



**DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE, ALIMENTARI E
AMBIENTALI**

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN SCIENZE AGRARIE E DEL TERRITORIO

**VALIDAZIONE DI MODELLI PREVISIONALI PER
MONILINIA SPP. E VALUTAZIONE
DELL'EFFICACIA DI TRATTAMENTI
POSTRACCOLTA PER IL CONTROLLO DEL
MARCUME BRUNO DELLE DRUPACEE**

*VALIDATION OF FORECASTING MODELS FOR MONILINIA
SPP. AND EVALUATION OF EFFECTIVENESS OF PRE AND
POSHARVEST TREATMENTS TO MANAGE BROWN ROT*

Studente:

LORENZO FALCIONI

Relatore:

PROF. GIANFRANCO ROMANAZZI

Correlatore:

DOTT.SSA ANNAMARIA LUCREZIA

D'ORTENZIO

ANNO ACCADEMICO 2021-2022

Alla mia famiglia che mi ha sempre sostenuto

in questo percorso di crescita.

Ai miei nonni sempre fonte di

insegnamenti e amore.

Ai miei amici sempre presenti

nel momento del bisogno.

INDICE

RIASSUNTO	5
ABSTRACT	6
1 INTRODUZIONE	7
1.1 MARCIUME BRUNO DELLE DRUPACEE	7
1.2 DISTRIBUZIONE GEOGRAFICA	7
1.3 AGENTI EZIOLOGICI	8
1.3.1 <i>Monilinia laxa</i>	8
1.3.2 <i>Monilinia fructigena</i>	9
1.3.3 <i>Monilinia fructicola</i>	10
1.3.4 <i>Monilinia polystroma</i>	11
1.4 SINTOMATOLOGIA	11
1.5 CICLO BIOLOGICO ED EPIDEMIOLOGIA	14
1.6 FATTORI CHE INFLUENZANO LA MALATTIA	16
1.6.1 Fattori ambientali	16
1.6.2 Fattori agronomici	17
1.6.3 Fattori postraccolta	17
1.7 METODI DI LOTTA UTILIZZATI IN PRERACCOLTA E POSTRACCOLTA	18
1.7.1 Pratiche colturali	18
1.7.2 Trattamenti con agrofarmaci	19
1.7.3 Trattamenti fisici	21
1.8 STRATEGIE INNOVATIVE UTILIZZATE IN PRERACCOLTA E POSTRACCOLTA	22
1.8.1 Uso di sostanze alternative	22
1.8.2 Agenti di biocontrollo	24
1.8.3 Modelli previsionali	26
2 OBIETTIVI DELLA RICERCA	26
3 MATERIALI E METODI	27
3.1 PROVA SPERIMENTALE 1: VALUTAZIONE DELL'EFFICACIA DI PRODOTTI DI ORIGINE NATURALE E MICRORGANISMI IN POSTRACCOLTA NEL CONTENIMENTO DEL MARCIUME BRUNO	27

3.1.1	Caratteristiche del frutteto	27
3.1.2	Trattamenti in postraccolta	28
3.1.3	Valutazione delle infezioni latenti	33
3.2	PROVA SPERIMENTALE 2: VALIDAZIONE MODELLI SPERIMENTALI	33
3.2.1	Caratteristiche dei frutteti	33
3.2.2	Schema sperimentale	34
3.2.3	Valutazione infezioni latenti	34
3.2.4	Validazione del modello <i>Field climate</i>	36
3.2.5	Validazione del modello previsionale spagnolo	37
3.2.6	Valutazione delle infezioni in postraccolta	39
4	RISULTATI	39
4.1	PROVA SPERIMENTALE 1: VALUTAZIONE DELL'EFFICACIA DI PRODOTTI DI ORIGINE NATURALE E MICRORGANISMI IN POSTRACCOLTA NEL CONTENIMENTO DEL MARCIUME BRUNO	39
4.1.1	Diffusione marciume bruno su pesche e nettarine in postraccolta	39
4.2	PROVA SPERIMENTALE 2: VALIDAZIONE MODELLI SPERIMENTALI	41
4.2.1	Monitoraggio infezioni latenti	41
4.2.2	Validazione di modelli previsionali	42
5	DISCUSSIONE E CONCLUSIONI	44
6	BIBLIOGRAFIA	48
	RINGRAZIAMENTI	58

