

Sezione Speciale: Atti 5° Congresso SISEF: Foreste e Società - Cambiamenti, Conflitti, Sinergie
(a cura di: E. Lingua, R. Marzano, G. Minotta, R. Motta, A. Nosenzo, G. Bovio)

Microfunghi endofitici ed epifitici di *Picea abies* (L.) Karst. in ambiente naturale ed antropizzato in Lombardia

Lorenzi E, Lorando E, Picco AM*

Dipartimento di Ecologia del Territorio e degli Ambienti Terrestri, sez. Micologia, Università degli Studi di Pavia, Via S. Epifanio 14, 27100, Pavia - *Corresponding author: Anna Maria Picco - apicco@et.unipv.it

Abstract: Fungal endophytes and epiphytes in needles of *Picea abies* (L.) Karst. from natural and urban areas in northern Italy. The foliar fungal endophytes community inhabiting needles of *Picea abies* (Norway spruce) has not been well documented. In this study, carried out in Northern Italy, needles were collected in the years 2003 - 2004 in Bagni di Masino and Passo S. Marco (natural locations) and in Milano and Pavia (urban areas). Needles were plated and scored for hyphal outgrowth of endophytes to observe composition and distribution pattern. Both colonization percentage and number of *taxa* were higher in needles collected in natural locations. There was a large difference in the infection levels between natural and urban areas, portion of the needle (the distal portion showing the largest number of colonies) and among the different needle age classes, with the youngest needles being virtually endophytes free and the 5 and 6 age classes being the most colonized. Thus Norway spruce foliar endophytes population appears to be influenced by age and portion of the needle and location. In the year 2003 fungal epiphytes were also investigated to compare the two different populations. Results analysis show a different distribution of endophytic and epiphytic *taxa*, some species being mostly isolated in the natural locations others in the urban ones, thus indicating the presence of different clusters. *Zythyostroma pinastri* and *Tiarosporella parca* were the most frequent endophytes in natural locations while *Sphaeropsis sapinea* was common in urban areas. Among the epiphytes *Alternaria alternata*, *Aureobasidium*, and *Cladosporium* were ubiquitous *taxa*, *Phomopsis* was mostly isolated in natural locations.

Keywords: Fungi, Norway spruce, conifers, needles, endophytes, epiphytes, pollution.

Received: Jan 09, 2006 - Accepted: Jun 11, 2006

Citation: Lorenzi E, Lorando E, Picco AM, 2006. Microfunghi endofitici ed epifitici di *Picea abies* (L.) Karst. in ambiente naturale ed antropizzato in Lombardia. Forest@ 3 (3): 426-436. [online] URL: <http://www.sisef.it/>

Introduzione

L'endofitismo è un rapporto asintomatico di endobiosi che si instaura, generalmente, tra batteri e/o funghi ed un gran numero di ospiti vegetali (Stone et al. 1994). Nelle piante legnose, tuttavia, in presenza di condizioni fisiologiche anomale, tale rapporto può variare trasformandosi in parassitismo, con conseguenze sullo stato di salute del vegetale (Ragazzi et al. 2003).

In contrapposizione ai funghi epifiti, il gruppo ecologico degli endofiti è oggetto di indagine da un tempo relativamente breve (Bernstein & Carroll

1977, Carroll & Carroll 1978, Petrini & Carroll 1981) e le ricerche sino ad ora effettuate hanno chiarito solo in parte le problematiche ad esso connesse (Bills 1996). La distribuzione delle comunità endofitiche nel tempo e nello spazio è fortemente influenzata dal tipo di pianta, dalla porzione vegetale interessata, dall'altitudine, dall'altezza e dalla densità della chioma, dall'omogeneità della stessa, dall'umidità ambientale e dall'esposizione ai venti, dai livelli di umidità relativa e di piovosità, dall'età del vegetale e dalla temperatura dell'aria (Petrini & Carroll 1981, Johnson & Whitney 1989, Suske & Acker 1990). Gli

endofiti delle piante arboree comprendono un elevato numero di generi appartenenti principalmente al gruppo degli ascomiceti e loro anamorfi (Stone & Petrini 1997, Schulz et al. 1999). Siebert (1989) in uno studio su aghi di *Picea* ha individuato un centinaio di specie fungine endofitiche. Sebbene il ruolo ecologico degli endofiti sia ancora parzialmente sconosciuto, secondo Wilson (2000) l'endofita potrebbe accelerare nella pianta l'assorbimento di nutrienti che si trovano sulla superficie fogliare. Ricerche da lui condotte, mediante sostanze nutrienti marcate radioattivamente, hanno permesso, infatti, di ottenere risultati positivi in tal senso in piante colonizzate da endofiti. E' da tempo noto che i nutrienti fogliari, in misura diversa in base al tipo, possano penetrare attraverso la cuticola fogliare della pianta riducendo sintomi di carenza nutritiva (Antal & Joo 1995, Malakondiah et al. 1981, Bukovac & Wittwer 1957, Jyung & Wittwer 1964). Secondo Ragazzi (2004) nelle piante forestali, così come in quelle erbacee, il ruolo dominante degli endofiti sarebbe quello protettivo nei confronti di insetti, funghi e sostanze allelopatiche. Il ruolo dell'endofita è per sua natura non patogeno e la relazione che stabilisce con la pianta è neutrale o mutualistica. Tuttavia, fin dall'inizio degli anni 1980, molti ricercatori, di fronte ad eziologie complesse come l'*Oak decline*, comparsa in quel periodo in Europa, USA e Giappone, cominciarono a considerare la possibilità che un endofita fungino, in qualche particolare momento del proprio ciclo vitale ed in presenza di particolari condizioni ambientali, potesse cessare di comportarsi da neutrale o mutualista e diventare la causa dei danni e sintomi osservati sulle piante (Kowalski 1991, Luisi et al. 1991, Donabauer 1998, Anselmi et al. 2000, Franceschini et al. 2002). Anche, secondo Ragazzi (2004), tra i numerosi endofiti che colonizzano i vegetali, alcuni possono esprimersi come patogeni nel momento in cui la pianta si trova in condizioni di stress fisiologico di vario tipo e contribuiscono alla morte della stessa. Ciò accade con *Apiognomonium quercina* ed il suo anamorfo *Discula quercina*, *Diplodia mutila*, *Biscogniauxia mediterranea* e *Phomopsis quercina*. Questi funghi iniziano il loro ciclo vitale come endofiti nelle piante sane, ma nel momento in cui le difese della pianta si abbassano, a causa di fattori abiotici, diventano fortemente patogeni ed uccidono la pianta. Le stesse condizioni di stress influenti sulla pianta, tra cui l'inquinamento atmosferico, la siccità e gli squilibri nutrizionali, possono incidere negativamente anche sulla popolazione endofitica alterandola quantitativamente e qualitativamente (Helander et al. 1996). La letteratura ri-

guardante la colonizzazione endofitica delle conifere risulta ancora scarsa in Italia se paragonata a quella riguardante i funghi epifiti. In questo contesto è stato effettuato uno studio finalizzato al censimento delle popolazioni fungine endofitiche ed epifitiche degli aghi di *Picea abies* (L.) Karsten in ambiente naturale ed in ambiente soggetto a disturbo antropico, per verificare se e in quale misura tali popolazioni possano essere influenzate dall'antropizzazione.

Materiali e metodi

I campionamenti sono stati effettuati in 3 siti urbani localizzati nei comuni di Milano (2 siti) e Pavia e in 2 siti naturali localizzati a Passo S. Marco (Bergamo) e Bagni di Masino (Sondrio). I campioni di aghi sono stati raccolti in tre diversi periodi dell'anno (primavera, estate, autunno), per due anni consecutivi (2003-2004). Nei siti urbani sono state campionate 6 piante/sito mentre in quelli naturali 12 piante/sito, per un totale di 18 e 24 esemplari rispettivamente. Rami sono stati tagliati mediante cesoie sterilizzate alla fiamma dai palchi più bassi della pianta, e separati in diverse classi di età. Il trasporto è avvenuto in buste di carta, sterili, per limitare lo sviluppo dei funghi epifiti (Millar & Richards 1974, Bills 1996).

