

Lotta al marciume bruno delle drupacee: un'alternativa ai fungicidi di sintesi

ALICE SPADONI - ALESSANDRA DI FRANCESCO - MARTA MARI

CRIOF - DipSA - Università di Bologna

Significativi progressi sono stati ottenuti nell'ambito delle strategie alternative di lotta alla *Monilia*, anche se è prematuro poter disporre di mezzi al tempo stesso pienamente efficaci, rispettosi dell'ambiente e della salute umana. In questo scenario la termoterapia appare lo strumento che meglio si adatta alle esigenze attuali grazie alla salubrità del trattamento, all'apprezzabile efficacia e alla facile procedura di registrazione.

Il marciume bruno è una delle principali alterazioni fungine che colpiscono le drupacee in ogni areale di produzione. La malattia può essere causata da tre specie: *Monilinia laxa* (Aderhold e Ruhland) Honey, *Monilinia fructicola* (Winter) Honey e *Monilinia fructigena* (Aderhold e Ruhland). Quest'ultima infetta prevalentemente le pomacee, mentre *M. fructicola*, pur essendo ancora inserita nella lista A2 dell'EPPO quale patogeno da quarantena, è stata rinvenuta in diversi Paesi europei. La prima segnalazione di *M.*

fructicola in Italia è avvenuta nel 2009.

Tutti i tre patogeni possono causare importanti perdite di prodotto, più spesso dopo la raccolta, durante la conservazione e la commercializzazione. In Europa, l'entità di queste perdite può raggiungere valori molto alti (59%) con drammatiche ricadute sulla commercializzazione dei frutti. Le condizioni climatiche che in prossimità dell'epoca di raccolta favoriscono ampiamente lo sviluppo del marciume sono: alta umidità, temperature miti e frequenti piogge. I disciplinari di lotta integrata raccomandano al massimo tre trattamenti fungicidi durante la stagione vegetativa, specifici per il contenimento delle moniliosi, il primo alla fioritura, e gli altri due prima della raccolta nel rispetto dei tempi di carenza dei principi attivi usati. Non sono previsti trattamenti con fungicidi in post-raccolta, nonostante alcuni Paesi quali la Spagna e in ultimo anche l'Italia abbiano ottenuto deroghe per l'utilizzo di alcuni principi attivi. Ciò nonostante, è bene ricordare come un'efficace lotta al marciume bruno abbia bisogno di strategie integrate basate su adeguati calendari di trattamenti, pratiche colturali che permettano un'equilibrata crescita della pianta, nonché una corretta gestione dei frutti durante le fasi di conservazione, trasporto e commercializzazione.

Per superare alcune problematiche di ordine igienico-sanitario relative all'uso di fungicidi di sintesi e alla loro presenza come residui sui frutti, ed evitare la comparsa di fenomeni di resistenza ai prodotti usati, da alcuni decenni i ricercatori sono impegnati nello studio e messa a punto di metodi alternativi che consentano un'adeguata difesa dal marciume bruno economicamente sostenibile, rispettosa dell'ambiente e della salute umana. Da questo punto di vista la ricerca si è impegnata in 3 settori specifici: a) lotta biologica, intesa in senso stretto, con antagonisti microbici; b) uso di composti ad attività fungicida di origine naturale; c) uso di metodi fisici come la termoterapia.

Lotta biologica con antagonisti microbici

La fase post-raccolta si dimostra particolarmente adatta per l'applicazione di microorganismi antagonisti; infatti, in un ambiente confinato come le celle di conservazione alcuni parametri quali la temperatura, l'umidità relativa e la composizione gassosa possono essere in parte modificati per favorire la crescita dell'antagonista. Inoltre, le ferite causate inevitabilmente sui frutti in seguito alle operazioni di raccolta, selezione e calibrazione possono esse-

