovirulence: a critical analysis. *Ann. Rev. Phytopathol.*, **2004**, *42*, 311–338.
- Morales-Rodriguez, C.; Sferrazza, I.; Aleandri, M.; Dalla Valle, M.; Mazzetto, T.; Speranza, S.; Contarini, M.; Vannini, A. Fungal community associated with adults of the chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus* after emergence from galls: Taxonomy and functional ecology. *Fungal Biol.* **2019**, *123*, 905–912.
- Morales-Rodriguez, C.; Bastianelli, G.; Caccia, R.; Bedini, G.; Massantini, R.; Moscetti, R.; Vannini, A. Impact of ‘brown rot’ caused by *Gnomoniopsis castanea* on chestnut fruits during the post-harvest process: critical phases and proposed solutions. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **2021**, <https://doi.org/10.1002/jsfa.11397>.
- Morrison, E.W.; Kasson, M.; Heath, J.; Garnas, J. Pathogen and endophyte assemblages co-vary with beech bark disease progression, tree decline, and regional climate. *Front. For. Glob. Change* **2021**, [10.3389/ffgc.2021.673099](https://doi.org/10.3389/ffgc.2021.673099).
- Muñoz-Adalia, E.J.; Rodríguez, D.; Casado, M.; Diez, J.; Fernández, M. Fungal community of necrotic and healthy galls in chestnut trees colonized by *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera, Cynipidae). *I-Forest* **2019**, *12*, 411–417.
- Murolo, S.; Concas, J.; Romanazzi, G. Use of biocontrol agents as potential tools in the management of chestnut blight. *Biol. Contr.* **2019**, *132*, 102–109.
- Nicoletti, R. Endophytic fungi of citrus plants. *Agriculture* **2019**, *9*, 247.
- Nicoletti, R.; Beccaro, G.L.; Sekara, A.; Cirillo, C.; Di Vaio, C. Endophytic fungi and ecological fitness of chestnuts. *Plants* **2021**, *10*, 542. <https://doi.org/10.3390/plants10030542>.
- Nicoletti, R.; Di Vaio, C.; Cirillo, C. Endophytic fungi of olive tree. *Microorganisms* **2020**, *8*, 1321.
- Nicoletti, R.; Fiorentino, A.; Scognamiglio, M. Endophytism of *Penicillium* species in woody plants. *Open Mycol. J.* **2014**, *8*, 1–26.

- Nunziata, A.; Ruggieri, V.; Petriccione, M.; De Masi, L. Single nucleotide polymorphisms as practical molecular tools to support European chestnut agrobiodiversity management. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 4805. <https://doi.org/10.3390/ijms21134805>.
- Pasche, S.; Calmin, G.; Auderset, G.; Crovadore, J.; Pelleteret, P.; Mauch-Mani, B.; Barja, F.; Paul, B.; Jermini, M.; Lefort, F. *Gnomoniopsis smithogilyvi* causes chestnut canker symptoms in *Castanea sativa* shoots in Switzerland. *Fungal Genet. Biol.* **2016a**, *87*, 9–21.
- Pasche, S.; Crovadore, J.; Pelleteret, P.; Jermini, M.; Mauch-Mani, B.; Oszako, T.; Lefort, F. Biological control of the latent pathogen *Gnomoniopsis smithogilyvi* in European chestnut grafting scions using *Bacillus amyloliquefaciens* and *Trichoderma atroviride*. *Dendrobiology* **2016b**, *75*, 113–122.
- Peintner, U.; Iotti, M.; Klotz, P.; Bonuso, E.; Zambonelli, A. Soil fungal communities in a *Castanea sativa* (chestnut) forest producing large quantities of *Boletus edulis sensu lato* (porcini): where is the mycelium of porcini? *Environ. Microbiol.* **2007**, *9*, 880–889.
- Reis, F.; Pereira, E.; Tavares, M.; Baptista, P.; Lino-Neto, T. Fungal community in chestnut orchards with different *Hypholoma fasciculare* above-ground abundance: potential implications for sustainable production. *Rev. Ciências Agr.* **2016**, *40*, 124–132.
- Rigling, D.; Prospero, S. *Cryphonectria parasitica*, the causal agent of chestnut blight: invasion history, population biology and disease control. *Mol. Plant Pathol.* **2018**, *19*, 7–20.
- Rubio, S.; Barnes, A.; Webb, K.; Hodgetts, J. A real-time PCR assay for improved rapid, specific detection of *Cryphonectria parasitica*. *Ann. Appl. Biol.* **2017**, *171*, 52–61.
- Saikkonen, K.; Saari, S.; Helander, M. Defensive mutualism between plants and endophytic fungi? *Fungal Divers.* **2010**, *41*, 101–113.
- Salvatore, M.M.; Andolfi, A.; Nicoletti, R. The thin line between pathogenicity and endophytism: The case of *Lasiodiplodia theobromae*. *Agriculture* **2020**, *10*, 488.
- Santos, C.; Nelson, C.D.; Zhebentyayeva, T.; Machado, H.; Gomes-Laranjo, J.; Costa, R.L. First interspecific genetic linkage map for *Castanea sativa* × *Castanea crenata* revealed QTLs for resistance to *Phytophthora cinnamomi*. *PLoS ONE* **2017**, *12*, e0184381. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184381>.