RIASSUNTO

Il marciume bruno, causato da funghi del genere *Monilinia*, è una malattia delle drupacee che, in particolar modo nelle aree che presentano climi caldo-umidi, può provocare gravi perdite di produzione sia in campo, sia in postraccolta. Questo lavoro di tesi si colloca nei progetti PRIMA ‘StopMedWaste’ e PSR Marche ‘ZeroSprechi’, e ha riguardato sia la verifica dell’efficacia di prodotti alternativi ai fungicidi di sintesi per il controllo delle infezioni causate da *Monilinia* spp. in postraccolta sia la validazione di modelli previsionali come strumento di supporto per il controllo del marciume bruno. Per la prova in postraccolta sono state analizzate nettarine cv ‘Carene’ e pesche cv ‘Extreme 486’ provenienti entrambe dal frutteto dell’Azienda ‘Acciarri Società Agricola S.R.L’ situata in provincia di Fermo. È stata saggiata l’efficacia di 10 prodotti alternativi, a base di chitosano, olio essenziale di arancio dolce, *Bacillus subtilis*, *Metschnikowia fructicola*, estratto di ortica, miscela di timolo, geraniolo ed eugenolo, COS-OGA, estratto vegetale, e 2 ceppi di *Bacillus amyloliquefacens*, messi a confronto con un testimone chimico ed un testimone non trattato. Per ciascuna tesi è stata valutata la diffusione di *Monilinia* spp. fino a 11 giorni di *shelf life*. La prova non ha mostrato riduzioni significative dei prodotti testati rispetto al controllo o al fungicida di sintesi. La validazione dei modelli previsionali è avvenuta prendendo in considerazione alcune cultivar, provenienti dall’azienda ‘Mazzoni’ ed ‘Acciarri’. Su tutte le cultivar è stata effettuata la valutazione delle infezioni latenti con risultati diversi a seconda della varietà di frutto. Successivamente, con tre di queste cultivar, ‘Lucie’, ‘Big Top’ e ‘Honey Royal’, è stata effettuata la validazione di due modelli previsionali già esistenti, un modello di rischio di infezione di *Monilinia* spp. ed un modello previsionale già validato in Spagna. Dai risultati è emerso che i modelli previsionali sono strumenti validi per prevenire il rischio di malattia e limitare l’uso dei prodotti fitosanitari. Questo lavoro di tesi evidenzia che l’applicazione di trattamenti con prodotti alternativi richiede una più attenta valutazione dei composti utili a contenere la diffusione del marciume bruno sulle drupacee, al fine di adottare la migliore strategia sia in campo che in postraccolta non potendo semplicemente sostituire un prodotto chimico di sintesi con uno alternativo. I modelli previsionali possono quindi risultare un valido aiuto per una gestione integrata e sostenibile della moniliosi.

ABSTRACT

Brown rot, caused by *Monilinia* spp., is one of the most destructive diseases of stone fruits, which can result in serious economic losses, particularly in areas with humid climates, both preharvest and postharvest. The aims of the thesis, in the framework of the PRIMA 'StopMedWaste' and PSR Marche 'ZeroSprechi' projects, consisted of testing eco-friendly alternative products for the management of postharvest *Monilinia* spp. infections and the validation of forecasting models as a support tool for the control of brown rot. The samples analyzed are nectarines cv 'Carene' and peaches cv 'Extreme 486' both from the orchard of 'Acciarri Società Agricola S.R.L company' located in Province of Fermo. The effectiveness of 10 alternative treatments based on chitosan, sweet orange essential oil, *Bacillus subtilis*, *Metschnikowia fructicola*, nettle extract, thymol, geraniol and eugenol mixture, COS-OGA, plant extract, and two strain of *Bacillus amyloliquefacens* was assessed and compared with a chemical formulation and an untreated control. For each treatment, the disease incidence caused by *Monilinia* spp. was recorded until 11 days of *shelf life*. These tests did not show significant reduction of the disease by the alternative compounds tested, compared to the control or the synthetic fungicide. The validation of the forecasting models took place taking into consideration some cultivars, coming from the orchards of 'Mazzoni' and 'Acciarri' company. The evaluation of latent infection was carried out on all cultivars, with different results depending on the variety of fruits. Subsequently, with three of these cultivars, 'Lucie', 'Big Top' and 'Honey Royal', the validation of two existing forecasting models, a model of risk of infection of *Monilinia* spp. and other model already validated in Spain, was carried out. The results showed that the forecasting model is useful for preventing the risk of disease and limiting the use of plant protection products. This work highlights that the brown rot control on stone fruits required the application of alternative compounds to fungicide in order to adopt the best strategy both in the field and postharvest. Forecasting models can then be a valuable support in a sustainable management of brown rot.

1 INTRODUZIONE

Le drupacee sono tra i prodotti ortofrutticoli maggiormente prodotti in Europa. Francia, Spagna, Italia e Grecia sono rispettivamente i principali produttori con 2.03, 1.54, 1.2, 0.92 milioni di tonnellate di produzione annua (FAOSTAT, 2021) assumendo un ruolo rilevante nel mercato ortofrutticolo. Questi frutti sono suscettibili all'attacco di agenti patogeni in ogni fase della produzione. Il principale agente patogeno che può provocare gravi danni e perdite è *Monilinia* spp., seguita da altri patogeni tra cui *Rhizopus stolonifer*, *Geotricum candidum*, *Penicillium expansum*, *Alternaria alternata* e *Fusarium* spp.