Per l'isolamento del micelio endofitico gli aghi sono stati sterilizzati in superficie seguendo la metodologia proposta da Petrini & Carroll (1981), successivamente modificata (Lorenzi & Picco 2004). Il protocollo ha previsto un primo lavaggio con etanolo (96%) per 1 minuto, un secondo lavaggio con ipoclorito di sodio (3.5% di cloro attivo) per 5 minuti ed un terzo lavaggio con etanolo (96%) per 30 secondi. Sono stati analizzati 5 aghi per ogni classe di età rinvenuta su ciascuna pianta. I campioni così trattati sono stati, successivamente, suddivisi in due frammenti (apicale e basale) e apposti sterilmente in capsule Petri su terreno colturale *Corn Meal Agar* (Lorenzi & Picco 2004). Le capsule sono state osservate con frequenza bisettimanale sino ad un periodo di due mesi ed i miceli sviluppati sono stati trasferiti e conservati in provette contenenti *Malt Extract Agar* (MEA). L'identificazione, quando possibile, è avvenuta utilizzando le apposite monografie (Ellis 1971, Ellis 1976, Domsch et al. 1980, Sutton 1980).

Per l'isolamento dei funghi epifiti gli aghi sono stati lavati sotto getto di acqua corrente (Dix & Webster 1995) per 1 minuto ed apposti sterilmente su terreno colturale *Corn Meal Agar*. Sono stati analizzati 20 aghi per ciascun albero campionato, di cui 10 con meno di 1 anno di età (giovani) e 10 con più di 1 anno di età (vecchi). Le capsule sono state osservate

Tab. 1 - *Taxa* fungini endofitici isolati, nel biennio 2003-2004, in ciascun sito di campionamento e loro frequenza di colonizzazione. PV: Pavia; MiGP: Milano Giardini Pubblici; MiSS: Milano S. Siro; BdM: Bagni di Masino; PSM: Passo S. Marco.

Specie	PV %	MiGP %	MiSS %	BdM %	PSM %
<i>Alternaria alternata</i> (Fries) Keissler	1.46	0.12	0.78	0.22	0.03
<i>Aspergillus flavus</i> Link	0.06	-	0.07	-	0.32
<i>Aspergillus niger</i> Tieghem	0.06	-	0.26	0.03	-
<i>Aureobasidium pullulans</i> (de Bary) G. Arnaud	0.45	-	-	0.76	0.4
<i>Chaetomium madrasense</i> Natarajan	0.64	-	-	-	-
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresenius) G.A. de Vries	1.02	-	0.13	0.06	0.19
<i>Cladosporium</i> sp.	0.51	-	-	0.17	-
<i>Diaphorte</i> sp.	0.51	-	-	-	-
<i>Diplodia mutila</i> (Fries) Montagne	-	0.47	0.07	-	0.03
Lievito	1.02	0.06	0.07	0.06	-
<i>Micelia without fructifications</i>	3.05	1.06	1.44	6.55	4.19
<i>Microsphaeropsis olivacea</i> (Bonorden) Höhnelt	0.06	-	0.26	0.08	-
<i>Penicillium purpurogenum</i> Stoll	1.78	0.06	-	0.2	1.34
<i>Penicillium</i> sp.	-	-	0.07	0.17	-
<i>Phoma</i> sp.	0.51	0.29	0.39	1.85	0.19
<i>Phomopsis</i> sp.	1.46	0.47	0.78	0.17	0.03
<i>Readeriella</i> sp.	-	0.24	-	-	-
<i>Rhizopus</i> sp.	-	-	0.2	-	-
<i>Sirococcus</i> sp.	-	-	-	-	0.56
<i>Sphaeropsis sapinea</i> (Fries) Dyko & B. Sutton	0.19	2.53	0.07	-	-
<i>Tiarospora parca</i> (Berkeley & Broome) H.S. Whitney. J. Reid & Pirozynski	-	-	-	4.31	4.19
<i>Trimmatostroma</i> sp.	0.25	-	-	-	-
<i>Tritirachium</i> sp.	-	-	-	0.34	-
<i>Trullula</i> sp.	-	0.06	0.2	-	-
<i>Zythiostroma pinastri</i> (P. Karsten) Höhnelt	-	0.06	0.07	12.84	5.93

Altri taxa fungini endofitici con frequenza di colonizzazione inferiore allo 0.1%**Località cittadine**

Acremonium fusidioides (Nicot) W. Gams, *Actinocladium rhodosporum* Ehrenberg, *Aspergillus* sp., *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, *Bipolaris cynodontis* Wallwork et al., *Cladosporium oxysporum* Berkeley & M.A. Curtis, *Fusarium* sp., *Fusarium subglutinans* (Wollenweber & Reinking) P.E. Nelson, Toussoun & Marasas, *Nigrospora sphaerica* (Saccardo) E.W. Mason, *Penicillium citreonigrum* Dierckx, *Penicillium olsonii* Bainier & Sartory, *Zygosporium gibbum* (Saccardo, M. Rousseau & E. Bommer) S. Hughes

Località montane

Acremonium sclerotigenum (Moreau & V. Moreau) ex Valenta, *Amerosporiopsis gaubae* Petrak, *Aspergillus versicolor* (Vuillemin) Tiraboschi, *Cladosporium herbarum* (Persoon) Link, *Cryptosporiopsis abietina* (Rostrup) Nannfeldt, *Disculina vulgaris* (Fries) B. Sutton, *Fusamen* sp., *Fusarium verticillioides* (Saccardo) Nirenberg, *Haplospora* sp., *Helhonia* sp., *Heteroconium chaetospora* (Grove) M.B. Ellis, *Hormonema* sp., *Myrothecium verrucaria* (Albertini & Schweinitz: Fries) Ditmar, *Paecilomyces marquandii* (Masse) S. Hughes, *Penicillium expansum* Link, *Penicillium griseo-roseum* Dierckx, *Penicillium mirabile* Beliakova & Milko, *Perisporium arundinis* Desmazières ex Fries, *Phialophora bubakii* (Laxa) Schol-Schwarz, *Phoma leveillei* Boerema & G.J. Bollen, *Septoriella* sp., *Thysanophora canadensis* Stolk & Hennebert, *Tripodspermum* sp

Entrambe le tipologie di località

Acremonium luzulae (Fuckel) W. Gams, *Aspergillus fumigatus* Fresenius, *Cladosporium sphaerospermum* Penzig, *Epicoccum nigrum* Link, *Geniculosporium* sp., *Leptostroma* sp., *Penicillium minioluteum* Dierckx

settimanalmente sino ad un periodo di un mese; i miceli cresciuti sono stati isolati e conservati in provette contenenti *Potato Dextrose Agar* (PDA) ed identificati utilizzando le apposite monografie. I dati ottenuti sono schematizzati in tab. 1 e tab. 2, in cui sono riportati i *taxa* isolati e la loro frequenza sui campioni, calcolata come numero di aghi colonizzati

da un determinato *taxon*, rispetto alla totalità dei campioni analizzati. E' stato, inoltre, preso in considerazione il numero di *taxa* isolati da ciascun campione. Il numero dei *taxa* e la loro frequenza di colonizzazione sono stati confrontati al fine di individuare differenze tra epifiti/endofiti, località, età degli aghi, porzioni di ago, stagioni. Le percentuali di co-

Tab. 2 - Taxa fungini epifitici isolati, nel 2003, in ciascun sito di campionamento e loro frequenza di colonizzazione. PV: Pavia; MiGP: Milano Giardini Pubblici; MiSS: Milano S. Siro; BdM: Bagni di Masino; PSM: Passo S. Marco.

