

MARTA MARI\*, ANTONIO IPPOLITO\*\*

## Malattie degli ortofrutticoli in postraccolta

### I. INTRODUZIONE

In questi ultimi decenni l'agricoltura ha subito profondi cambiamenti per adeguarsi alla rapida evoluzione dell'economia e del mercato e alle mutate esigenze del consumatore. La concentrazione di specifiche produzioni in particolari aree e in particolari momenti dell'anno determina pericolosi fenomeni di sovrapproduzione con difficoltà di collocazione sul mercato e prezzi non remunerativi; d'altra parte i trasporti su gomma, ferrovia, mare o tramite aerei permettono a tutte le merci, compresi frutta e ortaggi, di raggiungere mercati molto distanti, venendo incontro alle richieste del consumatore, che sempre di più preferisce prodotti freschi. Come noto, infatti, i prodotti vegetali freschi forniscono nutrienti essenziali e costituiscono una delle maggiori fonti di importanti sostanze per il benessere e la salute dell'uomo, come carboidrati, antiossidanti, sostanze anticancerogene, ecc. (Lampe, 1999). Per poter differire nel tempo e nello spazio tali produzioni è necessario sottoporle a un periodo più o meno lungo di conservazione in relazione alle caratteristiche del prodotto e alle richieste del mercato. Inoltre, alcune specie, come le fragole e i piccoli frutti, si conservano per pochi giorni (2-3) prima di essere poste sul mercato, altre, come pere, mele e actinidia, sopportano periodi di conservazione più lunghi (fino a 7 mesi), anzi, talora, tendono a incrementare nel tempo le loro caratteristiche organolettiche. Durante la conservazione i frutti, ricchi di acqua ed elementi nutritivi, rappresentano un substrato ideale per lo sviluppo di microrganismi patoge-

\* Dipartimento di Protezione e Valorizzazione Agro-alimentare, Università degli Studi di Bologna

\*\* Dipartimento di Protezione delle Piante e Microbiologia Applicata, Università degli Studi di Bari

ni che, instaurando processi di marcescenza, provocano la non commerciabilità dei frutti infetti e la conseguente perdita di prodotto. I consumatori ben conoscono questo problema, quando frutti freschi appena comprati ammuffiscono nell'arco di pochi giorni. Le perdite in questa fase vanno da un minimo del 10-15% nei paesi a tecnologia avanzata, a oltre il 50% nei paesi in via di sviluppo (Coursey e Booth, 1972; Wilson e Wisniewski, 1989); in Italia esse si aggirano mediamente intorno al 10% (Alvisi, 1987). Il danno economico determinato dagli scarti è elevato e cumulativo, poiché si verifica su un prodotto che per il concorso dei costi di produzione, raccolta, selezione, conservazione, confezionamento, trasporto, distribuzione, ecc. ha un valore aggiunto via via più elevato e il danno risulta tanto più grave quanto più il deterioramento si verifica nelle ultime fasi della filiera. Il solo passaggio dal campo al consumatore può portare a un incremento del valore iniziale di 2-3 volte; a esso, nel caso di non idoneità alla vendita, deve essere aggiunto l'onere per il ritiro e l'eventuale rilavorazione o smaltimento del prodotto stesso.

È dall'inizio degli anni 60 che, attraverso nuovi fungicidi e lo studio di nuove tecnologie di conservazione (atmosfera controllata, atmosfera modificata, atmosfera a basso livello di ossigeno) è stato possibile estendere la vita postraccolta dei frutti riducendo in maniera significativa le perdite.

Le infezioni fungine rappresentano la principale causa di deterioramento degli ortofrutticoli in postraccolta (Sommer et al., 1992). Sebbene la difesa chimica assuma una posizione di rilievo nell'ambito della protezione postraccolta, la possibilità di intervenire mediante agrofarmaci è rigidamente regolamentata dalla legislazione Comunitaria e Nazionale degli Stati membri dell'UE (DM 19/05/2000 - Recepimento delle direttive n. 97/41 CE; n. 1999/65 CE; n. 1999/71 CE); attualmente sono pochissimi i principi attivi utilizzabili contro le alterazioni postraccolta e per alcuni prodotti, come le drupacee e l'uva, non è consentito l'uso di alcuna sostanza di sintesi. La situazione appena descritta, nonché la necessità di progettare un'agricoltura rispondente alle nuove sfide aperte dall'allargamento dell'Unione Europea, ma anche la crescente attenzione dei consumatori che richiedono prodotti ortofrutticoli privi di residui di antiparassitari, le restrizioni legislative che mirano a una maggiore sicurezza alimentare, le problematiche tecniche legate allo sviluppo di ceppi di patogeni resistenti ai pochi fungicidi ammessi e la necessità di prodotti di elevata qualità globale, hanno indirizzato la ricerca verso la messa a punto di sistemi di difesa alternativi a quelli chimici. Nell'ambito di questa nota si cercherà di esaminare criticamente quanto è stato fatto in rela-

zione allo sviluppo di mezzi alternativi di lotta contro le malattie postraccolta degli ortofrutticoli freschi mettendo in risalto i punti di forza e quelli che ne hanno limitato l'applicabilità, allo scopo di fornire spunti di riflessione per raggiungere risultati pratici.

## 2. MEZZI DI LOTTA

Tra le numerose tecnologie alternative ai fungicidi di sintesi, messe a punto nel corso di oltre 20 anni di ricerca, alcune hanno ottenuto interessanti risultati, in particolare: 1) l'uso di microrganismi antagonisti, 2) i trattamenti con composti di origine naturale, 3) i trattamenti con additivi alimentari dotati di attività antifungina e 4) l'applicazione di mezzi fisici.

### 2.1 *Microrganismi antagonisti*

La ricerca in questo settore vanta un numero considerevole di esperienze sia su piccola scala che su scala più ampia, ed è giunta alla registrazione di prodotti commerciali, come i biofungicidi: *Aspire*<sup>®</sup> (Ecogen, Inc., Languore, PA) a base di *Candida oleophila*, utilizzato soprattutto contro *Penicillium* sugli agrumi; *BioSave*<sup>®</sup> 100 e 110 (JET Harvest Solutions, Longwood, PL) a base di due ceppi di *Pseudomonas syringae*, utilizzato principalmente per controllare malattie delle patate; *YeldPlus*<sup>®</sup> (Anchor Yeast, Cape Town) a base di *Cryptococcus albidus*, per contrastare malattie delle pomacee; *Shemer*<sup>®</sup> (AgroGreen, Asgdod) a base di *Metschnikovia fructicola*, commercializzato in Israele contro malattie delle patate dolci e delle carote. *Aspire*<sup>®</sup> e *YeldPlus*<sup>®</sup>, tuttavia, non sono più in commercio, mentre, in Canada la Neova Technologies (Abbotsford, British Columbia) sta sviluppando un prodotto a base di *C. saitoana*. In Europa l'impiego di questi biofungicidi non è ancora autorizzato; solo recentemente è stata ottenuta la registrazione di *CandiFruit* (Sipcam Inagra, S.A. Valencia) a base di *C. sake*, ma limitatamente alla Spagna, mentre in Belgio la BioNext sta sviluppando un prodotto a base di *C. oleophila*. La Comunità Europea ha finanziato due importanti progetti di ricerca sull'impiego di mezzi alternativi ai fungicidi in postraccolta, il primo (Biopostharvest) è terminato nel 2004, mentre il secondo (Isafruit: [www.isafruit.org](http://www.isafruit.org)) terminerà nel 2009. Nonostante tutti questi sforzi gli agenti di lotta biologica non sono ancora entrati nella routine delle normali pratiche di lavorazione postraccolta. I motivi di questa situazione sono molteplici ma possono essere ricondotti