1.1 MARCIUME BRUNO DELLE DRUPACEE

Il marciume bruno delle drupacee (in inglese *brown rot*) è una delle più importanti e comuni malattie crittogamiche che colpisce sia drupacee che pomacee. La malattia a livello mondiale è particolarmente diffusa nei climi caldi e umidi. Essa, si può sviluppare sia in campo sia in postraccolta e, in condizioni ambientali favorevoli, può causare fino all'80% di perdita della produzione in postraccolta (Larena et al., 2005).

1.2 DISTRIBUZIONE GEOGRAFICA

Le specie di *Monilinia* principalmente coinvolte nel marciume bruno sono distribuite in tutto il mondo in misura differente. In Asia centrale ed orientale, nelle regioni geografiche di origine degli ospiti vegetali principali appartenenti alla famiglia delle *Rosaceae*, generi *Malus* Mill., *Pyrus* L. e *Prunus*, sono presenti tutte le specie fungine appartenenti a questo genere (Abate et al., 2018).

Monilinia fructicola è responsabile del marciume bruno, originariamente localizzata in Nord e Sud America, Giappone, Australia e Nuova Zelanda ed attualmente diffusa in tutto il mondo (Anonymous, 1997). I primi rilevamenti in Europa di *M. fructicola* sono stati su pesco in Francia nel 2001. Da allora, la specie si è diffusa in altri paesi Europei, in particolare in Italia, Polonia, Germania, Spagna e Ungheria (Rungjindamai et al., 2014). In Italia, *M. fructicola* è stata rilevata negli ultimi anni in Piemonte (Pellegrino et al., 2009) ed in seguito è comparsa anche in Emilia-Romagna, Lazio (Martini et al., 2013) e Marche (Landi et al., 2016).

Monilinia fructigena è confinata in Europa ed in parte dell'Asia, è assente in Sud America, Australia e Nuova Zelanda, ed è una specie presente principalmente su pomacee.

Monilinia laxa è presente in tutte le aree di produzione frutticola del mondo (Balaž, 2000). In Europa *M. laxa* e *M. fructigena* erano le uniche specie presenti fino al millennio scorso (Abate et al., 2018). Tra queste *M. laxa* era la specie più diffusa nel vecchio continente rappresentando l'85-90% degli isolati identificati (Di Francesco e Mari, 2018).

Monilinia polystroma, inizialmente descritta in Giappone (Van Leeuwen et al., 2002a), è ora presente in alcune regioni dell'Asia e dell'Europa. In Europa, la presenza di *M. polystroma* è stata segnalata per la prima volta sui piccioli e pedicelli di foglie di melo in Ungheria (Petroczy e Palkovics, 2009), e successivamente su melo e pesco in Repubblica Ceca, su albicocco in Svizzera (Hilber-Bodmer et al., 2012), su melo in Serbia ed in Croazia (Di Francesco et al., 2015; Vasic et al., 2013), su melo, pesco e susino in Polonia (Poniatowska et al., 2013), e su pesco in Italia (Martini et al., 2014).

1.3 AGENTI EZIOLOGICI

Gli agenti del marciume bruno sono funghi del genere *Monilinia*, appartenenti ai *Discomycete*, una suddivisione degli *Ascomycetes*, ordine *Helotiales*, famiglia delle *Sclerotinaceae*. Il genere *Monilinia* comprende diverse specie, di cui le più comuni sono *Monilinia fruticola* (G. Winter) Honey, *Monilinia fructigena* (Pers.) Honey, *Monilinia laxa* (Aderh., Ruhland) e *Monilinia polystroma* (G. Leeuwen) L.M. Kohn. I corpi fruttiferi, apotecii, hanno origine da pseudosclerozi formatasi in frutti mummificati presenti nel terreno o in residui vegetali dove vengono prodotte spore sessuali (ascospore). L'apotecio ha una forma a coppa o a disco e la facciata è rivestita da aschi contenenti otto ascospore unicellulari, intervallate da ife sterili. Le ife sono cenocitiche e settate. In condizione di caldo e umidità, a seconda dell'ospite, il micelio può produrre catene ellittiche di conidi o branche di ife raccolte in ciuffi e questo tipo di disposizione, simile alle perline su un filo, è noto come moniloid, da una parola latina, monile, collana (Byrde e Willetts, 1977). I *Discomycete* possono anche produrre microconidi a catena, i quali sono piriformi e unicellulari. Le specie, anche se difficili da distinguere, hanno ciclo, sintomi e ospiti differenti (Martini e Mari, 2016).

1.3.1 *Monilinia laxa*

Monilinia laxa causa danni su fiori, frutti e rami (Holb, 2006). L'avvizzimento dei fiori è uno dei sintomi caratteristici che si verifica su drupacee, come ciliegio,

susino, pesco, albicocco, e prugno, e su alcune pomacee (Holb, 2008). Tra le specie di drupacee, l'albicocco è il più suscettibile all'avvizzimento (Holb, 2008). Oltre alle perdite in campo, può causare perdite, a volte più consistenti, durante la conservazione e lo stoccaggio (Holb, 2006; Ogawa e English, 1991).