- Shuttleworth, L.A.; Guest, D.I.; Liew, E.C.Y. Fungal planet description sheet 108 – *Gnomoniopsis smithogiloyi*, *sp. nov. Persoonia* **2012**, *28*, 142–143.
- Sieber, T.N.; Jermini, M.; Conedera, M. Effects of the harvest method on the infestation of chestnuts (*Castanea sativa*) by insects and moulds. *J. Phytopathol.* **2007**, *155*, 497–504.
- Silvanini, A.; Marinoni, D. T.; Beccaro, G. L.; Ganino, T. La caratterizzazione varietale del germoplasma di *Castanea sativa* Mill. *Italus Hortus* 2011, *18*(3), 47–61.
- Slippers, B.; Wingfield, M.J. Botryosphaeriaceae as endophytes and latent pathogens of woody plants: diversity, ecology and impact. *Fungal Biol. Rev.* **2007**, *21*, 90–106.
- Spegazzini, C. Nova addenda ad Mycologiam Venetam. *Michelia* **1879**, *1*, 453–487.
- Stauber, L.; Prospero, S.; Croll, D. Comparative genomics analyses of lifestyle transitions at the origin of an invasive fungal pathogen in the genus *Cryphonectria*. *Mosphere* **2020**, *5*, e00737–20.
- Tattar, T.A.; Berman, P.M.; González, E.Y.; Mount, M.S.; Dolloff, A.L. Biocontrol of the chestnut blight fungus *Cryphonectria parasitica*. *Arboricult. J.* **1996**, *20*, 449–469.
- Torello Marinoni, D.; Nishio, S.; Valentini, N.; Shirasawa, K.; Acquadro, A.; Portis, E.; Alma, A.; Akkac, A.; Pavese, V.; Cavalet-Giora, E.; Botta, R. Development of high-density genetic linkage maps and identification of loci for chestnut gall wasp resistance in *Castanea* spp. *Plants* 2020, *9*, 1048. <https://doi.org/10.3390/plants9081048>.
- Tucci, M.; Ruocco, M.; De Masi, L.; De Palma, M.; Lorito, M. The beneficial effect of *Trichoderma* spp. on tomato is modulated by the plant genotype. *Mol. Plant Pathol.* **2011**, *12*(4): 341–354. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2010.00674.x>.
- Turchetti, T.; Maresi, G. Biological control and management of chestnut diseases. In *Integrated management of diseases caused by fungi, phytoplasma and bacteria* Springer, Dordrecht, 2008, 85–118.
- Turco, S., Bastianelli, G., Morales-Rodríguez, C., Vannini, A., & Mazzaglia, A. (2021). Development of a TaqMan qPCR assay for the detection and quantification of *Gnomoniopsis castaneae* in chestnut tissues. *Forest Pathology*, e12701.
- Twieg, B.D.; Durall, D.M.; Simard, S.W. Ectomycorrhizal fungal succession in mixed temperate forests. *New Phytol.* **2007**, *176*, 437–447.