TAB. 1 - INFLUENZA DELLA CONSERVAZIONE REFRIGERATA SULL'ATTIVITÀ DI DUE CEPPI DI *AUREOBASIDIUM PULLULANS* (L1 E L8) NEI CONFRONTI DEL MARCIUME BRUNO SU NETTARINE STAR RED GOLD CONSERVATE PER 21 GG A 0°C* + 7 GG A 20°C

Patogeno	Testimone	L1**	L8
<i>Monilinia laxa</i>	65±5***	0b	0b
<i>Monilinia fructicola</i>	53±19,2a	0b	0b
<i>Monilinia fructigena</i>	49±12,9a	5±5b	4,3±6,2b

* L'antagonista è stato applicato alla concentrazione di 10⁸ conidi/ml

** Al termine della refrigerazione nessun frutto ha evidenziato sintomi di marciume bruno

*** I dati sono la media di 4 repliche di 20 frutti ciascuna. Nella stessa riga, valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativi per DMS test (P<0,05)



re protette da un singolo trattamento a base dell'antagonista, producendo un intimo contatto tra agente di bio-controllo e patogeno, migliorandone l'attività. Ma, nonostante queste apparenti favorevoli condizioni, i biofungicidi non sono ancora applicati di routine a livello commerciale nella fase post-raccolta. I motivi di questo ritardo sono molteplici: la difficoltà ad ottenere un'efficace formulazione, il costo e la durata eccessivi del percorso di registrazione, la loro relativa scarsa efficacia se paragonata a quella di un fungicida tradizionale. Pertanto, continua il lavoro di selezione di nuovi antagonisti che sappiano soddisfare i requisiti utili per giungere alla formulazione e successivamente alla registrazione europea.

Tra i numerosi microorganismi potenzialmente efficaci, i lieviti o i funghi lievitoformi hanno attirato molta attenzione, poiché la loro attività non deriva dalla produzione di sostanze antibiotiche, come molti batteri, perché non hanno impatti negativi da un punto di vista ambientale e tossicologico e sono, in ultimo, facili da coltivare su ampia scala, su substrati poco costosi e facilmente reperibili. Re-

centemente sono stati individuati due ceppi di *Aureobasidium pullulans* (L1 e L8) che hanno dimostrato un'ottima attività nei confronti delle tre specie di *Monilinia* responsabili del marciume bruno. Gli antagonisti sono stati in grado di bloccare le infezioni di *M. laxa* e *M. fructicola* anche dopo un periodo di conservazione di 21 gg a 0°C (Tab. 1). Generalmente, le basse temperature di conservazione ritardano lo sviluppo del patogeno che riprende la crescita, producendo marciumi, quando i frutti sono avviati verso le fasi di commercializzazione e trasporto; nei frutti testimone sono state osservate, infatti, elevate percentuali di marciume bruno al termine della "shelf-life". Star Red Gold è una nettarina che ben si adattata alle lunghe conservazioni e può essere stoccata per oltre tre settimane senza rimarchevoli effetti negativi sui parametri qualitativi. Gli antagonisti utilizzati hanno evidenziato un'ottima efficacia inibendo i marciumi prodotti da *Monilinia* spp. più del 90%. Questi risultati risultano promettenti in vista di una possibile applicazione nella fase post-raccolta di questi antagonisti dopo un'opportuna formulazione.

Composti ad attività fungicida di origine naturale

I composti naturali, derivati da piante o animali, sono da diverso tempo al centro dell'attenzione da parte dei ricercatori come alternativa ai fungicidi di sintesi nella lotta al marciume bruno. Le piante producono una miriade di metaboliti secondari importanti nell'interazione con l'ambiente che le circonda. La maggior parte di questi è associata al sistema di difesa e può svolgere interessanti attività fungicide. Un esempio in tal senso sono gli isotiocianati, molecole che derivano dall'idrolisi enzimatica dei glucosinoli presenti nelle cellule intatte di molte *Brassicacee*. Una caratteristica degli isotiocianati è la loro volatilità a temperatura ambiente che li rende idonei a trattamenti biofumiganti.