M. laxa allevata *in vitro* su substrato a base di patata (Patato Dextrose Agar) PDA mostra, a 22°C, un tasso di crescita inferiore rispetto agli isolati della specie *M. fructicola*. Le colonie sono marcatamente lobate e hanno una sporulazione scarsa. Nei primi giorni di incubazione, le colonie sono di colore bianco-rosato (Figura 1); dopo 6 giorni cambiano colore e dopo 10 giorni diventano grigio-olivastro (Poniatowska et al., 2013).

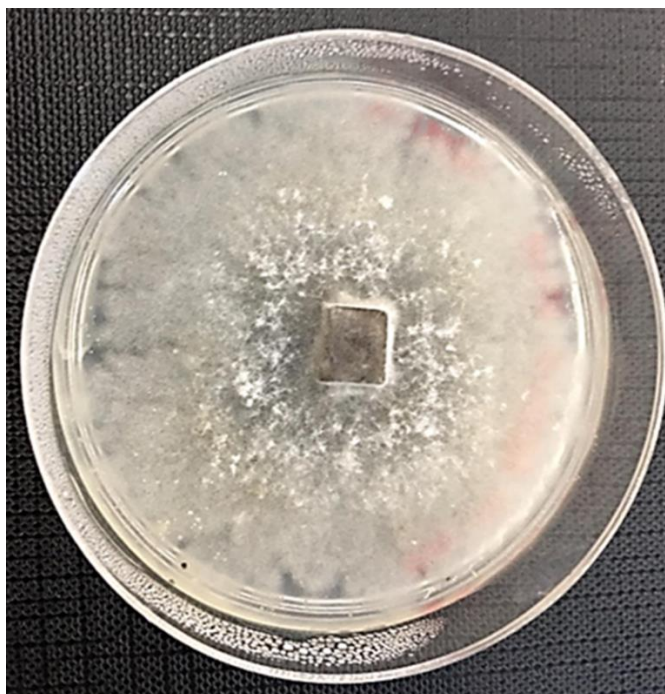


Figura 1 - Isolato di *Monilinia laxa* allevata su PDA a 25°C per 10 giorni.

1.3.2 *Monilinia fructigena*

M. fructigena è la specie del genere *Monilinia* che colpisce principalmente pomacee. Provoca principalmente il marciume dei frutti, prima o durante la conservazione mentre sono rare le infezioni di fiori, rami e ramoscelli (Martini e Mari, 2014). Sebbene le perdite di resa più significative si registrano sulle pomacee, *M. fructigena* può infettare anche le drupacee, tra le quali il susino è il più suscettibile (Byrde e Willetts, 1977).

Allevata *in vitro* su PDA, come osservato per *M. laxa*, *M. fructigena*, cresce circa la metà rispetto a *M. fructicola* ad una temperatura di 22°C. Nei primi giorni di

allevamento, le colonie sono di colore bianco-rosato e dopo 10 giorni risultano di colore biancastro (Poniatowska et al., 2013) (Figura 2).

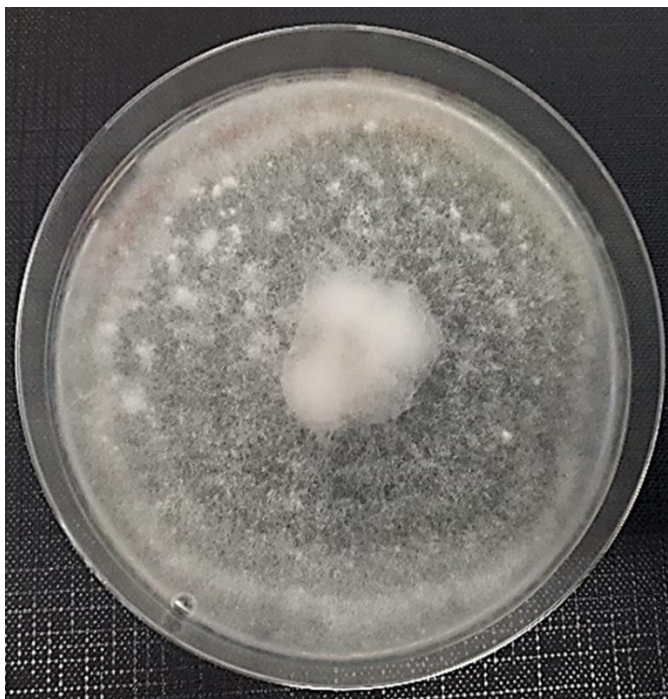


Figura 2 - Isolato di *Monilinia fructigena* allevata su PDA a 25°C per 10 giorni.

1.3.3 *Monilinia fruticola*

M. fruticola è il patogeno più distruttivo rispetto alle altre specie del genere *Monilinia* (De Miccolis Angelini et al., 2019). Essa provoca gravi danni, in particolare su drupacee, in tutte le fasi di produzione. La diffusione di questo patogeno può provocare gravi conseguenze, soprattutto quando si verificano giornate piovose e temperature favorevoli durante la fase di maturazione dei frutti e nel postraccolta (Ogawa e English, 1991; Hong et al., 1997). Perdite significative sono state registrate durante la conservazione in California, spesso superiori al 30% (Hong et al., 1997; Ogawa e English, 1991), o addirittura fino all' 80-90% (Hong et al., 1997; Larena et al., 2005).