Specie	PV %	MiGP %	MiSS %	BdM %	PSM %
<i>Acremoniella atra</i> Saccardo	-	-	2.5	-	-
<i>Alternaria alternata</i> (Fries) Keissler	43.1	43.6	56.4	25.8	23.3
<i>Aspergillus flavus</i> Link	-	-	1.9	2.8	1.3
<i>Aspergillus melleus</i> Yukawa	2.2	1.7	-	0.3	-
<i>Aspergillus niger</i> Tieghem	0.3	5	1.9	1.9	1.3
<i>Aspergillus</i> sp.	5.3	3.6	5	3.6	0.8
<i>Asteroma padi</i> Greville	12.2	16.7	11.1	7.8	6.5
<i>Aureobasidium pullulans</i> (de Bary) G. Arnaud	20.3	14.2	10.6	5.4	21.9
<i>Botrytis cinerea</i> Persoon	-	0.3	-	1.8	1
<i>Chaetomium globosum</i> Kunze ex Fries	1.9	-	-	-	-
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresenius) G.A. de Vries	22.8	4.2	21.1	24.6	6.7
<i>Cladosporium cucumerinum</i> Ellis & Arthur	-	-	-	-	2.6
<i>Cladosporium musae</i> E.W. Mason	-	-	-	2.6	5.4
<i>Cladosporium oxysporum</i> Berkeley & M.A. Curtis	14.4	7.8	6.1	0.4	7.4
<i>Cladosporium sphaerospermum</i> Penzig	-	29.4	0.8	3.8	1
<i>Cladosporium</i> sp.	19.4	12.8	22.5	0.4	8.3
<i>Epicoccum nigrum</i> Link	2.2	4.4	8.6	5.3	3.3
<i>Fusarium equiseti</i> (Corda) Saccardo	-	2.8	1.4	-	-
<i>Fusarium verticillioides</i> (Saccardo) Nirenberg	-	0.6	-	1.8	0.3
<i>Fusarium</i> sp.	0.6	4.2	4.4	0.7	-
<i>Gimmoascus</i> sp.	-	-	-	1.7	-
Lievito	4.7	-	0.8	0.4	2.2
<i>Melanospora zamiae</i> Corda	-	-	2.8	-	-
<i>Micelia without fructifications</i>	3.3	4.2	5.8	4.3	7.2
<i>Monochaetia karstenii</i> (Saccardo & P. Sydow) B. Sutton	-	16.7	-	-	-
<i>Mortierella</i> sp.	2.5	-	-	-	-
<i>Nigrospora oryzae</i> (Berkeley & Broome) Petch	14.2	-	8.6	0.1	1
<i>Nigrospora sphaerica</i> (Saccardo) E.W. Mason	6.7	3.9	-	0.1	0.3
<i>Paecilomyces</i> sp.	1.4	1.7	0.6	1.3	1.3
<i>Penicillium glabrum</i> (Wehmer) Westling	-	2.5	4.4	-	-
<i>Penicillium</i> sp.	5	5	4.4	2.5	1.3
<i>Phoma</i> sp.	10.3	6.1	11.7	6.5	1.5
<i>Pithomyces chartarum</i> (Berkeley & M.A. Curtis) M.B. Ellis	0.8	1.7	0.8	0.7	-
<i>Rhizopus stolonifer</i> (Ehrenberg) Vuillemin	-	2.2	-	-	-
<i>Rhizosphaera kalkhoffii</i> Bubk	2.2	-	-	1.5	3.9
<i>Sordaria fimicola</i> (Roberge ex Desmazières) Cesati & De Notaris	3.6	4.7	0.6	-	-
<i>Stigmina glomerulosa</i> (Saccardo) S. Hughes	3.3	-	-	-	-
<i>Thysanophora penicillioides</i> (Roumeguère) W.B. Kendrick	-	-	-	4.2	1.4
<i>Trichoderma viride</i> Persoon	9.7	5	0.3	-	3.6
<i>Trichoderma</i> sp.	-	1.1	-	11.1	1.4
<i>Tripospermum</i> sp.	1.7	0.6	0.3	2.4	-
<i>Trullula</i> sp.	0.6	-	3.9	-	-
<i>Ulocladium atrum</i> Preuss	-	1.9	0.8	-	-
<i>Ulocladium consortiale</i> (Thümen) E.G. Simmons	-	-	-	0.3	2.6

Altri taxa fungini epifitici frequenza di colonizzazione inferiore all'1%**Località cittadine**

Aspergillus flavus var. *columnaris* Raper & Fennell, *Botrytis* sp., *Chaetomium aterrimum* Ellis & Everhart, *Chaetomium elatum* Kunze & J.C. Schmidt: Fries, *Cladosporium herbarum* (Persoon) Link, *Curvularia affinis* Boedijn, *Dictyotrichiella mansonii* Schol-Schwarz, *Dipsacomyces* sp., *Gelasinospora retispora* Cain, *Gliocladium* sp., *Gliomastix* sp., *Penicillium citreonigrum* Dierckx, *Penicillium corylophilum* Dierckx, *Penicillium dierckxii* Biourge, *Penicillium italicum* Wehmer, *Penicillium janthinellum* Biourge, *Penicillium olsonii* Bainier & Sartory, *Pestalotia stevensonii* Peck, *Phoma medicaginis* Malbranche & Roumeguère, *Rhizopus* sp., *Sporobolomyces roseus* Kluyver & C.B. Niel, *Torula herbarum* (Persoon) Link, *Ulocladium oudemansii* E.G.

Località montane

Acremonium sp., *Aspergillus versicolor* (Vuillemin) Tiraboschi, *Beauveria* sp., *Bipolaris sorokiniana* (Saccardo) Shoemaker, *Endofragmia* sp., *Fusarium graminearum* Schwabe, *Fusarium oxysporum* Schlechtendal, *Hormonema* sp., *Leptosphaeria* sp., *Monodictys putredinis* (Wallroth) S. Hughes, *Mortierella clausenii* Linnemann, *Mucor* sp., *Myrothecium roridum* Tode, *Oidiodendron griseum* Robak, *Penicillium brevicompactum* Dierckx, *Penicillium chrysogenum* Thom, *Penicillium miczynskii* K.M. Zalesky, *Phoma glomerata* (Corda) Wollenweber & Hochapfel, *Phomopsis* sp., *Sclerotium* sp., *Scoliosporium fusarioides* (Saccardo) B. Sutton, *Scytalidium* sp., *Stachybotrys chartarum* (Ehrenberg) S. Hughes, *Taeniocella stilbospora* (Corda) S. Hughes, *Thielaviopsis* sp., *Trichoderma harzianum* Rifai, *Verticillium* sp.

Entrambe le tipologie di località

Aspergillus fumigatus Fresenius, *Bipolaris cynodontis* Wallwork et al., *Bipolaris spicifera* (Bainier) Subramanian, *Chaetomium bostrychodes* Zopf, *Chaetomium* sp., *Hialodendron* sp., *Mucor hiemalis* Wehmer, *Penicillium oxalicum* Currie & Thom.