fondamentalmente a tre: 1) insufficiente e incostante attività antifungina degli antagonisti, 2) difficoltà nell'ottenere una adeguata formulazione, 3) difficoltà di controllare quei patogeni che causano infezioni latenti, insediandosi nei frutti prima della raccolta. I risultati a livello semi-commerciale su agrumi e su mele mostrano una capacità di inibizione delle infezioni naturali da parte degli antagonisti a livelli non accettabili, inferiori al 50%. Infatti, a differenza di quanto accade nella difesa in campo, un frutto raccolto deve essere protetto dalle alterazioni postraccolta con tecniche, metodi e mezzi che assicurino un'efficacia non inferiore al 95-98% (Droby, 2001). Inoltre, un diverso livello di efficacia è stato osservato quando lo stesso antagonista è applicato su frutti provenienti da frutteti diversi. Questo, probabilmente, è da mettere in relazione alla densità di inoculo del patogeno nel frutteto, al livello di suscettibilità dei frutti al patogeno stesso, al tempo trascorso tra l'infezione e il trattamento, alla possibile presenza di infezioni latenti. Anche la formulazione gioca un importante ruolo, non solo sull'efficacia dell'antagonista ma anche sulla facilità di applicazione e sul costo. Lo sviluppo di una formulazione è un processo fondamentale che si articola in diverse fasi. La prima prevede l'individuazione di un substrato che consenta di ottenere la massima produzione di cellule dell'antagonista a costo limitato; successivamente deve essere garantita nel tempo la stabilità della formulazione con una attività dell'antagonista simile a quella svolta dalle cellule fresche. Dati riportati da Torres et al. (2006) evidenziano come su sette formulazioni liquide o in polveri bagnabili del lievito *C. sake*, saggiate nei confronti di *P. expansum* su pomacee, solo una è stata selezionata, in quanto prodotta a basso costo e facilmente sospendibile in acqua. I principali patogeni del postraccolta, come *P. expansum*, *P. digitatum*, *P. italicum*, *Monilinia* spp. e *Botrytis cinerea*, richiedono la presenza di una ferita e un ambiente ricco di nutrienti per la germinazione e la colonizzazione dell'ospite. Questo tipo di ambiente è anche particolarmente adatto all'antagonista che può immediatamente svilupparsi e colonizzare la ferita. Diverso è il caso di patogeni quali *B. cinerea*, *Monilinia* spp. e *Phlyctema vagabunda* che causano infezioni latenti; le possibilità di lotta contro questi patogeni sono assai scarse in quanto richiedono più applicazioni in campo per poterne prevenire l'insediamento. Al fine di superare questi inconvenienti è stata suggerita l'integrazione degli antagonisti con altri metodi che non prevedono l'utilizzo di fungicidi tradizionali, sfruttando un eventuale effetto additivo o sinergico. A tal riguardo sono state studiate diverse combinazioni: con additivi alimentari, che sono sostanze chimiche ritenute sufficientemente sicure per l'uomo in quanto ampiamente usate nella preparazione di vari alimenti; con aria e acqua calda; con elicitatori di resistenza. L'attività svolta da questi

additivi alimentari sarebbe essenzialmente fungistatica, ritardando la germinazione delle spore e creando uno spazio nel processo infettivo del patogeno del quale si avvantaggerebbe l'antagonista nella competizione per le sostanze nutritive. Un esempio pratico di integrazione dell'antagonista con elicitatori di resistenza è dato da due prodotti commercializzati dalla Neova Technologies, costituiti da cellule di *Candida saitoana* in combinazione con chitosano (InnovaCoat) oppure lisozima (InnovaCure): le sostanze naturali che mostrano un effetto diretto sul patogeno (protettivo ed eradicante) e induzione di resistenza dell'ospite permettono di incrementare l'attività dell'antagonista con un livello di efficacia dei formulati paragonabile ai fungicidi di sintesi attualmente disponibili (El Ghaouth e Wilson, 2002). In un'ipotetica linea di trattamento, l'applicazione dell'antagonista dovrebbe essere preceduta dal trattamento con un additivo alimentare o calore o elicitore di resistenza. Nel caso di utilizzazione di formulazioni contenenti il solo antagonista il controllo delle infezioni latenti risulterebbe possibile con l'impiego di una strategia che preveda l'applicazione in preraccolta (Ippolito e Nigro, 2000); numerose esperienze hanno confermato la validità della strategia (Lima et al., 1997; Teixidò et al., 1998; Larena et al., 2005) e formulati come Shemer® e Serenade® (a base di *Bacillus subtilis*, AgraQuest, registrato in USA per l'uso sia in pre- che in postraccolta), applicati nelle fasi critiche di insediamento delle infezioni latenti in campo (fioritura, accrescimento dei frutti) hanno fornito risultati soddisfacenti contro *Botrytis*, *Penicillium*, *Rhizopus* e *Aspergillus* su fragola, uva e agrumi (Karabulut et al., 2004; Blachinsky et al., 2007).

## 2.2 *Composti di origine naturale*

Le piante possiedono un ampio corredo di metaboliti secondari associati al sistema di difesa, molti dei quali funzionano anche come inibitori di patogeni fungini (Grayer e Kokubun, 2001). Questi composti sono generalmente concentrati negli strati cellulari più esterni degli organi vegetali e possono essere costitutivi o prodotti successivamente in seguito a un danno inferto da cause biotiche o abiotiche. L'uso di questi composti come possibili sostanze per la lotta contro le malattie del postraccolta è stato preso in considerazione dai ricercatori in tempi relativamente recenti (Ippolito et al., 2003; Tripathi e Dubey, 2004). L'attività antifungina di alcuni composti presenti nelle componenti aromatiche dei prodotti vegetali o negli oli essenziali di spezie ed erbe comunemente usate per l'alimentazione umana sono da considerarsi estremamente interessanti a causa della loro scarsa tossicità alle basse concen-

trazioni. Inoltre, l'elevata volatilità accompagnata dalla scarsa solubilità in acqua rendono alcuni di questi composti particolarmente adatti a un'applicazione in fase di vapore. L'attività delle sostanze estratte dalle piante è stata ampiamente saggiata *in vitro*, ma meno *in vivo*, adottando differenti forme di applicazione (liquida o in fase vapore) e diverse metodiche di valutazione dell'inibizione del patogeno (crescita del micelio o germinazione dei conidi), rendendo particolarmente difficile la comparazione delle concentrazioni minime inibitorie (Caccioni e Guizzardi, 1994; Neri et al., 2006).

Gli estratti vegetali, la propoli, i jasmonati, i glucosinolati, gli oli essenziali, i composti fenolici e i composti volatili rappresentano le sostanze antimicrobiche maggiormente studiate.

L'efficacia nei confronti dei patogeni fungini ottenuta con questi composti in prove *in vitro* non sempre ha trovato conferma nei risultati delle prove *in vivo* e questo dimostra come le condizioni di trattamento (concentrazione, modalità di applicazione, formulazione, tempo di esposizione, ecc.) debbano essere stabilite in relazione non solo alla sostanza usata e al patogeno, ma anche alla risposta dei frutti al trattamento. I composti volatili hanno normalmente un odore intenso e possono essere assorbiti e metabolizzati dai prodotti freschi alterando il loro sapore e soprattutto, se usati ad alte concentrazioni, possono risultare fitotossici per i tessuti vegetali. Pertanto, un probabile limite nell'utilizzo dei composti di origine naturale potrebbe essere la comparsa di sapori anomali e di fitotossicità nei frutti trattati.

## Derivati da piante

Le prime applicazioni documentate sull'attività di estratti vegetali risalgono alla fine degli anni '50 con l'applicazione di estratti acquosi deodorizzati di polvere di aglio contro il marciume bruno delle pesche, causato da *Monilinia* spp. (Ark and Thompson, 1959). Estratti di specie appartenenti al genere *Allium* inibiscono *in vitro* la crescita di *Aspergillus parasiticus*, *A. niger*, *A. flavus* e *A. fumigatus* e molti altri funghi patogeni di grano e legumi; possono, inoltre, ridurre lo sviluppo della muffa verde-azzurra degli agrumi causata da *P. digitatum* e *P. italicum* (Obagwu e Korsten, 2003). L'attività antimicrobica dell'aglio (*A. sativum*) e di altre specie di *Allium*, come cipolla (*A. cepa*) e porro (*A. porrum*) è dovuta principalmente all'allicina, composto ottenuto per azione dell'enzima allinasi sull'alliina quando il bulbo viene schiacciato.

Numerosi estratti (acquosi o etanolici) di varie piante [Wilson et al. (1997) ne hanno saggiate ben 345] anche spontanee (Gatto et al., 2006; Di Venere et

al., 2008) sono stati saggiati *in vitro* e *in vivo* per valutarne l'attività nei confronti di vari patogeni postraccolta. Generalmente, in questi saggi solo una piccola percentuale di estratti ha mostrato una significativa attività antifungina; inoltre, alcuni di questi, pur non attivi *in vitro*, hanno completamente inibito lo sviluppo del patogeno quando applicati *in vivo* (Bautista-Baños et al., 2000; Sanzani et al., 2009). La presenza di composti attivi negli estratti di piante non è costante nel tempo e in genere è massima in condizioni ambientali estreme: nella stagione fredda o in quella calda e secca. Anche l'organo da cui è effettuata l'estrazione può influire sulla composizione; risultano infatti spesso più efficaci gli estratti da steli rispetto a quelli da foglie e fiori. Questa elevata variabilità nella composizione e nella concentrazione delle sostanze attive rende difficile ottenere un prodotto standard per una eventuale formulazione da impiegare nella lotta alle malattie postraccolta. Al riguardo, pertanto, sembra auspicabile lo studio e l'impiego degli estratti di piante purificati, anche solo parzialmente, per ottenere categorie di composti standardizzati da utilizzare sia per lo studio delle sostanze attive sia per una applicazione immediata nella fase postraccolta.