Allevata *in vitro* su PDA, *M. fruticola* cresce più velocemente rispetto a di *M. laxa* ad una temperatura di 22°C. Dopo 7 giorni di incubazione, la colonia presenta un'estensione maggiore di diametro (80-85 mm) rispetto alle altre specie (Poniatowska et al., 2013). Il margine della colonia è intero e compatto (Figura 3). Lo stroma è grigio-marrone chiaro e presenta strati irregolari e sclerozi discoidali.



Figura 3 - Isolato di *Monilinia fructicola* allevata su PDA a 25°C per 10 giorni.

1.3.4 *Monilinia polystroma*

M. polystroma è l'ultima specie di *Monilinia* rinvenuta in Europa. Nel 1999 Fulton et al. (1999) hanno dimostrato che gli isolati di *Monilinia* spp. del Giappone differivano nelle loro sequenze genetiche ITS1 e ITS2 dagli isolati europei. *M. polystroma* forma stromi di colore giallastro (Van Leeuwen et al. 2002a). Rispetto a *Monilinia fructigena* i conidi di *Monilinia polystroma* sono leggermente più piccoli (Van Leeuwen et al. 2002a).

Allevata *in vitro* su PDA le colonie di *M. polystroma* ad una temperatura di 22°C presentano una crescita moderata con sporulazione scarsa e un'intensa formazione di placche di stroma nere dopo 10-12 giorni di incubazione (Van Leeuwen et al., 2002a).

1.4 SINTOMATOLOGIA

I sintomi causati da *Monilinia* spp. sono visibili su fiori, foglie, rami e frutti come l'avvizzimento fogliare e fiorale, i cancri sui rami ed il marciume dei frutti. I primi sintomi della malattia si verificano su fiori in primavera (Holb, 2008) (Figura 4). Tutte le parti del fiore possono essere infettate ed i sintomi si manifestano come necrosi su stami, pistilli e sepal. Dopo la penetrazione nel tessuto vegetale, il fungo sporula molto rapidamente e copre il tessuto infetto con masse di conidi grigiastri (Balaž, 2000). I fiori infetti rimangono attaccati ai rami per un periodo di tempo

considerevole, consentendo al patogeno di penetrare attraverso peduncoli di ramoscelli e rami, dove continua la proliferazione provocando macchie marroni ovali o ellittiche incavate e lesioni dovute a cancri ed avvizzimento fogliare (Holb, 2008) (Figura 5). In condizioni umide, si verifica la fuoriuscita di resina (Figura 6) dalle macchie formate sui rami e la sporulazione avviene sulla superficie della corteccia (Holb, 2008). Successivamente, il fungo può infettare i frutti in tutte le fasi dello sviluppo, tuttavia, i frutti acerbi sono molto meno sensibili di quelli in maturazione a causa del diverso contenuto zuccherino e dei diversi meccanismi di difesa. Il danno maggiore può verificarsi quando i frutti completamente formati vengono infettati poco prima della raccolta. Il parassita penetra nei frutti attraverso ferite sull'epidermide ma può anche succedere che l'infezione si verifichi nel punto di contatto tra frutti sani e frutti malati. I primi sintomi si manifestano come piccole macchie circolari marroni. Con lo sviluppo della malattia, la macchia si diffonde ed il fungo invade completamente il frutto. Le macchie marroni si presentano lisce con successiva sporulazione di diverso colore (Figura 7). Quando il marciume bruno invade completamente il frutto, esso comincia ad appassire, a seccare ed avvizzire. Il frutto si indurisce e diventa una mummia che può rimanere attaccata al ramo o cadere (Figura 8). Si può verificare anche la formazione di marciume nero su frutti conservati al buio. A seconda della temperatura, il frutto marcisce entro 7-14 giorni.



Figura 4 – Avvizzimento florale e dei germogli con annesso cancro sul ramo.



Figura 5 – Disseccamento del ramo colpito da *Monilinia* spp.



Figura 6 - Trasudazione di sostanza gommosa causata da *Monilinia* spp. su ramo di pesco.



Figura 7 – Frutti con presenza di muffa causata da *Monilinia* spp.



Figura 8 – Frutti mummificati colpiti da *Monilinia* spp.