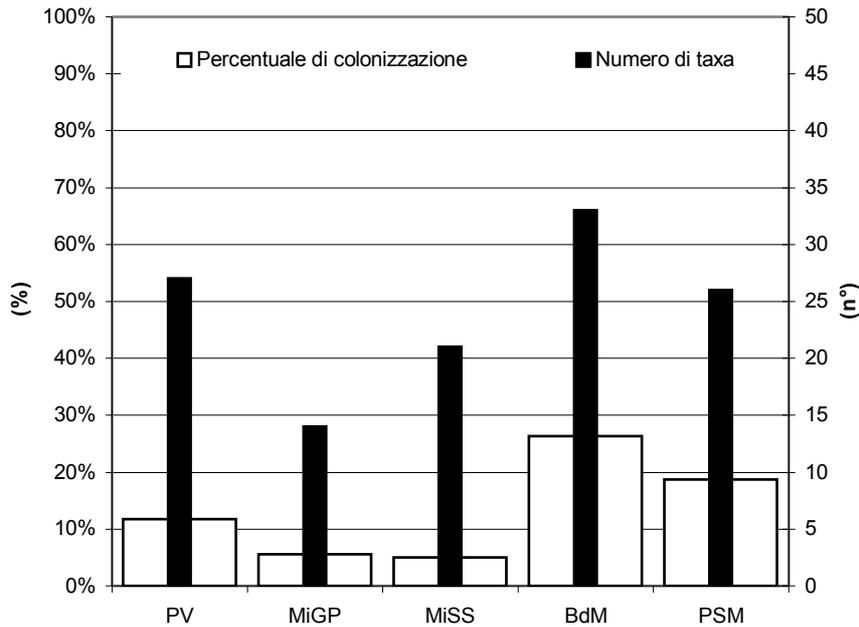


Fig. 1 - Numero di *taxa* funghi endofitici e frequenza di colonizzazione degli aghi nei cinque siti di campionamento. PV: Pavia; MiGP: Milano Giardini Pubblici; MiSS: Milano S. Siro; BdM: Bagni di Masino; PSM: Passo S. Marco.

lonizzazione sono state confrontate mediante il test del chi-quadrato per valutare la significatività delle differenze tra località cittadine e montane.

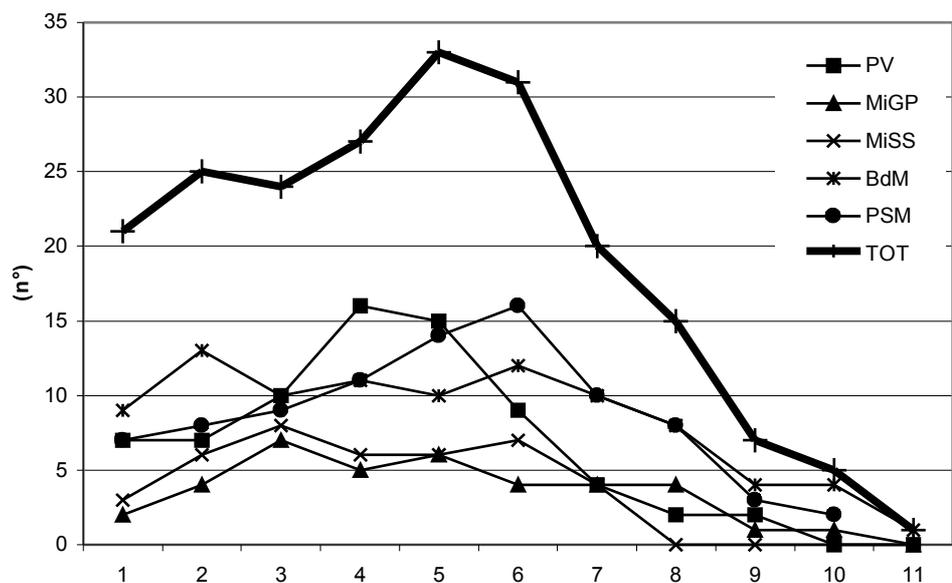
Dati annuali relativi ai parametri meteoroclimatici ed alle concentrazioni dei principali inquinanti per i 5 anni antecedenti i campionamenti sono stati forniti da enti dotati di reti di monitoraggio permanente quali l'Archivio Dati della Rete di Monitoraggio della Regione Lombardia e il Ministero per le Politiche Agricole e Forestali, Corpo Forestale dello Stato (Servizio CON.ECO.FOR.), Programma Nazionale per il Controllo degli Ecosistemi Forestali (CON.ECO.

FOR.), co-finanziato dalla Commissione Europea.

Risultati

Lo studio della comunità endofitica degli aghi di *Picea abies* ha permesso l'isolamento di 67 *taxa* funghi (tab. I) di cui 57 nel 2003 e 24 nel 2004. Nella stazione Bagni di Masino sono stati isolati 33 *taxa*, anche a Pavia e a Passo S. Marco il numero di *taxa* era elevato, 27 e 26 *taxa* rispettivamente (fig. 1). In tutti i siti di campionamento il maggior numero di *taxa* è stato riscontrato negli aghi di 5-6 anni (fig. 2), in particolare sul frammento apicale (fig. 3), ed è gradual-

Fig. 2 - Numero di *taxa* funghi endofitici degli aghi di diverse classi di età. PV: Pavia; MiGP: Milano Giardini Pubblici; MiSS: Milano S. Siro; BdM: Bagni di Masino; PSM: Passo S. Marco, TOT: numero di *taxa* riscontrati nella totalità dei campioni di ciascuna classe di età.



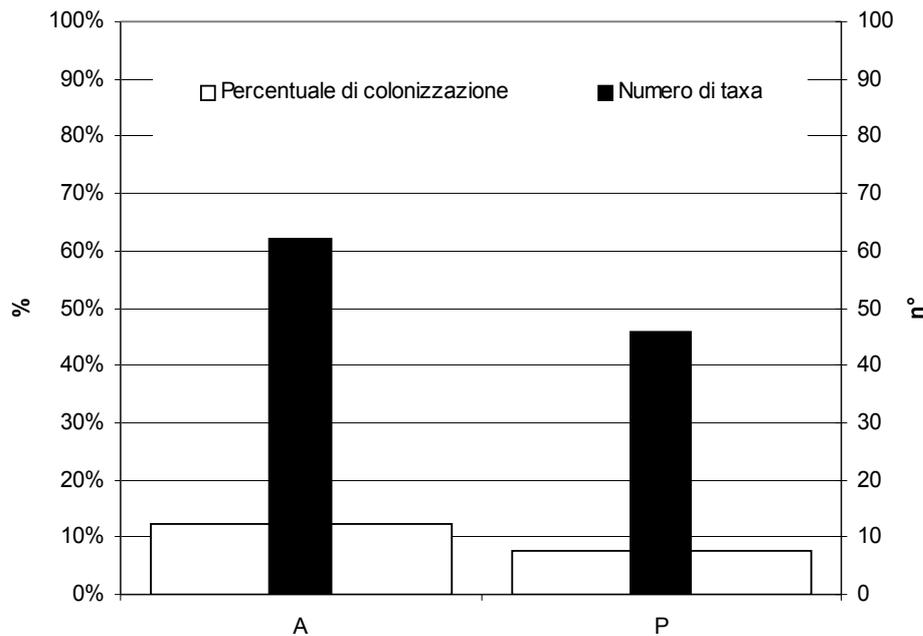


Fig. 3 - Numero di *taxa* fungini endofitici e frequenza di colonizzazione dei due frammenti, apicale (A) e basale (P), in cui è stato suddiviso l'ago per l'analisi.

mente diminuito con l'età negli aghi più vecchi. La colonizzazione di entrambi i frammenti è aumentata fino al 6° anno di vita, poi, gradualmente, è diminuita; solo il frammento apicale ha mostrato un secondo incremento al 10° anno. La percentuale complessiva di colonizzazione degli aghi è risultata del 17% con differenze notevoli tra siti naturali e antropizzati: mentre a Bagni di Masino e Passo S. Marco si è riscontrata una frequenza di colonizzazione del 26% e 19%, rispettivamente, i siti urbani hanno evidenziato una frequenza di colonizzazione inferiore al 15%

(fig. 1).