Tra le sostanze antimicrobiche presenti nelle piante, gli isotiocianati evidenziano interessanti prospettive di applicazione nella fase postraccolta. Questo gruppo di sostanze fitochimiche comprendono una miscela di più di 130 differenti composti largamente distribuiti soprattutto nella famiglia delle *Cruciferae* (cavolfiori, cavoletti di Bruxelles, broccoli, ecc.) ma anche in quelle delle *Capparaceae* e delle *Caricaceae*. Da un punto di vista chimico sono costituiti da un glicone comune, caratterizzato da un  $\beta$ -tioglucoside e da una ossima sulfonata, e da un aglicone derivato da un aminoacido, in particolare metionina, fenilalanina, tirosina e triptofano. In seguito alla rottura del tessuto i glucosinolati contenuti nella cellula sono rapidamente idrolizzati dalla mirosinasi (tioglucosidasi) a intermediari instabili che si riarrangiano spontaneamente in isotiocianati, tiocianati o nitrili a seconda del pH del substrato. Questi prodotti di idrolisi sono tossici nei confronti dei microrganismi e con ogni probabilità giocano un ruolo importante nella resistenza delle piante alle malattie, nella difesa contro gli erbivori e sicuramente contribuiscono all'aroma. L'attività degli isotiocianati nei confronti di un'ampia gamma di patogeni è ampiamente documentata (Delaquis e Mazza, 1995). Alcuni di questi sono sostanze volatili e potrebbero essere impiegati con successo in trattamenti in fase di vapore di frutti e ortaggi prima della conservazione tramite un nuovo processo chiamato 'biofumigazione'. Questo termine originariamente descriveva solo trattamenti per la lotta a insetti e funghi del terreno tramite

piante contenenti glucosinolati (Kirkegaard et al., 1998) ma ora ha acquisito un significato più ampio contemplando anche altre applicazioni, inclusa la tecnologia postraccolta (Mari et al., 2002). In particolare l'allyl-isotiocianato e altri isotiocianati, pur essendo disponibili come composti sintetici, possono essere anche prodotti in modo naturale partendo da farine disoleate di *Brassica*, con efficacia del tutto simile nei confronti dei patogeni fungini (Mari et al., 2008). L'uso di molecole biologicamente attive ottenute da risorse naturali rinnovabili rientra tra gli obiettivi della piattaforma tecnologica europea 'Plants for the Future' e, inoltre, studi farmacologi riportano come gli isotiocianati producano effetti benefici sulla salute umana (Stoner et al., 1999). Negli ultimi anni, infatti, sono stati oggetto di rinnovato interesse in medicina umana, sia per gli effetti fisiologici che esercitano sia per la potenziale attività anticancerogena.

Un'altra sostanza particolarmente studiata è il *trans-2-esenale*, composto aromatico presente in molti prodotti vegetali come tè, olio di oliva e numerosi frutti. La sua produzione aumenta rapidamente nei tessuti vegetali danneggiati o feriti in seguito all'attacco di un patogeno fungino o di un insetto e può giocare un interessante ruolo nel controllo dell'espressione dei geni di difesa (Farmer, 2001). Il composto ha evidenziato una interessante attività fungicida nei confronti di *P. expansum* (Neri et al., 2006), *Monilinia laxa* (Neri et al., 2007), *Alternaria alternata*, *B. cinerea* (Hamilton-Kemp et al., 1992). In particolare, su mele Golden Delicious nei confronti di *P. expansum* il *trans-2-esenale* ha confermato la sua efficacia già evidenziata in prove *in vitro*. Infatti, un trattamento effettuato dopo 24 ore dall'inoculazione ha ridotto significativamente non solo la percentuale di frutti infetti ma anche il contenuto in patulina, senza peraltro causare effetti negativi sulle qualità organolettiche dei frutti trattati (Neri et al., 2007). Al contrario, il trattamento con *trans-2-esenale* su albicocche, nettarine, pesche e fragole, pur evidenziando una buona attività antifungina, ha provocato effetti fitotossici (Neri et al., 2007). Pertanto, la valutazione delle caratteristiche organolettiche dei frutti sottoposti a trattamento appare di fondamentale importanza al fine di individuare una strategia di lotta applicabile a livello operativo.

L'acido jasmonico e il suo estere volatile, il metil-jasmonato, sono composti lipidici naturalmente presenti nelle membrane cellulari delle piante e derivano dalla ossidazione ossigeno-dipendente di acidi grassi attraverso la via della lipossigenasi. Essi possiedono effetti inibitori o promotori di molti processi fisiologici delle piante, spesso simili a quelli dell'acido abscissico. Fra gli effetti vi è la stimolazione di vari processi biosintetici associati a stress abiotici

e biotici, come le ferite e le infezioni da parte di patogeni. Infatti, l'applicazione di acido jasmonico e metil-jasmonato alle piante induce l'espressione di geni coinvolti nelle reazioni di difesa codificanti la fenilalanina-ammonio-liasi (PAL), enzima chiave nella via dei fenilpropanoidi, proteine ad attività antifungina, fitoalessine, inibitori delle proteinasi, ecc. (González-Aguilar et al., 2004). Non sembra avere un effetto diretto sui patogeni (Droby et al., 1999). Applicazioni di metil-jasmonato su ortofrutticoli in postraccolta hanno fornito risultati spesso contrastanti ma con attività interessante su agrumi, fragola e lamponi contro *B. cinerea* e *Penicillium* spp. (Moline et al., 1997), mentre su ciliegie non sono risultati efficaci (Tsao e Zhou, 2000). Dato il meccanismo di azione è probabile che i diversi risultati siano da imputare alle differenti risposte dei tessuti all'applicazione delle sostanze.

Una particolare categoria di composti naturali degna di attenzione nel campo del postraccolta è rappresentata dagli oli essenziali o oli eterici. Essi sono miscele di sostanze aromatiche presenti in qualsiasi parte della pianta: fiori, foglie, gemme, semi, buccia dei frutti, corteccia, legno. Oltre che per la diversa composizione chimica e diverse caratteristiche fisiche, questi oli si differenziano dai grassi contenuti nei vegetali perché sono volatili, cioè, con facilità tendono a passare allo stato gassoso; infatti, vengono ricavati dalle piante per distillazione. Negli ultimi anni vi è stato un rinnovato interesse all'applicazione di queste sostanze nei confronti di microrganismi che danneggiano i prodotti ortofrutticoli in postraccolta, sia per la bassa tossicità per l'uomo, sia per la loro potenziale capacità di raggiungere facilmente qualsiasi parte del frutto nella confezione o nel magazzino. Gli oli essenziali sono sostanze aromatiche costituite essenzialmente da terpeni, ma anche da aldeidi, chetoni, acidi grassi, fenoli, esteri, alcoli, nitrati e solfuri (Skočibušić et al., 2006). Il ruolo di queste sostanze nelle piante non è ancora ben noto, tuttavia, è probabile che esse siano coinvolte nei meccanismi di difesa biochimica delle piante nei confronti dei patogeni. Inoltre, gli oli essenziali esercitano la loro attività anche nell'ambiente esterno alle piante influenzando gli insetti e la composizione microbica della fillosfera e della carposfera. Per questi motivi, queste sostanze sono considerate composti in grado di contenere le alterazioni microbiche postraccolta degli ortofrutticoli freschi. Il loro meccanismo di azione sembra sia correlato alla loro capacità di accumularsi nelle membrane cellulari dei microrganismi, danneggiandole e alterandone la permeabilità. Un gran numero di oli essenziali è stato saggiato *in vitro* nei confronti dei principali patogeni postraccolta (Scheda et al., 2008). Gli oli essenziali di timo (*Thymus vulgaris*, *T. capitatus*, *T. zygis*, *T. glandulosus*, ecc.), origano (*Origanum* spp.) e agrumi, sono fra quelli più studiati. La loro attivi-

tà dipende dalla concentrazione e dal tempo di esposizione; tuttavia, in molti casi, l'attività anticrittogamica degli oli essenziali osservata *in vitro* non è stata riprodotta *in vivo* a causa della natura volatile dei costituenti. Inoltre, il più grande limite nell'utilizzazione di questi composti nella lotta contro malattie postraccolta degli ortofrutticoli è l'induzione di fenomeni di fitotossicità alle dosi efficaci e il loro forte aroma.