- Vannini, A.; Vettraiño, A.; Martignoni, D.; Morales-Rodríguez, C.; Contarini, M.; Caccia, R.; Paparatti, B.; Speranza, S. Does *Gnomoniopsis castanea* contribute to the natural biological control of chestnut gall wasp? *Fungal Biol.* **2017**, *121*, 44–52.
- Vannini, A.; Morales-Rodríguez, C.; Aleandri, M.; Bruni, N.; Dalla Valle, M.; Mazzetto, T.; Martignoni, D.; Vettraiño, A. Emerging new crown symptoms on *Castanea sativa* (Mill.): attempting to model interactions among pests and fungal pathogens. *Fungal Biol.* **2018**, *122*, 911–917.
- Vella, F.M.; De Masi, L.; Morana, A.; Calandrelli, R.; Laratta, B. Valorization of the agro-forestry wastes from Italian chestnut cultivars for the recovery of bioactive compounds. *Eur. Food Res. Technol.* **2019**, *245*(12): 2679–2686. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03379-w>.
- Vettraiño, A.M.; Luchi, N.; Rizzo, D.; Pepori, A.L.; Pecori, F.; Santini, A. Rapid diagnostics for *Gnomoniopsis smithogiloyi* (syn. *Gnomoniopsis castaneae*) in chestnut nuts: new challenges by using LAMP and real-time PCR methods. *AMB Express* **2021**, *11*, 1-11.
- Vinale, F.; Ruocco, M.; Manganiello, G.; Guerrieri, E.; Bernardo, U.; Mazzei, P.; Piccolo, A.; Sannino, F.; Caira, S.; Woo, S.L.; Lorito, M. Metabolites produced by *Gnomoniopsis castanea* [sic] associated with necrosis of chestnut galls. *Chem. Biol. Technol. Agric.* **2014**, *6*, 294–301.
- Visentin, I.; Gentile, S.; Valentino, D.; Gonthier, P.; Cardinale, F. *Gnomoniopsis castanea* sp. nov. (Gnomoniaceae, Diaporthales) as the causal agent of nut rot in sweet chestnut. *J. Plant Pathol.* **2012**, 411–419.
- Wadia, K.D.R.; Klinac, D.; McNeil, D.L.; Osmonaliev, A.; Stewart, A.; Knowles, R.D. Occurrence of *Phomopsis castanea* as an endophyte in chestnut trees. *New Zealand Plant Prot.* **2000**, *53*, 133–137.
- Washington, W.S.; Hood, V.; Stewart-Wade, S. *Phomopsis castanea*, a seed-borne endophyte in chestnut trees. *Austr. J. Bot.* **1999**, *47*, 77–84.
- Yurkewich, J.I.; Castaño, C.; Colinas, C. Chestnut red stain: Identification of the fungi associated with the costly discolouration of *Castanea sativa*. *Forest Pathol.* **2017**, *47*, e12335.
- Zhang, H.; Xie, J.; Fu, Y.; Cheng, J.; Qu, Z.; Zhao, Z.; Cheng, S.; Chen, T.; Li, B.; Wang, Q.; Liu, X.; Tian, B.; Collinge, D.B.; Jiang, D. A 2-kb mycovirus converts a pathogenic fungus into a beneficial endophyte for *Brassica* protection and yield enhancement. *Mol. Plant* **2020**, *13*, 1420–1433.

- Zhou, L.; Li, X.; Kotta-Loizou, I.; Dong, K.; Li, S.; Ni, D.; Wang, G.; Xu, W. A mycovirus modulates the endophytic and pathogenic traits of a plant associated fungus. *ISME J.* **2021**. doi.org/10.1038/s41396-021-00892-3.
- Zimowska, B.; Okoń, S.; Becchimanzi, A.; Krol, E.D.; Nicoletti, R. Phylogenetic characterization of *Botryosphaeria* strains associated with *Asphondylia* galls on species of Lamiaceae. *Diversity* **2020**, *12*, 41.



ISBN 978-88-8080-366-9

DOI: <https://doi.org/10.61008/CASTARRAY2022>