La percentuale di colonizzazione degli aghi è diminuita nel mese di agosto 2003 ed è rimasta pressoché stabile nel successivo autunno, per subire un costante incremento a partire dalla primavera 2004. Il numero dei *taxa* è aumentato nel mese di agosto 2003, è rimasto pressoché stabile nell'autunno e per tutto il 2004.

L'analisi dei risultati ha permesso di evidenziare una diversa distribuzione delle specie endofitiche nelle due tipologie ambientali indagate: alcune risul-

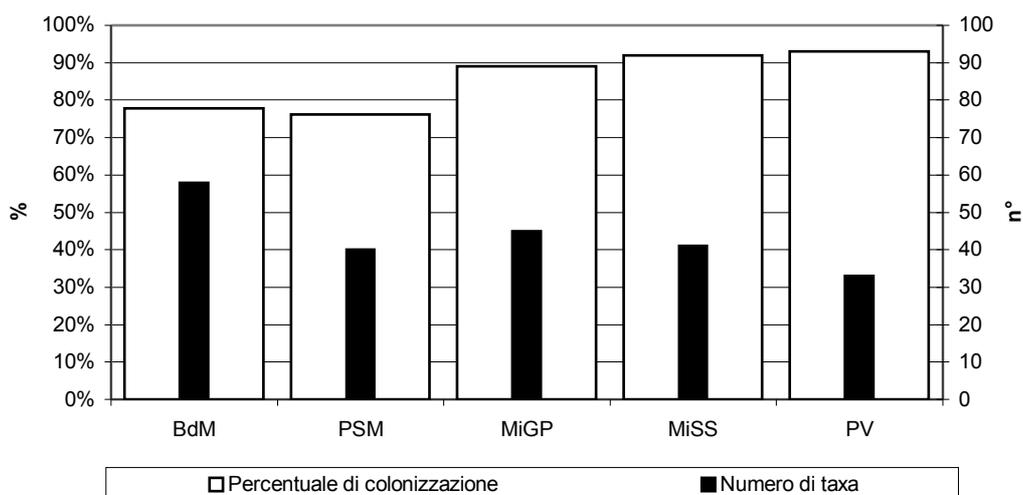


Fig. 4 - Percentuale di colonizzazione e numero di *taxa* fungini epifitici degli aghi nelle diverse stazioni di campionamento. PV: Pavia; MiGP: Milano Giardini Pubblici; MiSS: Milano S. Siro; BdM: Bagni di Masino; PSM: Passo S. Marco.

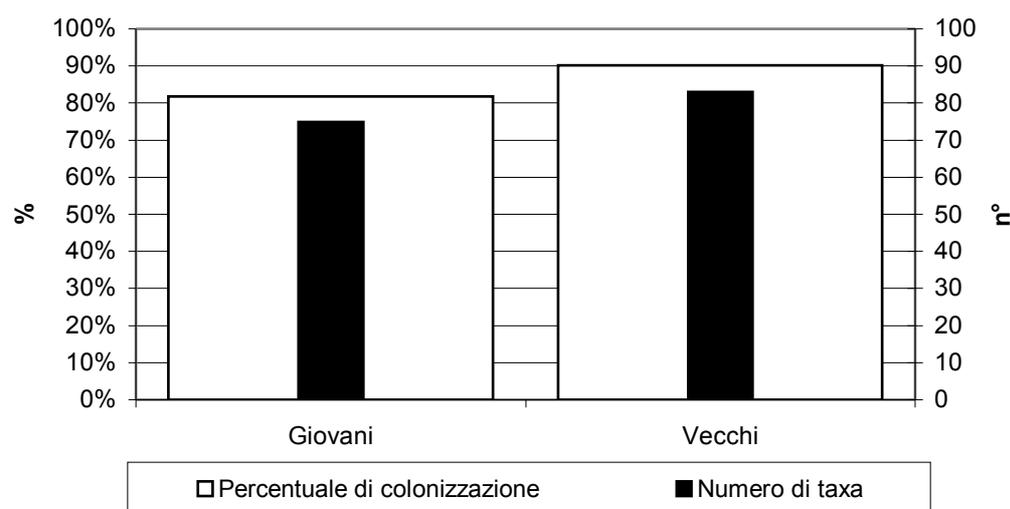


Fig. 5 - Percentuale di colonizzazione e numero di *taxa* fungini epifitici degli aghi con età superiore (vecchi) ed inferiore (giovani) ad un anno

tano più frequenti nei siti naturali, altre in quelli cittadini, altre ancora si trovano in entrambi, individuando in tal modo la presenza di cinque principali raggruppamenti. Mediante l'applicazione del test del chi-quadrato è stato possibile verificare l'omogeneità di comportamento dei *taxa* fungini endofitici presenti all'interno di ciascuno dei 5 *cluster*. L'analisi statistica ha evidenziato un'alta attendibilità dei risultati per il *cluster* che include i *taxa*: *Acremonium sclerotigenum*, *Amerosporiopsis gaubae*, *Aspergillus versicolor*, *Cladosporium herbarum*, *Cryptosporiopsis abetina*, *Disculina vulgaris*, *Fusamen* sp., *Fusarium verticillioides*, *Haplospheeria* sp., *Helhonia* sp., *Heteroconium chaetospora*, *Hormonema* sp., *Myrothecium verrucaria*, *Paecilomyces maquandii*, *Penicillium expansum*, *Penicillium griseoroseum*, *Penicillium mirabile*, *Perisporium arundinis*, *Phialophora bubakii*, *Phoma levellei*, *Septoriella* sp., *Sirococcus* sp., *Thysanophora canadensis*, *Tiarospora parca*, *Tripospermum* sp., *Tritirachium* sp. e *Zythiostroma pinastri* ($\chi^2/n = 0.0444$; $p < 0.001$) che risultano caratterizzare significativamente i siti naturali. Analogamente, i *taxa*: *Acremonium fusidioides*, *Actinocladium rhodosporium*, *Aspergillus* sp., *Beauveria bassiana*, *Bipolaris cynodontis*, *Chaetomium madrasense*, *Cladosporium oxysporum*, *Diaphorte* sp., *Diplodia mutila*, *Fusarium* sp., *Fusarium subglutinans*, *Nigrospora sphaerica*, *Penicillium citreonigrum*, *Penicillium olsonii*, *Readeriella* sp., *Rhizopus* sp., *Sphaeropsis sapinea*, *Trimmatostroma* sp., *Trullula* sp., *Zigosporium gibbum* caratterizzerebbero i siti urbani ($\chi^2/n = 0.4995$; $p < 0.003$).

Per quanto riguarda l'indagine condotta sugli epifiti fungini, sono stati isolati 106 *taxa* (tab. 2), di cui il maggior numero è stato riscontrato a Bagni di Masino (58), e il minore a Pavia (33 - fig. 4). L'86% degli