Molte altre sostanze volatili naturali con azione antimicrobica potrebbero risultare interessanti per il postraccolta degli ortofrutticoli freschi e rappresentano un campo di indagine che meriterebbe maggiore attenzione. L'acetaldeide, un composto volatile che si accumula naturalmente nei tessuti dei frutti durante la maturazione, manifesta effetti fungicidi nei confronti di numerosi patogeni postraccolta. La resistenza della fragola conservata in presenza di elevate concentrazioni di anidride carbonica è stata attribuita alla produzione di alti livelli di acetaldeide e di acetato di etile da parte della infruttescenza, in risposta a queste condizioni di conservazione. Somministrazioni di acetaldeide allo 0,1-1% hanno permesso l'inibizione della germinazione delle spore e ridotto lo sviluppo degli agenti di marciumi in postraccolta di fragole, lamponi, mele, uva e ciliegie. Il meccanismo di azione dell'acetaldeide sembra basato sulla alterazione della permeabilità cellulare con perdita di elettroliti, zuccheri riducenti e amminoacidi. Il problema maggiore nell'uso di questo composto volatile naturale, come negli oli essenziali, è che alle dosi efficaci spesso è fitotossico e altera il sapore dei frutti. Questo inconveniente probabilmente è alla base della mancanza di applicazione pratica del composto, nonostante siano state svolte numerose prove sperimentali.

Anche l'acido acetico, il principale composto volatile dell'aceto, appare un composto interessante nel controllo di patogeni postraccolta quando usato in fase di vapore. Esso è stato considerato fin dall'inizio del secolo scorso (Roberts and Dunegan, 1932) dimostrando la sua efficacia nel controllo di *M. fructicola* su pesche. Quantità di pochissimi mg/l di acido acetico ha inibito lo sviluppo di *M. fructicola*, *R. stolonifer*, *B. cinerea* e *P. expansum* su vari ortofrutticoli senza modificarne le caratteristiche organolettiche (Sholberg et al., 2004). Tuttavia, l'acido acetico, come molti altri acidi organici a catena corta, può indurre effetti fitotossici. Inoltre, un limite all'uso dell'acido acetico come di altre sostanze volatili è la scarsa o nulla penetrazione nei frutti e quindi l'impossibilità di controllare le infezioni latenti.

Fra le sostanze volatili appare infine interessante l'uso di vapori di etanolo. Apprezzabili risultati sono stati ottenuti nel controllo di marciumi postraccolta di pesche, uva da tavola e arance (Romanazzi et al., 2007; Zang et al., 2007). Recentemente è stato proposto sul mercato un pannello impregnato di

etanolo da utilizzare alla stessa stregua dei pannelli contenenti metabisolfito di sodio. Uno dei limiti nell'uso dell'etanolo è la sua elevata infiammabilità.

I vantaggi nell'uso di composti volatili naturali come fumiganti antimicrobici potrebbero essere notevoli poiché negli ambienti confinati del postraccolta (cella frigorifera, confezionamento con film plastici, imballaggi funzionali "active and intelligent packaging") tali sostanze diffonderebbero facilmente fra i frutti, non vi sarebbe apporto di acqua sotto forma liquida o di umidità e non vi sarebbero acque reflue da dover eliminare. Accanto alla ricerca di sostanze volatili a provata attività antifungina è necessario mettere a punto sistemi idonei di somministrazione per mantenere tale efficacia, evitare dannosi fenomeni di fitotossicità e retrogusti anomali del prodotto.

La propoli è una miscela di sostanze resinose di origine vegetale che le api (*Apis mellifera*) raccolgono dalle gemme e dalla corteccia delle piante. Questo materiale, arricchito di secrezioni salivari ed enzimatiche, è usato dalle api per la costruzione e la manutenzione degli alveari, come sigillante generale, come antibiotico e come sostanza imbalsamatoria per coprire le carcasse degli invasori. La composizione chimica, il colore e l'aroma variano secondo l'aerale di produzione. Nelle zone temperate, specialmente in Europa, la propoli contiene soprattutto composti fenolici, tra i quali quelli maggiormente presenti sono gli idrochinoni, l'acido caffeico e i suoi esteri e la quercetina (Fu et al., 2005). Molte delle sostanze identificate nella propoli sono impiegate come additivi alimentari, essendo considerate sostanze a bassa tossicità o, usando un termine inglese, GRAS (Generally Recognized As Safe), cioè sostanze non pericolose per la salute dell'uomo, secondo una nomenclatura della Food and Drug Administration (FDA) Americana. Queste caratteristiche rendono il prodotto interessante per l'impiego in postraccolta, quando cioè i frutti sono prossimi a essere consumati. Nonostante la propoli abbia spiccata attività antifungina, sono poche le ricerche documentate riguardanti le sue applicazioni nel controllo delle malattie delle piante in genere e del postraccolta in particolare. Saggi *in vitro* hanno dimostrato l'attività antifungina della propoli nei confronti di *B. cinerea* (La Torre et al., 1990); d'altra parte saggi mirati ad accertare la compatibilità di microrganismi antagonisti con additivi e composti chimici al fine di migliorarne l'attività, hanno messo in evidenza che la propoli inibisce i patogeni (*B. cinerea* e *P. expansum*) ma anche lieviti antagonisti quali *Aureobasidium pullulans*, *Rhodotorula glutinis* e *Cryptococcus laurentii* (Lima et al., 1998). Quando applicata su fragola contro la muffa grigia, la propoli non ha dato risultati soddisfacenti (Antoniacci et al., 2000). L'attività antibatterica e antifungina della propoli sembra dovuta

soprattutto ai flavonoidi, agli acidi fenolici e loro esteri; la galangina, la pinocembrina e la pinostrobinina tra i flavonoidi, gli acidi ferulici e caffeico tra gli acidi fenolici sembrano i composti con maggiore attività antimicrobica. Come prima accennato, la composizione della propoli varia in relazione alla flora presente nella zona di alimentazione delle api, all'andamento stagionale, alle condizioni ambientali, ecc.; la sua mutevole composizione rende variabile anche l'attività nei confronti dei patogeni. Questo spiegherebbe il suo scarso impiego in agricoltura, sebbene sia contemplata fra le sostanze utilizzabili su piante allevate in regime di agricoltura biologica (informativa n. 9890634 del 6/5/98).

#### Derivati di origine microbica o animale

I derivati di origine microbica o animale sono sostanze ottenute per estrazione da alcuni microrganismi o metaboliti prodotti dagli stessi, aventi attività inibitoria nei confronti di un'ampia gamma di funghi patogeni (Tripathi e Dubey, 2004). Un interessante studio è stato condotto sulle molecole prodotte da un fungo endofita, *Muscodora albus*. Queste molecole svolgono un'azione antifungina nei confronti di un'ampia gamma di patogeni: *Botrytis*, *Colletotrichum*, *Geotrichum*, *Monilinia*, *Penicillium* e *Rhizopus* (Mercier e Jimenez, 2004). Il fungo, sviluppandosi su semi di riso disseccati e precedentemente colonizzati, produce almeno 28 composti volatili e questa miscela può essere più efficace che i singoli componenti la miscela stessa. L'applicazione di *M. albus* come biofumigante è ancora in fase di studio, in quanto sono a tutt'oggi non risolti alcuni aspetti negativi quali la scarsa efficacia del fungo quando cresce a basse temperature (3°C). D'altra parte atmosfere particolarmente ricche di anidride carbonica sembrano non influenzare l'efficacia dell'antagonista. Una probabile soluzione potrebbe essere lo sviluppo di *M. albus* in un ambiente riscaldato al di fuori della cella di conservazione e il successivo convogliamento dei prodotti volatili all'interno della cella refrigerata (Schotsmans et al., 2007). Altri esempi di metaboliti di origine microbica sono rappresentati dall'iturina, un antibiotico prodotto da diversi ceppi di *B. subtilis*, efficace nella lotta contro il marciume bruno delle drupacee (Gueldner et al., 1988) e la pirrolnitrina, sintetizzata da ceppi di *Pseudomonas cepacia*, attiva contro *B. cinerea* su lamponi e fragola e *B. cinerea* e *P. expansum* su mele e pere (Goulart et al., 1992). Tuttavia, la possibile insorgenza di ceppi batterici resistenti agli antibiotici scoraggia l'uso sia della sostanza di per sé sia dei batteri che la producono; la pirrolnitrina, è stata comunque usata come modello