Il potenziale fungicida dell'allyl-isotiocianato derivato da farine disoleate di *Brassica carinata* è stato saggiato nei confronti di *M. laxa* in prove sia *in vitro* che *in vivo* ottenendo risultati promettenti. Frutti di pesca sono stati inoculati artificialmente con una sospensione conidica di *M. laxa* e successivamente esposti per 3 ore a



COMUNICATO

La Società Agricola Vivai Mazzoni s.s. rende noto che presso il Tribunale di Venezia è stata esperita un'iniziativa giudiziaria nella quale è stata lamentata la coltivazione non autorizzata in vivaio, da parte della Società Guarise Sergio Giuseppe e Paolo s.s., di **piante a doppio asse** ottenute con lo stesso metodo oggetto del brevetto n. 0001372536 di propria titolarità, rilasciato in data 5 agosto 2010 a séguito del deposito della domanda n. 00568 del 19 ottobre 2006 ed avente titolo "Metodo per produrre materiale di propagazione da impiegare in coltivazioni arboree del tipo biasse". La suddetta iniziativa giudiziaria si è conclusa con un accordo tra tutte le parti coinvolte, nell'ambito del quale è stata riconosciuta dalle stesse la validità del brevetto della Vivai Mazzoni.

La Società Agricola Vivai Mazzoni s.s. con sede in Tresigallo (FE), via del Mare n. 4, INFORMA

- di essere titolare del brevetto n. 0001372536 dal titolo "Metodo per produrre materiale di propagazione da impiegare in coltivazioni arboree del tipo biasse", che consente di ottenere **piante** di melo e di pero conformate in vivaio a doppio asse, note commercialmente come **Bibaum®**;
- che la produzione e la vendita di **piante a doppio asse**, da parte di soggetti non autorizzati, costituisce violazione dei diritti esclusivi della Vivai Mazzoni e dei suoi licenziatari, derivanti dalla citata protezione e che, per tale ragione, la messa a dimora di piante di provenienza illecita comporta, anche per il coltivatore, il coinvolgimento nella contraffazione;
- di aver avuto notizia circa la produzione e distribuzione non autorizzata di **piante di melo a doppio asse**, nel corso della campagna 2013/2014.

DIFFIDA

pertanto, i soggetti non autorizzati, dal produrre e vendere **piante a doppio asse**, riservandosi ogni opportuna azione in caso di scoperta della violazione.

INVITA

i coltivatori a controllare la provenienza autorizzata delle **piante a doppio asse** ed a segnalare eventuali violazioni, ai fini di un loro esonero da responsabilità.

Per informazioni sul contenuto del presente comunicato e segnalazioni, rivolgersi a:
Società Agricola Vivai Mazzoni s.s. con sede in Tresigallo (FE), via del Mare n. 4
Tel. 0533 607511 Fax. 0533 607890 - E-mail info@vivaimazzoni.com



TAB. 2 - INFLUENZA DEL TRATTAMENTO A BASE DI VAPORI DI ALLYL-ISOTIOCIANATO (0,04 MG/L) SU INFEZIONI DI *MONILINIA LAXA* (%) IN FRUTTI INOCULATI ARTIFICIALMENTE* E CONSERVATI PER 4 GG A 20°C

Varietà	Testimone	Allyl-isotiocianato	IE (%)**
Big Top	80a**	7b	91,3
Star Red Gold	52,7a	0b	100
Benedicte	25a	0b	100

* I frutti sono stati inoculati per immersione in una sospensione conidica di *M. laxa* (10^8 conidi/mL)