1.5 CICLO BIOLOGICO ED EPIDEMIOLOGIA

Il patogeno sverna come micelio su frutti mummificati presenti ancora sull'albero e su cancri rameali o come pseudosclerozi su frutti mummificati presenti nel terreno. Questi focolai diventano una fonte di inoculo primaria. I conidi sono portati dal vento o trasportati sui fiori da acqua piovana o insetti (Van Leeuwen e Van Kesteren, 1998). Il patogeno infetta le parti aeree delle piante ospiti causando l'avvizzimento florale e fogliare o cancri rameali. L'avvizzimento è il primo sintomo che compare in primavera. Il tessuto infettato assume una colorazione marrone scura e il micelio produce conidi nelle parti fiorali che presentano

marciumi o avvizzimenti. Il micelio avanza rapidamente nei piccioli dei fiori ai ramoscelli, dove si forma un cancro bruno scuro che diventa una delle fonti di inoculo secondario. L'infezione dipende dal permanere di condizioni di umidità e di temperatura idonee che favoriscono la crescita del fungo. Successivamente, si sviluppano avvizzimenti fogliari e cancri rameali che diventano, a loro volta, altre fonti di inoculo secondario. Da tutte queste fonti possono pervenire spore che infetteranno i frutti. I conidi possono penetrare i frutti da ferite e lesioni e, in alcuni casi, ottengono anche accesso attraverso gli stomi (EFSA, 2011). Il fungo cresce in un primo momento nelle zone intercellulari, e secerne enzimi che provocano la macerazione e l'imbrunimento dei tessuti infetti e invade il frutto abbastanza rapidamente, producendo sulla zona già attaccata gruppi di nuovi conidi che diventano nuove fonti di inoculo (Figura 9). Con la loro maturazione e l'aumento del contenuto zuccherino, i frutti diventano sempre più suscettibili alle infezioni. Al contrario, i frutti verdi e immaturi sono meno esposti alle infezioni, a meno che non siano lesionati (Mari et al., 2003; Michailides et al., 2000). Diverse ipotesi sono state proposte per spiegare l'associazione tra la diminuzione della suscettibilità a questo fungo e il frutto non maturo tra cui una maggiore resistenza meccanica, una diversa risposta biochimica tra frutti acerbi e maturi e l'abbondanza di sostanze inibitorie nei tessuti nella fase di frutto immaturo. Più recentemente, la suscettibilità della pesca a *M. laxa* è stata caratterizzata in modo più dettagliato monitorandola in tutta la crescita del frutto. Si è riscontrato che, durante il periodo corrispondente alla fase di indurimento del nocciolo, la suscettibilità dei frutti diminuisce drasticamente (Fourie e Holz, 2003; Keske et al., 2011; Mari et al., 2003). In ogni caso, le basi molecolari di questo fenomeno non sono ancora chiare.

Le infezioni che si verificano nel campo possono rimanere quiescenti fino a quando il frutto non raggiunge la maturazione, consentendo al fungo di superare le difese dell'ospite (Emery et al., 2000) e sviluppare la malattia. Queste infezioni sono spesso classificate come "quiescenti" o "latenti". Le infezioni latenti di *Monilinia* spp. sono state documentate per la prima volta nella pesca nel 1971 (Kable, 1971). Le infezioni latenti da *M. fructicola* su pesca sono state successivamente descritte da Schlagbauer e Holz (1989) e da Michailides et al. (2000). Altri autori hanno anche riportato presenza di infezioni latenti su albicocca, prugna, prugna secca e ciliegia (Forsters e Adaskaveg, 2000).

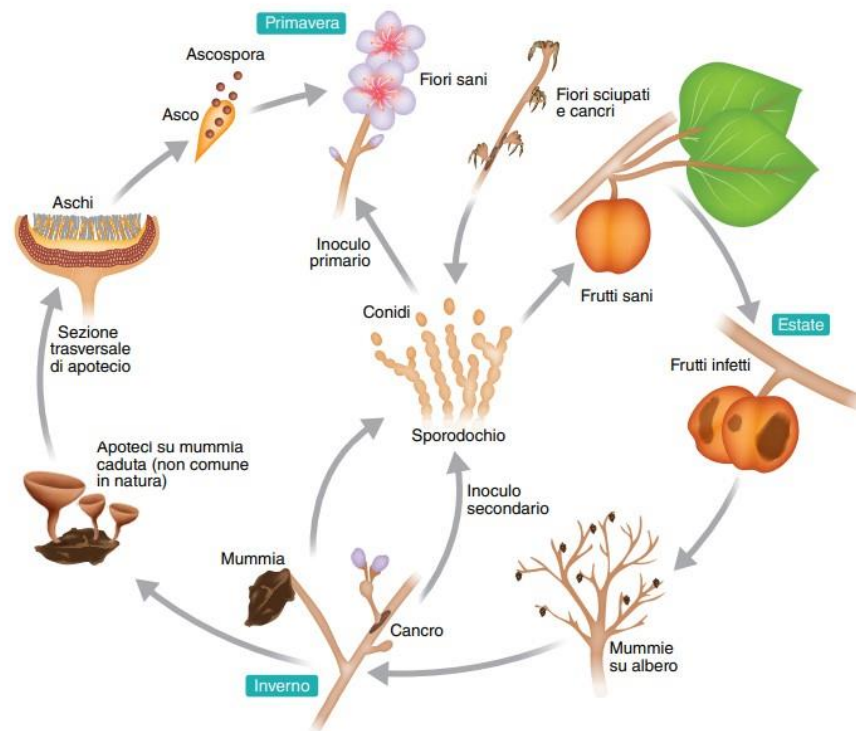


Figura 9 - Ciclo vitale del marciume bruno. (Gerin e Pollastro, 2021).