per la sintesi di nuovi fungicidi a basso impatto ambientale. Fra le sostanze di origine animale il chitosano (poly-N-acetylglucosamina), un polimero biodegradabile ottenuto commercialmente per deacetilazione della chitina (abbondante nell'esoscheletro di artropodi quali aragoste, gamberetti, granchi, ecc., nonché nella parete di funghi come *A. niger*, *M. rouxii*, *P. notatum*, ecc.), è stato ampiamente sperimentato nella lotta contro malattie postraccolta degli ortofrutticoli freschi. Il chitosano è utilizzato in svariati campi: come agente filtrante delle acque, flocculante per rimuovere sostanze grasse e particelle da liquidi, chiarificante dei vini e della birra, idratante nella cosmetica, farmaco nelle diete dimagranti e, più recentemente, in agricoltura come film edibile e come composto naturale antimicrobico capace di indurre risposte di difesa nell'ospite. Applicato agli ortofrutticoli freschi, il chitosano, per la sua capacità di formare un sottile film, agisce da barriera alla diffusione dei gas e dell'umidità riducendo la perdita in peso e ritardando la senescenza. Ma, più importante, il polimero è risultato in grado di ridurre i marciumi di uva da tavola, mango, ciliegie, papaia, agrumi, carote, fragola, ecc. quando applicato in pre- o in postraccolta (Romanazzi et al., 2007; Hernandez-Munoz et al., 2008). L'attività del polimero dipende dall'acido in cui viene disciolto (l'acido acetico è preferibile) e dalle sostanze con cui si complessa (per esempio lo zinco migliora notevolmente la sua attività antimicrobica diretta). L'interessante attività del chitosano può essere ascritta ai suoi meccanismi di azione, a oggi non del tutto chiariti, con cui esplica attività diretta e indiretta sul patogeno. Circa l'azione diretta, in *B. cinerea*, *R. stolonifer*, *F. oxysporum* e *Phytophthora nicotianae* il polimero ha causato una alterazione della permeabilità delle membrane e della morfologia del micelio, con ramificazioni e disintegrazione degli apici. Molto marcate sono apparse le sue capacità elicitrici, messe in evidenza in numerosi studi su ortofrutticoli freschi: induzione di  $\beta$ -1,3- glucanasi, chitinasi e chitosanasi è stata osservata in fragola, pomodoro e peperone, di PAL in uva da tavola, di fitoalessine in carote, di fitoalessine in carote, di vari geni coinvolti nei meccanismi di difesa in agrumi, ecc. (Romanazzi et al., 2002; Trullo et al., 2008). Inoltre, è in grado di stimolare la produzione di varie barriere difensive nei tessuti dell'ospite, come ispessimento della parete cellulare, formazione di papille e deposito negli spazi intercellulari di sostanze fenoliche antimicrobiche (Wilson et al., 1994; El Ghaouth et al., 1997). Interessanti risultano vari studi sulla applicazione pre-raccolta di questo polimero, dove, grazie alla capacità di indurre resistenza nell'ospite, permette un ritardo nella riattivazione delle infezioni latenti e quiescenti nel frutto giunto a maturità, con prolungamento della shelf-life (Ippolito e Nigro, 2000). Varie formulazioni per combattere malattie fogliari e dell'apparato radicale sono

presenti sul mercato; non altrettanto si può dire per le malattie postraccolta dove l'unico formulato proposto è "InnovaCoat" della Neova Technologies (Canada) contenente il composto in combinazione con un antagonista.

### 2.3 *Additivi alimentari con attività antifungina*

Queste sostanze chimiche (carbonato e bicarbonato di sodio e potassio, cloruro di calcio, potassio sorbato, calcio propionato, ecc.), definite anche GRAS, hanno suscitato un certo interesse nell'ambito della lotta contro i patogeni del postraccolta in quanto possiedono peculiari caratteristiche tra le quali: bassa tossicità, elevata solubilità, costo relativamente contenuto. Sono inoltre ormai comunemente usate per preservare numerosi alimenti (formaggi, ortaggi lavorati, salse e carne) da alterazioni microbiche e sono in grado di inibire la produzione di micotossine da parte di funghi tossigeni quali *A. flavus*, *A. parasiticus* (Bullerman, 1983), *P. expansum* e *P. patulum* (Lennox e McElroy, 1984). Numerose sono le ricerche in merito all'uso di alcuni sali: carbonato e bicarbonato di sodio e potassio e cloruro di calcio su vari ortofrutticoli freschi (Nigro et al., 2006); da soli o in combinazione con altri mezzi alternativi di lotta (Ippolito et al., 2005b). Questi sali non sono ancora registrati come agrofarmaci, nonostante la loro provata efficacia ne auspicherebbe un' applicazione pratica in varie realtà produttive. Al riguardo si ricorda che il bicarbonato di potassio è stato recentemente (regolamento CE n. 404/2008) aggiunto alla lista delle sostanze utilizzabili in agricoltura biologica (allegato II del regolamento CE n. 889/2008) anche se non è registrato per l'uso in postraccolta. Alcune sperimentazioni hanno messo in evidenza una buona attività del potassio sorbato nei confronti di *Monilinia* sp. su pesche e nettarine (Gregori et al., 2008), di *P. digitatum* su agrumi (Smilanick et al., 2008) e di *B. cinerea* su uva da tavola (Karabulut et al., 2005). Analogamente il sodio bicarbonato ha ridotto significativamente le infezioni di *P. expansum* su mele (Janisiewicz et al., 2008).

### 2.4 *Mezzi fisici*

Sono rappresentati da termoterapia, condizionamento termico, raggi UV-C, trattamenti con pressioni diverse da quella atmosferica, ozono, ecc. Lo stress fisico ha un duplice effetto sui frutti, da una parte disinfetta la superfici e dall'altra induce una risposta di difesa nei confronti di eventuali patogeni (Wilson et al., 1994). In particolare, la termoterapia, che può essere effettuata

con l'acqua, con l'aria, con il vapore, consente di inibire numerosi patogeni del postraccolta ed è stata ampiamente documentata (Fallik, 2004). Gli effetti positivi di un trattamento con acqua calda possono essere riassunti in 4 punti: 1) di facile attuazione; 2) inibiscono la germinazione delle spore fungine sulla superficie del frutto; 3) sono relativamente economici; 4) salubri 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. Il calore, inoltre, può inibire il patogeno localizzato negli strati sottoepidermici dell'epicarpo (Ben-Yehoshua et al., 1998) o all'interno delle lenticelle come nel caso di *P. vagabunda* (Neri et al., 2009). 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 postraccolta.

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) susine (Abu-Kpawoh, 2002) e mele cv 'Pink Lady' (Mari, dati non pubblicati). Interessanti sono le ipotesi formulate da Paull e Chen (2000) in merito alla risposta a livello citologico e fisiologico dei frutti trattati con il calore. Frutti trattati con temperature inferiori a 42°C evidenziano una risposta normale con riduzione della sensibilità al freddo accompagnata da un rallentamento o ritardo nella maturazione e con lievi modifiche delle caratteristiche organolettiche; diversamente, frutti trattati a temperature superiori ai 42°C manifestano una perdita da parte delle cellule di capacità di recupero e vari processi che caratterizzano la maturazione sono distrutti. Il limite tra le due risposte è molto ravvicinato, pertanto è fondamentale approfondire le conoscenze sugli effetti dei trattamenti con il calore al fine di evitare esiti fitotossici e mantenere inalterate le caratteristiche qualitative dei frutti trattati, ma nello stesso tempo addivenire a un controllo efficace dei patogeni.

Fra i mezzi fisici l'uso dei raggi ultravioletti a corta lunghezza d'onda (UV-C, lunghezza d'onda inferiore a 280 nm) mostra interessanti prospettive di applicazione grazie alla duplice attività che si esplica nei confronti dei patogeni (attività germicida) e dell'ospite, per la capacità di indurre resistenza (ormesi da radiazione) (Terry e Joice, 2004). L'attività germicida, tuttavia, è evidente solo ad alte dosi che, peraltro, determinano danni ai tessuti vegetali (Mercier et al., 2001). Le dosi ottimali per la riduzione dei marciumi sono solitamente basse (0,25-5 kJ/m<sup>2</sup>), ma variano a seconda della specie ortofrutticola. Ad es. per uva e fragola dosi rispettivamente di 0,125-0,5 kJ m<sup>2</sup> e 0,5-1 kJ m<sup>2</sup> sono

risultate efficaci contro la muffa grigia (Nigro et al., 1998, 2000); mentre dosi più elevate sono necessarie per il contenimento dei marciumi delle pesche causati da *M. fructicola* e per quelli delle mele causati da *Alternaria* spp. e *Monilinia* spp. (Lu et al., 1991). Oltre a indurre resistenza nell'ospite, la luce UV-C a basse dosi sembra sia in grado di favorire l'incremento della popolazione di microrganismi antagonisti (batteri, lieviti e funghi lievitoformi) presenti sulla superficie dei frutti (Nigro et al., 1998). Sebbene in numerosi prodotti vegetali la luce UV-C abbia evidenziato la capacità di ridurre lo sviluppo delle malattie, non può considerarsi sostitutiva delle tecniche di lotta attualmente consigliate, in quanto caratterizzata da una minore efficacia.