** IE = Indice di efficacia (Testimone - trattato)/testimone x 100

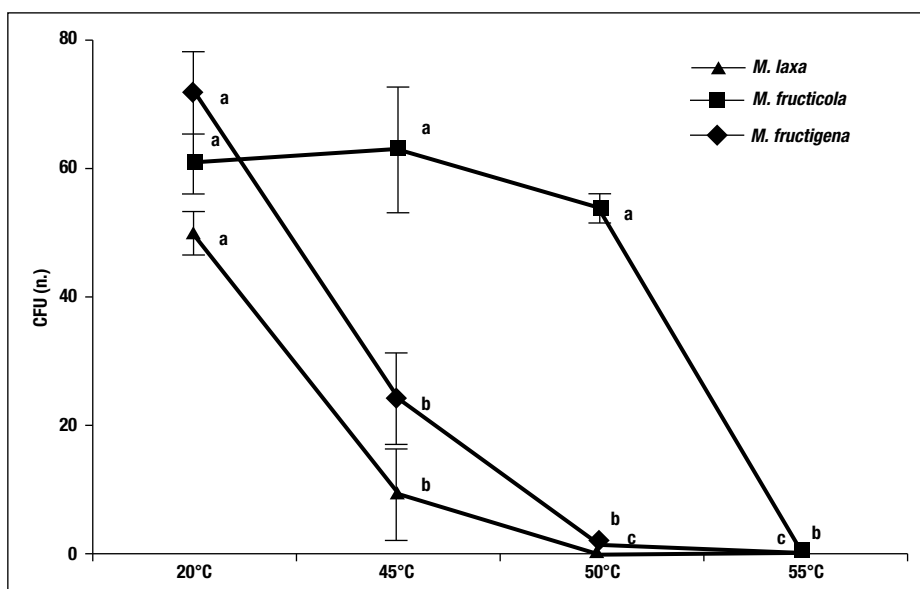
*** I dati sono la media di 4 repliche di 25 frutti ciascuna. Nella stessa riga, valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativi per DMS test ($P < 0,05$)

vapori di allyl-isotiocianato alla concentrazione di 0,04 mg/l. I frutti trattati dopo 4 gg a 20°C presentavano un'inibizione del marciume bruno di oltre il 90% (Tab. 2). Inoltre, non era-

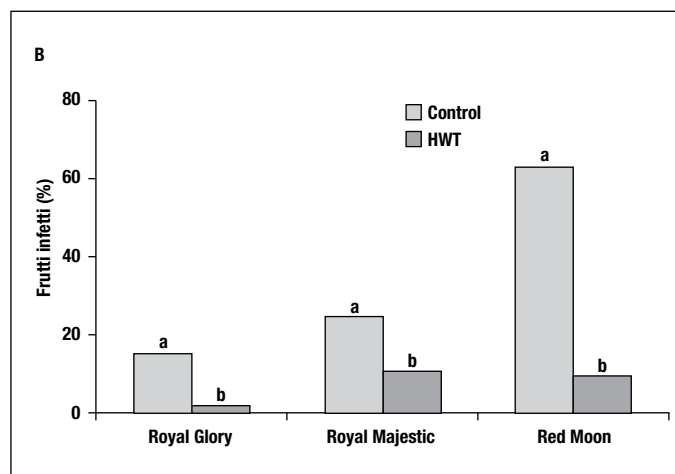
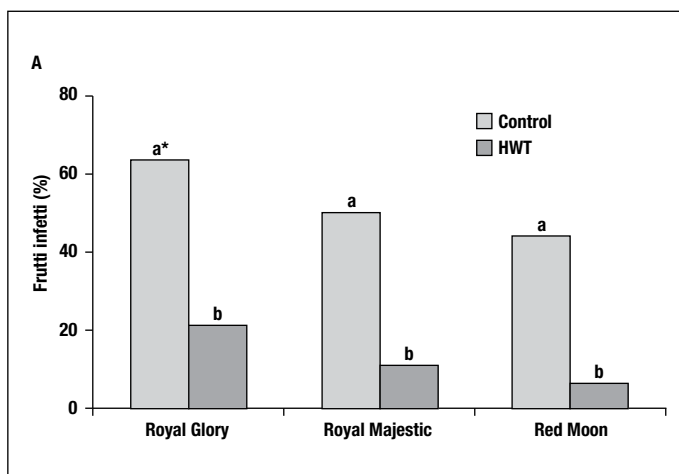
no visibili sintomi di fitotossicità e l'analisi dei residui di allyl-isotiocianato ha evidenziato valori del composto al di sotto del limite di rilevabilità dello strumento.