1.6 FATTORI CHE INFLUENZANO LA MALATTIA

Diversi fattori ambientali ed agronomici influenzano lo sviluppo dei funghi modificando lo sviluppo della malattia e la dinamica dell'epidemia di marciume bruno durante la stagione. Possono verificarsi dei picchi di infezione che possono portare notevoli perdite in termini di resa. Conoscendo questi fattori, sapendo come e quando esercitano la loro influenza e individuando il periodo in cui il rischio di infezione è più alto, è possibile riuscire a controllare la malattia.

1.6.1 Fattori ambientali

Il primo fattore meteorologico che influenza lo sviluppo di *Monilinia* spp. è l'umidità relativa (Villarino et al., 2012). L'elevata umidità e le abbondanti precipitazioni sono i fattori ambientali che favoriscono lo sviluppo del fungo nei frutteti (Gell et al., 2008). Ad umidità relativamente elevate le infezioni dei tessuti legnosi possono diventare severe, ma, in condizioni di bassa umidità le attività del fungo vengono limitate o bloccate.

Il secondo fattore ambientale è la temperatura. L'intervallo di temperatura ottimale per *M. laxa*, *M. fructicola*, *M. fructigena* e *M. polystroma* per la germinazione dei conidi è di 15–30°C. Tutte le specie di *Monilinia* sono anche in

grado di germinare a temperature non ottimali (0 e 35°C) ma, a 38°C e inferiori a 0°C, non riescono a germinare (Casals et al., 2010). Le temperature più adatte per l'iniziazione e la differenziazione degli apotecii sono inferiori a quelle per la crescita e la sporulazione miceliale. La temperatura ottimale per la loro formazione e lo sviluppo è di circa 15°C. Temperature primaverili moderate (da 10°C a 15,5°C) favoriscono lo sviluppo degli apotecii mentre un clima più freddo lo scoraggia (Ogawa e English, 1991). In condizioni di laboratorio, le alte temperature (>25°C) hanno ridotto la vitalità dei conidi, mentre un'elevata umidità relativa (UR) ($\geq 97\%$) ha ridotto il tasso di perdita della vitalità conidiale (Xu et al., 2001). Il patogeno infetta le parti aeree delle piante ospiti in condizioni ottimali di umidità e con temperature comprese tra 20 e 25°C. A queste condizioni, la malattia su pesche mature può essere visibile entro 48-72 ore dall'infezione.

1.6.2 Fattori agronomici

Una delle principali fonti di inoculo della malattia è la presenza di frutti mummificati o altri organi infetti lasciati svernare sugli alberi che aumentano il carico di spore nell'ambiente e quindi diventano fonte primaria di inoculo (Villarino et al., 2010).

La chioma spessa e densa degli alberi può causare un microclima umido all'interno dell'albero con conseguente minor circolazione dell'aria. La penetrazione della luce è limitata privando le parti interne della fonte necessaria per la fotosintesi. Questo crea condizioni favorevoli per lo sviluppo del patogeno.

Un altro fattore che influenza lo sviluppo della malattia è la presenza di insetti in quanto causano ferite sui frutti che possono diventare fonte di ingresso per il patogeno (Hossain et al., 2013).

In ambienti caldi come ad esempio la Spagna, dove le condizioni meteorologiche richiedono un'irrigazione regolare del frutteto, si potrebbe creare un microclima che favorisce la potenziale infezione e sporulazione di *Monilinia* spp. su frutti mummificati durante la stagione vegetativa (Villarino et al., 2010).

1.6.3 Fattori postraccolta

Le drupacee sono caratterizzate da un periodo postraccolta relativamente breve. In generale, il grado di maturità del frutto alla raccolta determina il periodo postraccolta, perché più il frutto è maturo maggiore è la vulnerabilità verso i patogeni e la velocità di decomposizione. Il marciume bruno si verifica di routine