Fra i mezzi fisici anche i trattamenti ipobarici e iperbarici potrebbero offrire prospettive di utilizzo come mezzi alternativi di lotta alle malattie postraccolta. Non sono note applicazioni su larga scala in postraccolta di trattamenti iperbarici, ma in prove sperimentali preliminari questi hanno determinato riduzioni significative dei marciumi in ciliegie e uva da tavola anche se i meccanismi alla base del fenomeno non sono del tutto chiari (Romanazzi et al., 2008). D'altra parte, trattamenti ipobarici (0,1-0,7 atm) possono determinare nell'ospite condizioni di debole stress associate a fenomeni di induzione di resistenza (Romanazzi et al., 2001), così come riportato per altri mezzi fisici, ma principalmente rallentano indirettamente i processi di maturazione e di senescenza dei frutti a causa della bassa pressione parziale dell'O<sub>2</sub>, favorendo tra l'altro l'allontanamento dell'etilene e di altre sostanze volatili prodotte dal metabolismo dei frutti. Trattamenti ipobarici di breve durata (4-24 ore) alle pressioni di 0,25, 0,5 e 0,75 atm, sono risultati efficaci nel contenere i marciumi postraccolta di fragole, ciliegie e uva da tavola (Romanazzi et al., 2001), soprattutto quando applicati in combinazione con chitosano (Romanazzi et al., 2003).

I trattamenti con pressioni diverse da quella atmosferica offrirebbero il grande vantaggio che i frutti non vengono trattati con alcun tipo di prodotto (microrganismo, sostanza naturale, sostanze GRAS, ecc.) che, per quanto siano innocui, suscitano sempre qualche perplessità nel consumatore. Tuttavia, i costi delle attrezzature e di funzionamento e l'efficacia non sempre a livelli apprezzabili, rende l'utilizzazione di questa tecnologia lontana dall'applicazione pratica su larga scala.

### 3. CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

L'aumentato interesse verso metodi alternativi ai fungicidi di sintesi nella lotta contro i patogeni del postraccolta ha prodotto numerose ricerche nelle ultime due

decadi. I risultati ottenuti appaiono incoraggianti, in quanto è evidente la possibilità di lotta ai patogeni del postraccolta senza l'uso dei fungicidi tradizionali. D'altra parte tutti i mezzi fin qui esposti, considerati singolarmente, non riescono a ottenere una riduzione delle perdite di prodotto economicamente accettabile; pertanto, sono in corso numerosi studi per migliorarne l'efficacia. Nel caso dei biofungicidi la formulazione rappresenta ancora un aspetto chiave, come anche la compatibilità con le normali pratiche di lavorazione e conservazione dei frutti. Importante risulta inoltre, come già citato, l'integrazione dei biofungicidi con GRAS, acqua calda o elicitori di resistenza al fine di sfruttare eventuali fenomeni additivi o sinergici tra le varie strategie di lotta. La ricerca ha evidenziato, inoltre, alcuni punti critici che possono essere così sintetizzati: difficoltà (in termini di costo e tempo) nella registrazione a livello europeo dei biofungicidi; eventuale tossicità per l'uomo e l'ambiente delle molecole cosiddette naturali e loro possibile fitotossicità se usate a concentrazioni elevate; esigenza di uno studio dettagliato del destino ambientale degli antagonisti. La ricerca e lo sviluppo dei fungicidi naturali deve prevedere indagini approfondite sulla loro degradazione nei cibi o nei sistemi biologici (Tripathi e Dubey, 2004), sebbene la loro origine naturale li renda relativamente biodegradabili e senza residui apprezzabili (Beye, 1978).

Per quanto riguarda, poi, i tempi di registrazione dei biofungicidi, l'Europa appare penalizzata nei confronti degli Stati Uniti; infatti l'EPA, l'ente americano che sovrintende alla loro registrazione, impiega circa 2 anni per immettere sul mercato un biofungicida. Lo stesso prodotto impiega in Europa almeno 7 anni e anche in Italia segue la stessa lunga procedura. Per questo motivo è stato finanziato dalla comunità un progetto denominato REBECA ([www.rebeca-net.de](http://www.rebeca-net.de)), che si prefigge, tra l'altro, di esaminare i possibili rischi degli agenti di lotta biologica e di confrontare la regolamentazione europea e quella americana. Esso prende in considerazione non solo microrganismi antagonisti, ma anche insetti, acari e nematodi, nonché feromoni ed estratti di piante da utilizzare nella lotta contro i patogeni dei vegetali; propone, inoltre, alternative meno burocratiche e procedure di regolamentazione più efficienti, pur mantenendo lo stesso livello di sicurezza per la salute dell'uomo e dell'ambiente, accelerando l'accesso al mercato e abbassando i costi di registrazione.

#### RIASSUNTO

Negli ultimi anni sono stati studiati mezzi di lotta alternativi ai tradizionali fungicidi di sintesi al fine di prevenire perdite di prodotto negli ortofrutticoli durante la fase postraccolta. In questo ambito, alcuni mezzi che prevedono l'utilizzazione di (a) microorganismi antago-

nisti, (b) sostanze naturali ad attività antimicrobica e (3) trattamenti chimico-fisici hanno evidenziato interessanti risultati, che purtroppo, sono ancora lontani da applicazioni pratiche a causa, soprattutto, di una modesta efficacia. Inoltre, prodotti commerciali a base di microrganismi antagonisti da impiegare nella lotta contro i patogeni del postraccolta sono stati registrati negli Stati Uniti, Israele e Sud Africa, ma non ancora in Europa. L'attività antifungina evidenziata da alcuni composti naturali estratti dalle piante è risultata influenzata in maniera determinante dalle condizioni di trattamento (concentrazione, modo di applicazione, formulazione, tempo di esposizione, durata del trattamento, ecc.). Nel corso di numerose prove, sono emerse risposte differenti al trattamento che indicano possibili interazioni tra la sostanza saggiata, il patogeno e l'ospite. Un probabile ostacolo all'uso delle sostanze naturali può essere quindi non tanto l'efficacia, quanto l'eventuale fitotossicità e la formazione di odori o sapori anomali. Per superare taluni aspetti negativi inerenti l'uso di microrganismi antagonisti o sostanze naturali è stata proposta una strategia di applicazione integrata con altri mezzi quali l'uso di prodotti chimici a bassa tossicità (come taluni additivi alimentari), il calore, gli elicitatori di resistenza, ecc. al fine di produrre un effetto additivo o sinergico che consenta un controllo soddisfacente delle malattie.

#### ABSTRACT

Alternative methods to fungicide treatments have been studied in order to prevent fruit losses in the postharvest phase. Within these methods the applications of: (a) biological control agents (BCAs), (b) plant bioactive compounds and (c) physico-chemical treatments showed interesting results but still far from a practical application in Europe. So far, despite the substantial progress obtained with BCAs, no biofungicide has been registered in Europe to control postharvest pathogens, also because of insufficient and inconsistent performance. The use of plant bioactive compounds has shown that the treatment conditions (concentration, form of application, formulation, exposure time, time of treatment, etc.) can strongly influence their efficacy. The different responses found in many studies indicate a cultivar specificity in the product-pathogen-volatile interaction. A barrier to the use of plant bioactive compounds may not be the efficacy, but rather the off-odours caused in fruits and vegetables and/or the phytotoxicity. To overcome the drawbacks that have arisen with these methods, the integration of the antagonist with other treatments such as low toxic substances (GRAS), heat, etc. has been proposed; this strategy could produce an additive or synergic effect on disease control and obtain satisfactory levels of disease reduction.

#### 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, pp. 2649-2653.
- ALVISI F. (1987): *Incidenza degli scarti dopo la raccolta nel settore ortofrutticolo: considerazioni generali. Strategie nella difesa postraccolta dei prodotti ortofrutticoli freschi*, Mac Fruit, Cesena (Fo), Italy, pp. 5-14.