Mezzi fisici: termoterapia

Tra le strategie di lotta alternative ai fungicidi di sintesi, i mezzi fisici rappresentano un settore di indagine in netta crescita. La termoterapia, il condizionamento termico, i raggi UV-C, i trattamenti con pressioni diverse da quella atmosferica, l'uso dell'ozono, ecc. applicati ai materiali vegetali, e in particolare ai frutti, determinando uno stress fisico esplicano un duplice effetto: da una parte producono una disinfezione della superficie del frutto, dall'altra inducono una risposta di difesa nei confronti di eventuali patogeni (Wilson *et al.*, 1994). L'applicazione del trattamento termico ai frutti prima della conservazione ha evidenziato una potenziale capacità di lotta nei confronti di diversi marciumi tipici del post-raccolta come il marciume bruno delle drupacee (Jemric *et al.*, 2011) o il marciume lenticellare delle mele (Neri *et al.*, 2009; Maxin *et al.*, 2012). La termoterapia può essere effettuata con l'acqua, con l'aria, con il vapore (Fallick, 2004). In particolare, gli effetti positivi di un trattamento con acqua calda possono essere riassunti in 4 punti:



▲ Fig. 1 - Influenza della temperatura sulla germinazione dei conidi di *Monilinia fructicola*, *Monilinia fructigena* e *Monilinia laxa*. I conidi sono stati immersi in acqua a 20°C (testimone), 45°C, 50°C e 55°C per 1 min. Ogni valore rappresenta la media di 4 repliche + errore standard. Per la stessa specie, lettere uguali indicano differenze non significative secondo il test DMS ($P < 0,05$).



▲ Fig. 2 - Effetto del trattamento termico sul marciume bruno di *Monilinia* spp. in pesche naturalmente infette. I frutti sono stati immersi in acqua a 60°C (HW) o in acqua a temperatura ambiente (controllo). A) Prove semi-commerciali. L'unità campione era rappresentata da tre cassette (repliche) di 60 frutti ciascuna. La durata del trattamento è stata di 20 s. B) Prove commerciali. L'unità campione era rappresentata da tre bins di 250 kg (repliche). La durata del trattamento è stata di 1 min. In entrambe le prove, i frutti dopo il trattamento sono stati conservati a 0°C per 6 giorni + "shelf life" di 3 gg. Per ogni varietà, lettere uguali indicano differenze non significative secondo il test DMS ($P < 0,05$).

TAB. 3 - EFFETTO DEL TRATTAMENTO TERMICO (60°C PER 20 S) SU INFEZIONI DI *MONILINIA* SPP. DI FRUTTI NATURALMENTE INFETTI*. PROVE DI LABORATORIO

Varietà	Dopo 10 gg a 0°C		Dopo shelf-life a 20°C	
	Testimone**	Termoterapia	Testimone	Termoterapia
Caldesi 2010	0,9a***	0,8a	36,6a	20,7b
Benedicte	1,3a	0,8a	32,9a	4,2b
Symphony	0,4a	0a	85a	55,8b

* Dopo il trattamento i frutti sono stati conservati a 0°C per 10 giorni poi a 20°C per 7 giorni (Caldesi 2010 e Symphony) o 4 giorni (Benedicte).
 ** I frutti testimone sono stati immersi in acqua a temperatura ambiente per 20 sec. Ogni valore è la media di 4 repliche da 25 frutti.
 *** Per la stessa cultivar e per lo stesso giorno di valutazione lettere uguali rappresentano differenze non significative secondo il test DMS (P<0,05).