aghi indagati è risultato colonizzato da micelio fungino e il valore di colonizzazione massimo è stato rilevato nella stazione di Pavia (93% - fig. 4). L'analisi dei risultati ha evidenziato una diversa distribuzione delle specie nelle due tipologie ambientali indagate: anche in questo caso alcune risultano più frequenti nei siti naturali, altre in quelli cittadini e sono stati individuati sei principali raggruppamenti. Uno dei sei raggruppamenti, che rappresenta il 3.55% del totale, è costituito da *taxa* isolati esclusivamente nel sito cittadino: *Acremoniella atra*, *Fusarium equiseti*, *Melanospora zamiae*, *Mortierella* sp., *Penicillium glabrum*, *Rhizopus stolonifer*, *Sordaria fimicola*, *Stigmmina glomerulosa*, *Trullula* sp., *Ulocladium atrum*. Mediante l'applicazione del test del Chi-quadrato è stato ulteriormente possibile verificare l'omogeneità di comportamento dei *taxa* fungini epifitici presenti all'interno di ciascuno degli altri *cluster*. L'analisi statistica ha evidenziato un'alta attendibilità dei risultati per il *cluster* che include i *taxa*: *Acremonium* sp., *Aspergillus versicolor*, *Beauveria* sp., *Bipolaris sorokiniana*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium cucumerinum*, *Cladosporium musae*, *Endofragmia* sp., *Fusarium graminearum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium verticillioides*, *Gimnoascus* sp., *Hormonema* sp., *Leptosphaeria* sp., *Monodictys putredinis*, *Mortierella clausenii*, *Mucor* sp., *Myrothecium roridum*, *Oidiodendron griseum*, *Penicillium brevicompactum*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium miczynskii*, *Phoma glomerata*, *Phomopsis* sp., *Sclerotium* sp., *Sclerosporium fusarioides*, *Scytalidium* sp., *Stachybotrys chartarum*, *Teniolella stilbospora*, *Thielaviopsis* sp., *Thysanophora penicillioides*, *Trichoderma* sp., *Tricoderma harzianum*, *Ulocladium consortiale*, *Verticillium* sp. ($\chi^2/n = 0.4622$; $p < 0.003$) che caratterizzano, in tal modo, i

siti naturali.

Gli aghi con età superiore ad un anno erano maggiormente ricchi in *taxa* rispetto a quelli con età inferiore (83 vs. 75); la stessa osservazione è riferibile alla percentuale di colonizzazione (90% per quelli con età superiore all'anno, 82% per quelli con età inferiore) (fig. 5). La percentuale di colonizzazione è aumentata nel mese di agosto ed è, successivamente, diminuita nell'autunno. Il numero di *taxa* fungini è diminuito gradualmente dai campionamenti primaverili a quelli autunnali e ciò è stato evidenziato sugli aghi di tutte le età.

Discussione

Rari sono, in letteratura, i lavori in cui si confronti la comunità endofitica di essenze arboree in siti naturali rispetto a siti urbani (Deckert & Peterson 2000), nonostante siano reperibili dati relativi a studi di comunità endofitiche di diverse essenze forestali (Petrini & Carroll 1981, Johnson & Whitney 1989, Petrini et al. 1990, Ragazzi et al. 2003). Nel corso del presente lavoro diversi livelli di infezione endofitica sono stati rinvenuti in *Picea abies* al variare della località cittadina o naturale, della porzione dell'ago (apicale o basale) e dell'età dello stesso. Relativamente al primo punto è utile sottolineare come il maggior numero di *taxa* e la maggior percentuale di colonizzazione sono stati rinvenuti, in generale, nei siti naturali ed in particolare, a Bagni di Masino, sede di monitoraggio CON.ECO.FOR. Il calcolo del chi-quadrato ha, inoltre, evidenziato come alcuni dei *taxa* rinvenuti presentino una significativa predilezione per l'ambiente montano rispetto a quello cittadino e indirizzino approfondimenti futuri nei loro riguardi quali indicatori della naturalità ambientale. Il confronto dei dati termici degli anni 1998-2003 ha evidenziato la presenza, nei siti naturali, di un clima più freddo di 5-10°C rispetto a quello delle località cittadine con valori invernali che scendono spesso sotto lo zero e che non superano mai i 20°C in estate. *Picea abies* è resistente alle basse temperature, può essere inclusa nel gruppo delle specie microterme (Gellini & Grassoni 1996) e, nonostante le sua buona adattabilità a differenti condizioni climatiche, potrebbe essere soggetta, in città, a stress termici, in particolare nei periodi estivi. Anche l'analisi dei dati pluviometrici rilevati negli anni 1998-2003 nelle stazioni naturali ed urbane ha evidenziato la presenza di una maggiore piovosità nelle stazioni naturali, rispetto a quelle cittadine. *Picea abies* è esigente in fatto di umidità atmosferica ed edafica, richiede perciò piogge frequenti nel periodo vegetativo (Pignatti 1982). Stanosz et al.

(2001) dimostrarono infatti, che la patologia causata da *Sphaeropsis sapinea*, rilevata nel corso del presente lavoro esclusivamente nei siti cittadini, è stata spesso associata a periodi di siccità ed alla sua capacità di persistere in fase di quiescenza nella pianta. L'eterogeneità della distribuzione degli endofiti fungini tra siti naturali e cittadini, già evidenziata su *Pinus strobus* da Deckert & Peterson (2000), potrebbe trovare ulteriore spiegazione nella diversa situazione ambientale riscontrabile nelle due tipologie campionate. Le località di Pavia e Milano (siti cittadini) sono caratterizzate da scarsa qualità dell'aria (ARPA Lombardia 2003): è possibile che gli inquinanti legati all'attività umana possano ostacolare la trasmissione ed il successo di infezione dei propaguli fungini endofitici come precedentemente dimostrato da Heliovaara et al. (1989) e Asai et al. (1998).

I principali *taxa* endofitici isolati (*Zythiostroma pinastri*, *Tiarosporella parca*, *Sirococcus*), a comportamento generalmente saprotrofo o debolmente patogeno sembrano particolarmente legati ai siti naturali, eccezion fatta per rari riscontri di *Zythiostroma pinastri* a Milano. Il genere *Zythiostroma* era già noto quale colonizzatore della lettiera di pino (Minter 1980, Minter 1981) e la specie *Z. pinastri* è segnalata patogena delle conifere delle foreste siberiane (Hansen & Lewis, 1997).

La specie *Tiarosporella parca* è stata precedentemente riscontrata su aghi sofferenti o di lettiera di *Picea abies* (Siebert 1989) e, recentemente, quale endofita in aghi verdi di abete rosso. È particolarmente frequente nelle peccete svizzere (Heiniger & Schmid 1989) ed è stata trovata frequentemente anche su aghi vecchi in Austria (Cech & Tomiczek 1998). La sua presenza non è limitata all'Europa essendo stata rinvenuta anche in Canada su *Picea* spp. (Sutton 1980). In Inghilterra, Germania, Norvegia, Svezia e Finlandia sembra essere più comune *Lophodermium piceae* (Sutton 1980; Solheim 1994).

Il genere *Sirococcus* annovera tra le proprie specie *S. conigenus*, agente causale dello "Shoot Blight Disease" (Hansen & Lewis 1997). *S. conigenus* causa danni a molte conifere nelle zone temperate e boreali del nord Europa ed America (Smith et al. 2003); *Picea abies* è colpita sia allo stadio di germinello sia di pianta adulta. In Austria la malattia è diffusa fin dal 1980 (Neumüller 1994, Halmschlager et al. 2000), in Trentino può essere grave, ma è limitata a singoli esemplari (Maresi et al. 2001). Questo *taxon* può comportarsi da patogeno ma, talvolta, può colonizzare asintomaticamente e può essere isolato da rametti, germogli ed aghi apparentemente sani (Butin

1986, Neumüller 1994, Halmschlagger et al. 2000). Secondo Anglberger et al. (2003) la presenza di squilibri nutrizionali, principalmente di Ca, Mg e N può rendere la pianta più suscettibile al patogeno.

Nell'ambito dell'indagine sulla distribuzione degli endofiti in *Picea abies* un altro dato da evidenziare è la distribuzione dell'endofita all'interno dell'ago. La suddivisione dei singoli aghi in frammenti ha permesso non solo di isolare un maggior numero di endofiti, ma anche di individuare nella porzione apicale dell'ago quella maggiormente colonizzata. La morfologia della porzione vegetale studiata sembra, infatti, influenzare la frequenza di colonizzazione delle diverse porzioni di tessuto (Cannon & Simmons 2002). Studi condotti su conifere hanno evidenziato sia una maggiore incidenza della colonizzazione endofitica della porzione basale dell'ago (Bernstein & Carroll 1977), che una maggiore colonizzazione di quella apicale (Deckert & Peterson 2000). Come ipotizzato da Cannon & Simmons (2002) la morfologia dell'ago di *Picea abies* potrebbe influenzare il flusso delle gocce di umidità o pioggia in una direzione preferenziale sull'ago indirizzando il movimento delle spore fungine verso l'apice e facilitando il loro sviluppo.