- ANTONIACCI L., COBELLI L., DE PAOLI E., GENGOTTI S. (2000): *Prove di difesa antibiotrica su fragola in pieno campo*, «Informatore Fitopatologico», 50, pp. 45-51.
- ARK P.A., THOMPSON J.P. (1959): *Control of certain diseases of plants with antibiotics from garlic* (*Allium sativum L.*), «Plant Disease Report», 43, pp. 276-282.
- BAUTISTA-BAÑOS S., HERNANDEZ-LOPEZ M., DIAZ-PEREZ J.C., CANO-OCHA C.F. (2000): *Evaluation of the fungicidal properties of plant extracts to reduce Rhizopus stolonifer of 'ciruela' fruit* (*Spondias purpurea L*) *during storage*, «Postharvest Biology and Technology», 20, pp. 99-106.
- BEN-YEHOSHUA S., RODOV V., PERETZ J. (1998): *The constitutive and induced resistance of citrus fruit against pathogens*, in *Disease Resistance in Fruit* a cura di G.I. Hohnson, E. Highly e D.C. Joyce, ACIAR Proc. Canberra, Australia, 30, pp. 78-92.
- BEYE F. (1978): *Insecticides from vegetable kingdom*, «Plant Research and Development», 7, pp. 13-31.
- BLACHINSKY, D., ANTONOV, J., BERCOVITZ, A., ELAD, B., FELDMAN, K., HUSID, A., LAZARE, M., MARCOV, N. SHAMAI, I., KEREN-ZUR, M., DROBY, S. (2007): *Commercial applications of "Shemer" for the control of pre and postharvest diseases*, «IOBCWPRS Bulletin», 30, pp. 75-78.
- BULLERMAN L.B. (1983): *Effect of potassium sorbate on growth and aflatoxin production by Aspergillus parasiticus and Aspergillus flavus*, «Journal of Food Protection», 46, pp. 940-942.
- CACCIONI, D.R.L., GUIZZARDI M. (1994): *Inhibition of germination and growth of fruit and vegetable postharvest pathogenic fungi by essential oil components*, «Journal of Essential Oil Research», 6, pp. 174-179.
- COURSEY D.G., BOOTH R.H. (1972): *The postharvest phytopathology of perishable tropical produce*, «Review of Plant Pathology», 51, pp. 751-765.
- DELAQUIS PJ, MAZZA G. (1995): *Antimicrobial properties of isothiocyanates in food preservation*, «Food Technology», 49, pp. 73-84.
- DI VENERE D., GATTO M., LINSALATA V., LATTANZIO V., SOLFRIZZO M., CASCARANO N., NIGRO F., IPPOLITO A. (2008): *Antifungal activity of phenolic extracts from broomrape* (*Orobanche crenata Forsk.*), Atti XXIV International Conference on Polyphenols, Salamanca, Spagna, 8-11 July, 33 (abstract).
- DROBY S., PORAT R., COHEN L., WEISS B., SHAPIRO B., PHILOSOPH-HADAS S., MEIR S. (1999): *Suppressing green mould decay in grapefruit with postharvest jasmonate application*, «Journal American Society Horticultural Science», 124, pp. 184-188.
- DROBY S. (2001): *'Enhancing biocontrol activity of microbial antagonists of postharvest diseases'*, in Vurro M., Gressel J., Butt T., Harman G., Pilgeram A., St Leger R., Nuss D., *Enhancing biocontrol agents and handling risks*, Nato Science Series, vol. 339, IOS Press, Amsterdam, pp. 77-85.
- EL GHAOUTH A., ARUL J., WILSON C., BENHAMOU N. (1997): *Biochemical and cytochemical aspects of the interaction of chitosan and Botrytis cinerea in bell pepper fruit*, «Postharvest Biology and Technology», 12, pp. 183-194.
- EL GHAOUTH A., WILSON C.L. (2002): *Candida saitoana compositions for biocontrol of plant postharvest decay*, U.S. Patent No. 6, pp. 419-922.
- FALLIK E. (2004): *Prestorage hot water treatments (immersion, rinsing and brushing)*, «Postharvest Biology and Technology», 32, pp. 125-134.
- FARMER E.E. (2001): *Surface-to-air signals*, «Nature», 411, pp. 854-856.
- FU S.H., YANG M.H., WEN H.M., CHERN J.C. (2005): *Analysis of flavonoids in propolis by capillary electrophoresis*, «Journal Food and Drug Analysis», 13, pp. 43-50.

- GATTO M.A., DI VENERE D., LINSALATA V., VANADIA S., BIANCO V.V., IPPOLITO A. (2006): *Antifungal activity of extracts from wild edible herbaceous species*, «Journal of Plant Pathology», 88, (abstract).
- GONZÁLEZ-AGUILAR G.A., TIZNADO-HERNANDEZ M.E., ZAVALA-GATICA R., MARTINEZ-TELLEZ M.A. (2004): *Methyl jasmonate treatments reduce chilling injury and activate the defence response of guava fruits*, «Biochemical and Biophysical Research Communications», 313, pp. 694-701.
- GOULART B.L., HAMMER P.E., EVENSEN K.B., JANISIEWICZ W., TAKEDA F. (1992): *Pyrolnitrin, captan, benomyl, and high CO<sub>2</sub> enhanced raspberry shelf life*, «Journal American Society Horticultural Science», 117, pp. 265-270.
- GRAYER R., KOKUBUN T. (2001): *Plant-fungal interactions: the search for phytoalexins and other antifungal compounds from higher plants*, «Phytochemistry», 56, pp. 253-263.
- GREGORI R., BORSETTI F., NERI F., MARI M., BERTOLINI P. (2008): *Effects of potassium sorbate on postharvest brown rot of stone fruit*, «Journal of Food Protection», 71, pp. 1626-1631.
- GUELDNER R.C., REILLY C.C., PUSEY P.L., ARRENDALE R., HIMMELSBACH D.S., CUTLER H.G. (1988): *Isolation and identification of iturin as antifungal peptides in biological control of peach brown rot with Bacillus subtilis*, «Journal Agricultural Food Chemistry», 36, pp. 366-370.
- HAMILTON-KEMP T.R., MCCracken C.T., LOUGHRIN JR J.H., ANDERSEN R.A., HILDEBRAND D.F. (1992): *Effects of some natural volatile compounds on the pathogenic fungi Alternaria alternata and Botrytis cinerea*, «Journal of Chemical Ecology», 18, pp. 1083-1091.
- HERNANDEZ-MUNOZ P., ALMENAR E., VALLE V.D., VELEZ D., GAVARA R. (2008): *Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry (Fragaria × ananassa) quality during refrigerated storage*, «Food Chemistry», 110, pp. 428-435.
- IPPOLITO A., NIGRO, F. (2000): *Impact of preharvest application of biological control agents on postharvest diseases of fresh fruits and vegetables*, «Crop Protection», 19, pp. 715-723.
- IPPOLITO A., NIGRO F. (2003): *Natural antimicrobials in postharvest storage of fresh fruits and vegetables*, in *Natural antimicrobials for the minimal processing of foods*, a cura di Roller, Woodhead Publishing, Cambridge, UK, pp. 201-234.
- IPPOLITO A., NIGRO, F., DE CICCO V. (2005a): *Natural antimicrobials for preserving fresh fruit and vegetables*, in *Improving the safety of fresh fruit and vegetables*, a cura di W. Jongen, Woodhead Publishing, Cambridge, UK, pp. 513-555.
- IPPOLITO A., SCHENA L., PENTIMONE I., NIGRO F. (2005b): *Control of postharvest rots of sweet cherries by pre- and postharvest applications of Aureobasidium pullulans in combination with calcium chloride or sodium bicarbonate*, «Postharvest Biology and Technology», 36, pp. 245-252.
- JANISIEWICZ W.J., SAFTNER R.A., CONWAY W.S., YODER K.S. (2008): *Control of blue mold decay of apple during commercial controlled atmosphere storage with yeast antagonists and sodium bicarbonate*, «Postharvest Biology and Technology», 49, pp. 374-378.
- KARABULUT, O. A., TEZCAN, H., DAUS, A. COHEN, L., WIESS, B., DROBY, S. (2004): *Biological control of preharvest and postharvest rots in strawberries by Metschnikowia fructicola*, «Biocontrol Science and Technology», 14, pp. 513-521.
- KARABULUT O.A., ROMANAZZI G. SMILLANICK J.L. LICHTER A. (2005): *Postharvest ethanol and potassium sorbate treatments of table grapes to control gray mold*, «Postharvest Biology and Technology», 37, pp. 129-134.