▲ Fig. 3 - Prototipo di macchina per i trattamenti di termoterapia a livello commerciale (Xeda International, S. Andiol, Francia).

1) facile attuazione; 2) inibizione della germinazione delle spore fungine sulla superficie del frutto; 3) relativa economicità; 4) salubrità per l'ambiente e l'uomo. D'altra parte, la risposta fisiologica dei frutti può differenziarsi a seconda della varietà, della stagione e della localizzazione della coltura; pertanto è fondamentale stabilire un giusto tempo e una corretta temperatura di trattamento.

La germinazione dei conidi delle tre specie di *Monilinia* è completamente inibita da un trattamento termico a 55°C per 1 minuto sebbene *M. fructicola* risulti essere la più resistente. Perciò, il calore può inibire il patogeno localizzato negli strati sottoepidermici dell'epicarpo (Spadoni *et al.*, 2013) o all'interno delle lenticelle come nel ca-

so di *P. vagabunda* (Neri *et al.*, 2009), mentre altri patogeni fungini quali *Penicillium expansum* sembrano mostrare una maggiore resistenza al

calore (dati non pubblicati). L'attività antifungina del calore è stata dimostrata in prove di laboratorio su nettarine e pesche naturalmente infette. I risultati mostrano una riduzione dell'incidenza di marciume bruno variabile da -87,2% per la cv Benedicte a -34,3% per la cv Symphony (Tab. 3). Questi risultati sono stati confermati anche su scala semi-commerciale e commerciale. In particolare, prove di trattamento termico effettuate per immersione in



Termoterapia

Testimone



▲ Fig. 4 - Effetti della termoterapia sui frutti.

acqua a 60°C per 20 secondi su scala semi-commerciale (Fig. 2a) e per 60 secondi su scala commerciale (Fig. 2b) con pesche naturalmente infette hanno evidenziato una significativa riduzione dei marciumi di *Monilinia* spp di oltre il 70%.

In prospettiva, i trattamenti con il calore acquistano un'importanza fondamentale per le produzioni biologiche che, prive di trattamenti fungicidi, sono fortemente penalizzate nella fase



M. laxa



M. fructigena



M. fructicola

▲ Fig. 5 - Il marciume bruno può essere causato da tre specie di *Monilinia*.



▲ Fig. 6 - Effetto del trattamento con antagonisti microbici sulla comparsa del marciume bruno da *Monilinia laxa*. Al centro testimone, a sinistra L1, a destra L8.

post-raccolta. Il calore non solo riduce le infezioni, ma sembra abbia un benefico effetto sulla resistenza ai danni da freddo. Una riduzione di alcune fisiopatie legate alla conservazione refrigerata è stata messa in evidenza su avocado (Woolf, 1997) e susine (Abu-Kpawoh, 2002), mentre un effetto di induzione di resistenza sembra essere evidente su pesche (Liu *et al.*, 2012). Il limite tra le due risposte è molto ravvicinato, pertanto è fondamentale approfondire le conoscenze sugli effetti del calore al fine di evitare esiti fitotossici e mantenere inalterate le caratteristiche qualitative dei frutti trattati, ma nello stesso tempo ottenere un'efficace inibizione dei patogeni. L'attività del trattamento termico dipende almeno da due componenti, il primo, come descritto sopra, è una azione diretta e letale del calore sull'inoculo fungino sotto forma di spore e/o micelio presente sul frutto; la seconda componente potrebbe essere un'azione indiretta del calore

sull'ospite, mediata da una risposta allo stress indotto sul frutto (Maxin *et al.*, 2012) tra cui la resistenza alle malattie.