La colonizzazione endofitica delle conifere può essere influenzata, non solo dalla morfologia ma anche dall'età dell'ago (Bernstein & Carroll 1977, Carroll & Carroll 1978, Petrini & Carroll 1981, Barklund 1987, Espinosa-Garcia & Langenheim 1990, Stone et al. 1994, Stone & Petrini 1997). Ciò è in accordo con quanto da noi riscontrato essendo stato evidenziato un aumento del numero di *taxa* e della percentuale di aghi colonizzati al progredire dell'età degli aghi sino al 5° - 6° anno di vita.

La valutazione della comunità fungina epifitica rilevata esclusivamente nel corso del 2003 ha permesso di evidenziare la presenza di un maggior numero di *taxa* (106) rispetto a quella endofitica (57): tale differenza risulta rilevante in tutte le stazioni. Inoltre, mediante l'utilizzo del test del chi-quadrato, è stato possibile evidenziare il riscontro significativo di un comportamento omogeneo di alcuni *taxa* fungini in una tipologia di località indagata, mentre altri hanno significativamente colonizzato l'altra, indicando una capacità di discriminazione tra siti urbani e siti naturali. La percentuale di colonizzazione degli aghi, nelle due comunità differisce enormemente: l'86% degli aghi sono risultati colonizzati da funghi epifiti mentre solo il 18% è stato interessato da colonizzazione endofitica. La ricca e diversificata comunità fungina

epifitica riscontrata è costituita da numerosi generi fungini noti quali colonizzatori della superficie fogliare delle conifere (Minter 1980, Mishra & Das 1981, Minter 1981). Essa è caratterizzata da un piccolo numero di *taxa* ad elevata frequenza di colonizzazione e da un nutrito gruppo di *taxa* che, a differenza del precedente, evidenzia bassa frequenza di colonizzazione, in accordo con quanto riportato da Christensen (1981) e Bills & Polishook (1991).

Il maggior numero di *taxa* è stato individuato nei siti naturali, in particolare a Bagni di Masino; la maggior percentuale di colonizzazione è stata invece rilevata a Pavia ed, in generale, nei siti urbani. In riferimento a ciò è stato precedentemente ipotizzato che l'inquinamento possa alterare il processo di colonizzazione del tessuto fogliare da parte dei microrganismi (Millar 1981) e che le polveri, provenienti dall'atmosfera e deposte sulla superficie fogliare, possano avere un forte effetto stimolante sul numero delle colonie fungine presenti sul filloplano, ma non sul numero delle specie (Manning 1971). Il maggior numero di *taxa* fungini e la maggior percentuale di colonizzazione si sono riscontrati negli aghi con più di 12 mesi di età; Mishra & Dickinson (1981) hanno evidenziato, infatti, la presenza di ripetute ondate di colonizzazione durante lo sviluppo fogliare. Questo processo è ciclico sulle foglie che, come quelle della maggior parte delle conifere, rimangono vitali sulla pianta per più anni e conduce ad una diminuzione della popolazione in inverno e in primavera ed a un incremento in estate ed in autunno.

Ringraziamenti

Si ringrazia l'Archivio Dati della Rete di Monitoraggio della Regione Lombardia (<http://www.ambiente.regione.lombardia.it/webqa/aria/Archivio.htm>) ed il Ministero per le Politiche Agricole e Forestali (Corpo Forestale dello Stato, Servizio CON.E-CO.FOR.) per averci fornito i dati meteorologici e le concentrazioni dei principali inquinanti dei siti oggetto di indagine.

Bibliografia

- Anglberger H, Sieghardt M, Katzensteiner K, Halmschlagger E (2003). Needle nutrient status of *Sirococcus* shoot blight disease and healthy Norway spruces. *Forest Pathology* 33: 21-29.
- Anselmi N, Tannini A, Mazzaglia A (2000). The role of endophytes in oak decline. In: "Decline of oak species in Italy. Problems and perspectives" (Ragazzi A, Dellavalle I eds). Accademia italiana di Scienze forestali, Firenze, pp

- 129-144.
- Antal K, Joo P (1995). Fast method for the detection of transport process in plant tissues by radiotracing. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 190: 251-256.
- ARPA Lombardia (2003). Rapporto sullo stato dell'ambiente in Lombardia 2003. Segnali ambientali. Agenzia Regionale per la Protezione dell'Ambiente in Lombardia. [online] URL: <http://www.arpalombardia.it>
- Asai EI, Hata K, Futai K (1998). Effect of simulated acid rain on the occurrence of *Lophodermium* of Japanese black pine needles. *Mycological Research* 102: 1316-1318.
- Barklund P (1987) Occurrence and pathogenicity of *Lophodermium piceae* appearing as an endophyte in needles of *Picea abies*. *Transaction British Mycological Society* 89 (3): 307-313.
- Bernstein ME, Carroll GC (1977). Internal fungi in old growth Douglas fir foliage. *Canadian Journal of Botany* 55: 644-653.
- Bills GF (1996). Isolation and analysis of endophytic fungal communities from woody plants. In: "Endophytic fungi in grasses and woody plants. Systematics, Ecology and Evolution" (Redlin SC, Carris LM eds). APS Press, St. Paul, Minnesota, pp. 31-65.
- Bills GF, Polishook JD (1991). Microfungi from *Carpinus caroliniana*. *Canadian Journal of Botany* 69: 1477-1482.
- Bukovac MJ, Wittwer SH (1957). Absorption and mobility of foliar applied nutrients. *Plant Physiology* 32: 428-435.
- Butin H (1986). Endophytische Pilze in gruen Nadleln der Fichte (*Picea abies*). *Zeitschrift für Mykologie* 32: 335-346.
- Cannon PF, Simmons CM (2002). Diversity and host preference of leaf endophytic fungi in the Iwokrama Forest Reserve, Guyana. *Mycologia* 94 (2): 210-220.
- Carroll GC, Carroll FE (1978). Studies on incidence of coniferous needle endophytes in the Pacific Northwest. *Canadian Journal of Botany* 56: 3034-3043.
- Cech T, Tomiczek C (1998). *Tiarosporella parca* (Berk. and Br.) Whitney - ester Nachweis in Osterreich. *European Journal of Forest Pathology* 18: 382-384.
- Christensen MA (1981). Species diversity and dominance in fungal communities. In: "The fungal community" (Wicklow DT, Carroll GC eds). Marcel Dekker, New York, pp. 201-232.
- Deckert RJ, Peterson RL (2000). Distribution of foliar fungal endophytes of *Pinus strobus* between and within host trees. *Canadian Journal of Forest Research* 30 (9): 1436-1442.
- Dix NJ, Webster J (1995). *Fungal Ecology*. Chapman and Hall, London, UK.
- Domsh KH, Gams W, Anderson TH (1998). *Compendium of soil fungi*. Academic Press, London, UK.
- Donabauer E (1998). Die Bedeutung von Krankheitserregern beim gegenwertigen Eichensterben in Europa - eine Literaturübersicht. *European Journal of Forest Pathology* 28: 91-98.
- Ellis MB (1971). *Dematiaceous hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, UK.
- Ellis MB (1976). *More dematiaceous hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, UK.
- Espinosa-Garcia FJ, Langenheim JH (1990). The endophytic fungal community in leaves of a coastal redwood population. *Diversity and spatial patterns*. *New Phytologist* 116: 89-97.
- Franceschini A, Maddau L, Marras F (2002) Osservazioni sull'incidenza di endofiti fungini associate al deperimento di *Quercus suber* e *Q. pubescens*. *Atti del Convegno Nazionale: "L'endofitismo di funghi e batteri patogeni in piante arboree ed arbustive"*. Sassari, Tempio Pausania, 19-21 maggio 2002, pp. 313-326.
- Gellini R, Grassoni P (1996). *Botanica forestale I. Gimnosperme*. CEDAM, Padova, Italia.
- Halmschlager E, Gabler A, Andae F (2000). The impact of *Sirococcus* shoot blight on radial and height growth of Norway spruce (*Picea abies*) in young plantations. *Forest Pathology* 30: 127-133.
- Hansen EM, Lewis KJ (1997). *Compendium of conifer diseases*. APS Press - The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA.
- Heiniger U, Schmid M (1989). Association of *Tiarosporella parca* with reddening and needles cast in Norway spruce. *European Journal of Forest Pathology* 19: 144-150.
- Helander ML, Neuvonen S, Ranta H (1996). Natural variation and effects of antropogenic environmental changes on endophytic fungi in trees. In: "Endophytic fungi in grasses and woody plants" (Redlin SC, Carris LM eds). Systematics, Ecology and Evolution. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA, pp. 197-207.
- Heliövaara K, Vaisanen R, Vetila A (1989). Hysterothecia production of *Lophodermium species* (Ascomycetes) in relation to industrial air pollution. *Karstenia* 29: 29-36.
- Johnson JA, Whitney NJ (1989). An investigation of needle endophyte colonization patterns with respect to height and compass direction in a single crown of balsam fir (*Abies balsamea*). *Canadian Journal of Botany* 67: 723-725.
- Jyung WH, Wittwer SH (1964). Foliar absorption - an active uptake process. *American Journal of Botany* 51 (4): 437-444.
- Kowalski T (1991). Oak decline: I. Fungi associated with various disease symptoms on overground portions of middle-aged and old oak (*Quercus robur* L.). *European Journal of Forest Pathology* 21: 136-151.
- Lorenzi E, Picco AM (2004). Isolamento di funghi endofiti da *Picea abies* (L.) Karst. con diversi approcci metodologici. *Micologia Italiana* XXXIII (3): 50-58.
- Luisi N, Frisullo S, Mannerucci F (1991). Patogenicità di