- KIRKEGAARD J.A., SARWAR M., MATTHIENSEN J.N. (1998): *Assessing the biofumigation potential of cruciferous*, «Acta Horticulturae», 459, pp. 105-111.
- LA TORRE A., GRUCCIONE M., IMBROGLINI G. (1990): *Indagine preliminare sull'azione di preparati a base di propoli nei confronti di Botrytis cinerea della fragola*, «Apicoltura», 6, pp. 169-177.
- LAMPE J. W. (1999): *Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies*, «American Journal of Clinical Nutrition», 70, pp. 475-490.
- LARENA, I., TORRES, R., DE CAL, A., LINAN, M., MELGAREJO, P., DOMENICHINI, P., BELLINI, A., MANDRIN, J.F., LICHOU, J., OCHOA DE ERIBE, X., USALL, J. (2005): *Biological control of postharvest brown rot (Monilinia spp.) of peaches by field applications of Epicoccum nigrum*, «Biological Control», 32, pp. 305-310.
- LENNOX J.E., McELROY L.J. (1984): *Inhibition and growth of patulin synthesis in Penicillium expansum by potassium sorbate and sodium propionate in culture*, «Applied of Environmental Microbiology», 48, pp. 1031-1033.
- LIMA G., IPPOLITO A., NIGRO F., SALERNO M. (1997): *Effectiveness of Aureobasidium pullulans and Candida oleophila against postharvest strawberry rots*, «Postharvest Biology and Technology», 10, pp. 169-178.
- LIMA G., DE CURTIS F., CASTORIA R., PACIFICO S., DE CICCIO V. (1998): *Additives and natural products against postharvest pathogens and compatibility with antagonistic yeasts*, «Journal Plant Pathology», 80, pp. 259.
- LU J.Y., STEVENS C., KHAN V.A., KABWE M. (1991): *The effect of ultraviolet irradiation on shelf life and ripening of peaches and apples*, «Journal of Food Quality», 14, pp. 299-305.
- MARI M., LEONI O., IORI R., CEMBALI T. (2002): *Antifungal vapour-phase of allyl-isothiocyanate against Penicillium expansum on pears*, «Plant Pathology», 51, pp. 231-236.
- MARI M., LEONI O., BERNARDI R., NERI F., PALMIERI S. (2008): *Control of brown rot on stonefruit by synthetic and glucosinolate-derived isothiocyanates*, «Postharvest Biology and Technology», 47, pp. 61-67.
- MERCIER J., BAKA M., REDDY B., CORCUFF R., ARUL, J. (2001): *Short-wave ultraviolet irradiation for control of decay by Botrytis cinerea in bell pepper: induced resistance and germicidal effects*, «Journal of American Society of Horticultural Science», 126, pp. 128-133.
- MERCIER J., JIMENEZ J.I. (2004): *Control of fungal decay of apples and paches by the biofumigant fungus Muscodor albus*, «Postharvest Biology and Technology», 31, pp. 1-8.
- MOLINE H.E., BUTA J.G., SAFTNER R.A., MAAS J.L. (1997): *Comparison of three volatile natural products for the reduction of post harvest diseases in strawberries*, «Advanced Strawberry Research», 16, pp. 43-48.
- NERI F., MARI M., BRIGATI S. (2006): *Control of Penicillium expansum by plant volatile compounds*, «Plant Pathology», 55, pp. 100-105.
- NERI F., MARI M., MENNITI A.M., BRIGATI S., BERTOLINI P. (2007): *Fungicidal activity of plant volatile compounds for controlling Monilinia laxa*, «Plant Disease», 91, pp. 30-35.
- NERI F., MARI M., BRIGATI S., BERTOLINI P. (2009): *Control of Neofabra alba by plant volatile compounds and hot water*, «Postharvest Biology and Technology», 51, pp. 425-430.
- NIGRO F., IPPOLITO A., LIMA G. (1998): *Use of UV-C light to reduce Botrytis storage rot of table grapes*, «Postharvest Biology and Technology», 13, pp. 171-181.

- NIGRO F., IPPOLITO A., LATTANZIO V., DI VENERE D., SALERNO M. (2000): *Effect of ultraviolet-C light on postharvest decay of strawberry*, «Journal of Plant Pathology», 82, pp. 29-37.
- NIGRO L., SCHEA A., LIGORIO I., PENTIMONE A., IPPOLITO A., SALERNO M. (2006): *Control of table grape storage rots by pre-harvest applications of salts*, «Postharvest Biology and Technology», 42, pp. 142-149.
- OGABWU J., KORSTERN L. (2003): *Control of citrus green and blue molds with garlic extracts*, «European Journal of Plant Pathology», 109, pp. 221-225.
- PAULL R.E., CHEN N.J. (2000): *Heat treatment and fruit ripening*, «Postharvest Biology and Technology», 21, pp. 21-38.
- ROBERTS J.W., DUNEGAN J.C. (1932): *Peach brown rot*, «Technical Bulletin», N° 328, US Dept. of Agric., Washington DC.
- ROMANAZZI G., NIGRO F., IPPOLITO A., SALERNO M. (2001): *Effect of short hypobaric treatments on postharvest rots of sweet cherries, strawberries, and table grapes*, «Postharvest Biology and Technology», 22, pp. 1-6.
- ROMANAZZI G., NIGRO F., IPPOLITO A., DI VENERE D., SALERNO M. (2002): *Effects of pre and postharvest chitosan treatments to control storage grey mould of table grapes*, «Journal Food Science», 67, pp. 1862-1867.
- ROMANAZZI G., NIGRO F., IPPOLITO A. (2003): *Short hypobaric treatments potentiate the effect of chitosan in reducing storage decay of sweet cherries*, «Postharvest Biology and Technology», 29, pp. 73-80.
- ROMANAZZI G., KARABULUT O.A., SMILANICK J.L. (2007): *Combination of chitosan and ethanol to control postharvest gray mold of table grapes*, «Postharvest Biology and Technology», 45, pp. 134-140.
- ROMANAZZI G., NIGRO F., IPPOLITO A. (2008): *Effectiveness of short hyperbaric treatment to control postharvest decay of sweet cherries and table grapes*, «Postharvest Biology and Technology», 49, pp. 440-442.
- SANZANI S. M., DE GIROLAMO A., SCHEA L. A., SOLFRIZZO M., IPPOLITO A., VISCANTI A. (2009): *Control of Penicillium expansum and patulin accumulation on apples by quercetin and umbelliferone*, «European Food Research and Technology», 228, pp. 381-389.
- SCHEA L., NIGRO F., IPPOLITO A. (2008): *Natural antimicrobials to improve storage and shelf-life of fresh fruit, vegetables and cut flowers*, in *Microbial Biotechnology in Horticulture*, a cura di R.C. Ray, O.P. Ward, vol. 2. Science Publisher, Enfield, NH, USA, pp. 259-303.
- SCHOTSMANS W.C., BRAUN G., DELONG J.M., PRANGE R.K. (2008): *Temperature and controlled atmosphere effects on efficacy of Muscodor albus as a biofumigant*, «Biological Control», 44, pp. 101-110.
- SHOLBERG P.L., SHEPHARD T., RANDALL P., MOYLS L. (2004): *Use of measured concentrations of acetic acid vapour to control postharvest decay in d'Anjou pears*, «Postharvest Biology and Technology», 32, pp. 89-98.
- SKOČIBUŠIĆ M., BEZIĆ N., DUNKIĆ V. (2006): *Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oil from Satureja subspicata Vis. growing in Croatia*, «Food Chemistry», 96, pp. 20-28.
- SMILANICK J.L., MANSOUR M.F., GABLER F.M., SORENSON D. (2008): *Control of citrus postharvest mold and sour rot by potassium sorbate combined with heat and fungicides*, «Postharvest Biology and Technology», 47, pp. 226-238.
- SOMMER N.F., FORTLAGE R.J., EDWARDS D.C. (1992): *Postharvest diseases of selected*

- commodities*’, in Kader A. A., *Postharvest Technology of Horticultural Crops*, University of California, Div Agriculture and Natural Resources, Publication 3311, pp. 117-160.
- STONER G.D., KRESTY L.A., CARLTON P.S., SIGLIN J.C., MORSE M.A. (1999): *Isobutyronitriles and freeze-dried strawberries as inhibitors of oesophageal cancer*, «*Toxicological Science*», 52, pp. 95-100.
- TEIXIDO N., VINAS I, USALL J., MAGAN N. (1998): *Control of blue mold of apples by pre-harvest application of *Candida sake* grown in media with different water activity*, «*Phytopathology*», 88, pp. 960-964.
- TERRY L.A., JOYCE D.C. (2004): *Elicitors of induced disease resistance in postharvest horticultural crops: a brief review*, «*Postharvest Biology and Technology*», 32, pp. 1-13.
- TORRES R., TEIXIDO N., VINAS I, MARI M., CASALINI L., GIRAUD M., USALL J. (2006): *Efficacy of *Candida sake* CPA-1 formulation for controlling *Penicillium expansum* decay on pome fruit from different Mediterranean regions*, «*Journal of Food Protection*», 69, pp. 2703-2711.
- TRIPATHI P., DUBEY, N.K. (2004): *Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables*, «*Postharvest Biology and Technology*», 32, pp. 235-245.
- TRULLO M. C., MERELO-CREMADES P., SCHENA L., TADEO F.R., GONZÁLEZ-CANDELAS L., TALÓN M., IPPOLITO A. (2008): *Microarray analysis of gene expression profiles in citrus fruit treated with chitosan*, «11th International Citrus Congress, Wuhan, China, October 26-30, pp. 38 (Abstract)
- TSAO R., ZHOU T. (2000): *Interactions of monoterpenoids, methyl jasmonate, and  $Ca^{2+}$  in controlling postharvest brown rot of sweet cherry*, «*HortScience*», 35, pp. 1304-1307.
- WILSON C.L., WISNIEWSKI M.E. (1989): *Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables an emerging technology*, «*Annual Review of Phytopathology*», 27, pp. 425-441.
- 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, pp. 837-844.
- WOOLF A.B. (1997): *Reduction of chilling injury in stored ‘Hass’ avocado fruit by 38°C water treatments*, «*HortScience*», 32, pp. 1247-1251.
- ZHANG W., LI X., WANG X., WANG G., ZHENG J., ABEYSINGHE D.C., FERGUSON I.B., CHEN, K. (2007): *Ethanol vapour treatment alleviates postharvest decay and maintains fruit quality in Chinese bayberry*, «*Postharvest Biology and Technology*», 46, pp. 195-198.