RIASSUNTO

Il marciume bruno è una delle principali alterazioni fungine che colpiscono le drupacee in ogni areale di produzione. Per superare alcune problematiche di ordine igienico-sanitario relative all'uso di fungicidi di sintesi nella lotta alle Moniliosi ed evitare la comparsa di fenomeni di resistenza ai prodotti usati, da alcuni decenni i ricercatori sono impegnati nello studio e messa a punto di metodi alternativi quali: lotta biologica con antagonisti microbici (biofungicidi); composti ad attività fungicida di origine naturale e metodi fisici come la termoterapia. Tutti e tre questi metodi hanno evidenziato una buona efficacia nel ridurre le infezioni da *Monilinia*. La termoterapia appare al momento il metodo di più immediata applicazione, poiché è assolutamente salubre, non richiede una registrazione come nel caso dei biofungicidi o dei composti naturali, e può essere inserito nelle linee di lavorazioni dei frutti già esistenti senza eccessive modificazioni.

SUMMARY

Worldwide, the brown rot is one of the main disease of stone fruit. Disease control is achieved

with chemical applications however the concerns on the use of the fungicides for human health and environment as well as the loss of efficacy in pathogen control for the appearance of resistant isolates, have resulted in the need to develop alternative methods to control the disease. The three main research areas are: biological control with microbial antagonists (biofungicides); use of natural bioactive compounds and physical methods as heat treatments. All these methods have showed a good efficacy in *Monilinia* rots reduction. However, the treatment with hot water appears particularly attractive to the fruit industry, since it is safe, could be immediately utilized without registration and incorporated into handling practices without extensive technical modifications.

BIBLIOGRAFIA

- Abu-Kpawoh J.C., Xi Y.F., Zhang Y.Z., Jin Y.F., 2002. Polyamine accumulation following hot-water dips influences chilling injury and decay in 'Friar' plum fruit. *Journal of Food Science* 67, 2649-2653.
- Fallik E., 2004. Prestorage hot water treatments (immersion, rinsing and brushing). *Postharvest Biology and Technology* 32, 125-134.
- Jemric T., Ivic D., Fruk G., Matijas H.S., Cvjetkovic B., Bupic M., Pavkovic B., 2011. Reduction of Postharvest Decay of Peach and Nectarine Caused by *Monilinia laxa* Using Hot Water Dipping. *Food and Bioprocess Technology* 4, 149-154.
- Liu J., Sui Y., Wisniewski M., Droby S., Tian S., Norelli J., Hershkovitz, V., 2012. Effetti di heat treatment on inhibition of *Monilinia fructicola* and induction of disease resistance in peach fruit. *Postharvest Biology and Technology* 65, 61-68.
- Maxin P., Weber R. W.S., Pedersen H.L., Williams M., 2012. Control of a wide range of storage rots in naturally infected apples by hot-water dipping and rinsing. *Postharvest Biology and Technology* 70, 25-31.
- Neri F., Mari M., Brigati S., Bertolini P., 2009. Control of *Neofabrea alba* by plant volatile compounds and hot water. *Postharvest Biology and Technology* 51, 425-430.
- Spadoni A., Neri F., Mari M., Bertolini P., 2013. Control of *Monilinia* rots on fruit naturally infected by hot water treatment in commercial trials. *Postharvest Biology and Technology* 86, 280-284.
- Wilson C.L., El Ghaouth A., Chalutz E., Droby S., Stevens C., Lu J.Y., Khan V., Arul J., 1994. Potential of induced resistance to control postharvest diseases of fruits and vegetables. *Plant Disease* 78, 837-844.
- Woolf A.B., 1997. Reduction of chilling injury in stored 'Hass' avocado fruit by 38°C water treatments. *HortScience* 32, 1247-1251. ■



BIBAUM[®]

LA PIANTA A DOPPIO ASSE

www.cccografica.it

Mazzoni

GROUP



NURSERY DIVISION

VIVAI MAZZONI

Via del Mare 4, 44039 Tresigallo (FE) Italia
Tel. +39 0533 607511. Fax +39 0533 607558
commerciale@vivaimazzoni.com
www.mazzonigroup.com

Bibaum[®] Mazzoni è un marchio registrato. La produzione di piante a doppio asse in vivaio è protetta da brevetto