- specie fungine associate al deperimento della quercia nell'Italia meridionale. Atti del Convegno Nazionale: "Aspetti fisiologici delle Querce". Firenze, 19-20 Novembre 1990.
- Malakondaiah N, Safaya NM, Wali MK (1981). Responses of alfalfa and Barley to foliar applications of N and P on a coal mine spoil. *Plant and Soil* 59: 441-453.
- Manning WJ (1971). Effects of limestone dust on leaf condition, foliar disease incidence, and leaf surface microflora of native plants. *Environmental Pollution* 2: 69-76.
- Maresi G, Ambrosi P, Angeli F, Capretti P (2001). Arrossamenti delle chiome e *Rhizosphaera kalkhoffii* Bubàk su *Picea abies* in Trentino. *Monti e Boschi* 3 (4): 19-23.
- Millar CS (1981). Infection processes on conifer needles. In: "Microbial ecology of the phylloplane" (Blakeman JP ed). Academic Press, London, UK, pp. 185-209.
- Millar CS, Richards GM (1974). A cautionary note on the collection of plant specimens for mycological examination. *Transaction British Mycological Society* 63 (3): 607-610.
- Minter DW (1980). Contribution to the fungus flora of Rhum: microfungi on pines. *Transaction and Proceedings of the Botanical Society of Edinburgh* 43 (3): 177-188.
- Minter DW (1981). Microfungi on needles, twigs and cones of pines in Czechoslovakia. *Ceska mykologie* 35 (2): 90-101.
- Mishra RR, Das PK (1981). Fungal succession on conifer needles. In: "Microbial ecology of the phylloplane" (Blakeman JP ed). Academic Press, London, UK, pp. 475-485.
- Mishra RR, Dickinson CH (1981). Phylloplane and litter fungi of *Ilex aquifolium*. *Transactions of the British Mycological Society* 77: 329-337.
- Neumüller A (1994). Beteiligung von Pilzen am Zweig- und Aststerben der Fichte im Revier Sonnenwald (Bohmerwald). In: "Zustandsdiagnose und sanierungskonzepte für belastete Waldstandstorte in der Böhmischen Masse" (Fuhrer E, Neuhuber F eds). *Forstl Schriftenreihe Univ. Bodenkultur* 7: 171-190.
- Petrini O, Carroll G (1981). Endophytic fungi in foliage of some *Cupressaceae* in Oregon. *Canadian Journal of Botany* 59: 629-636.
- Petrini O, Hake U, Dreyfuss MM (1990). An analysis of fungal communities isolated from fruticose lichens. *Mycologia* 82: 444-451.
- Pignatti S (1982). *Flora d'Italia*, vol. 1. Edagricole, Bologna, Italia.
- Ragazzi A (2004). Endophytism: knowns and unknowns of an age-old phenomenon. In: "Endophytism in forest trees" (Ragazzi A, Moricca S, Dellavalle I eds). *Accademia Italiana di Scienze Forestali*, Firenze, pp. 15-32.
- Ragazzi A, Moricca S, Capretti P, Della Valle I, Turco E (2003). Differences in composition of endophytic microbiota in twigs and leaves of healthy and declining *Quercus* species in Italy. *Forest Pathology* 33: 31-38.
- Schulz B, Römmert AK, Dammann U, Aust HJ, Strack D (1999). The endophyte-host interaction: a balanced antagonism? *Mycological Research* 103 (10): 1275-1283.
- Siebert TN (1989). Endophytic fungi in twigs of healthy and diseased Norway spruce and white fir. *Mycological Research* 92 (3): 322-326.
- Smith DR, Bronson JJ, Stanosz GR (2003). Host related variation among isolates of the *Sirococcus* shoot blight pathogen from conifers. *Forest Pathology* 33: 141-156.
- Solheim H (1994). Occurrence of the Norway spruce needles endophytes *Lophodermium piceae* and *Tiarosporella parca* at the permanent plots of the Norwegian monitoring programme for forest damage. In: "Shoot and foliage diseases in forest trees". *Proceedings of a Joint Meeting of the working parties canker and shoot blight of conifers foliage diseases* (Capretti P, Heiniger U, Stephan R eds). *Valombrosa*, Firenze.
- Stanosz GR, Blodgett JT, Smith DR, Kruger EL (2001). Water stress and *Sphaeropsis sapinea* as a latent pathogen of red pine seedlings. *New Phytologist* 149: 531-538.
- Stone J, Petrini O (1997). Endophytes of forest trees: a model for fungus-plant interactions. In: "The Mycota" (Carroll GC, Tudzynski P eds), vol. V, part B. Springer-Verlag, Heidelberg, Germany, pp. 257-276.
- Stone JK, Viret O, Petrini O, Chapela IH (1994). Histological studies of host penetration and colonization by endophytic fungi. In: "Host wall alteration by parasitic fungi" (Ouellette GB, Petrini O eds). *APS Press*, St. Paul, Minnesota, USA, pp. 115-126.
- Suske J, Acker G (1990). Host-endophyte interaction between *Lophodermium piceae* and *Picea abies*: cultural, ultrastructural and immunocytochemical studies. *Sydowia* 42: 211-217.
- Sutton BC (1980). *The Coelomycetes*. Commonwealth Mycological Institute Kew, Surrey.
- Wilson D (2000). Ecology of woody plant endophytes. In: "Microbial endophytes" (Bacon CW, White JF Jr. eds), *Marcel Dekker Inc.*, New York, USA, pp. 389-420.