nella fase postraccolta, durante la conservazione e trasporto, e può essere grave rispetto alla fase di preraccolta, raggiungendo valori elevati (59%) (Larena et al., 2005). Un fattore da non sottovalutare è il periodo che intercorre tra la raccolta e l'inizio della conservazione a basse temperature in quanto pesche e nettarine sono molto sensibili all'esposizione alle alte temperature. La gestione di *Monilinia* spp. nei siti di vendita al dettaglio e di consumo, dove la catena del freddo è spesso interrotta, è più critica. Inoltre, un'eccessiva manipolazione o smaltimento non ottimale della frutta nei negozi al dettaglio causa spesso lesioni meccaniche (forature, tagli o contusioni) che creano opportunità di infezione per gli agenti patogeni che si sviluppano dopo l'acquisto (Mari et al., 2009). Le perdite possono essere molto elevate a causa dei costi accumulati per la coltivazione, la raccolta e la conservazione dei frutti e possono essere ridotti mantenendo la resistenza naturale del frutto e ritardando la senescenza (Sanzani et al., 2009). Negli ultimi decenni, l'uso di appropriate tecnologie di conservazione postraccolta, come basse temperature o atmosfera controllata, ha notevolmente ridotto lo sviluppo di malattie, prevenendo la crescita dei funghi posticipando la maturazione dei frutti (Lurie, 2002). La durata della conservazione non deve essere superata, né in condizioni standard né in atmosfera controllata lesioni da freddo che aumentano la suscettibilità dei frutti al marciume bruno. Nonostante l'uso delle pratiche citate, a volte, moderne strutture e tecniche di stoccaggio non sono sufficienti a prevenire le perdite di frutti postraccolta dovute a questo fungo.

1.7 METODI DI LOTTA UTILIZZATI IN PRERACCOLTA E POSTRACCOLTA

Il marciume bruno causa problemi sia in preraccolta che in postraccolta generando numerose problematiche dal punto di vista economico. Fitofarmaci, pratiche colturali, trattamenti fisici, sostanze alternative e nuove strategie possono ridurre o eliminare la possibilità di un'epidemia. Tuttavia, l'uso di alcune di queste pratiche, può avere conseguenze anche negative come lo sviluppo di resistenze. Infine, alcune di esse, sono soggette a normative europee e nazionali sempre più stringenti che limitano il loro utilizzo, preferendo un approccio sempre più "green".

1.7.1 Pratiche colturali

Vari studi hanno dimostrato che le pratiche colturali possono ridurre l'inoculo e fornire condizioni microclimatiche favorevoli per la pianta e sfavorevoli per il patogeno. Pratiche come la selezione del sito di collocamento del frutteto, la densità

d'impianto, il portamento di crescita, la selezione varietale e l'allevamento di varietà meno suscettibili, riducono il rischio di incidenza della malattia (Kišpatić e Maceljčki, 1989). In generale, sarebbe meglio scegliere un terreno inclinato per una migliore ventilazione. Tutte le misure di gestione dovrebbero essere applicate regolarmente nel frutteto per aumentare la vitalità delle piante. Un'adeguata concimazione delle piante può contribuire ad una minore suscettibilità agli attacchi delle specie di *Monilinia* spp. Elmer et al. (2007) hanno dimostrato che l'aumento di calcio contenuto nell'epidermide dei frutti dopo la concimazione rende i frutti meno inclini alle infezioni. Se il trattamento del calcio viene fatto prima della raccolta, l'incidenza del marciume bruno della frutta è significativamente ridotta durante la conservazione. Inoltre, le piante dovrebbero essere sufficientemente e regolarmente annaffiate nella fase di maturazione perché lunghe siccità, seguite da piogge abbondanti e prolungate, possono provocare la rottura dei frutti facilitando la penetrazione dei parassiti attraverso le ferite. La raccolta regolare e la rimozione dei residui vegetali dopo la raccolta possono ridurre significativamente l'incidenza della malattia. La distruzione delle fonti primarie di inoculo è la misura di controllo più importante (Van Leeuwen et al., 2000, 2002b). Frutti mummificati anche a terra come sugli alberi dovrebbero essere raccolti in autunno o all'inizio della primavera (Van Leeuwen et al., 2000, 2002b). Queste misure possono essere molto utili in piccoli frutteti o cortili, tuttavia, tali misure sono difficili da applicare in grandi frutteti dove è possibile fare lavorazioni del terreno per interrare le mummie.

Un'indagine di Borge e Stensvand (2003) ha mostrato che una buona pratica colturale consiste nel coprire i ciliegi durante il periodo piovoso dalla fioritura al raccolto. Infine, in postraccolta, l'uso di scatole pulite, l'esposizione di frutta all'insolazione e la manipolazione accurata dei frutti, possono ridurre al minimo le lesioni durante la raccolta e il trasporto.

1.7.2 Trattamenti con agrofarmaci

I fungicidi furono usati per la prima volta contro il marciume bruno quando furono introdotti i fungicidi di rame a metà degli anni '20 (Holb, 2006). Essi riducevano significativamente il potenziale di infezione del patogeno svernante (Holb, 2005). Oggi il protocollo di protezione dei frutti contro le specie di *Monilinia* consiste in trattamenti preventivi nel periodo invernale con fungicidi a base di rame e su applicazioni di fungicidi in vari periodi fenologici. Poiché la fioritura è una fase critica dell'infezione, i controlli includono, in questa fase, 2-3 trattamenti con

fungicidi e, successivamente, 1-2 trattamenti durante la fase di maturazione della frutta prima della raccolta (Zehr et al., 1999). Spiegel e Stammler (2006) sostengono che durante lo sviluppo e la maturazione dei frutti sono necessari fino a cinque trattamenti, mentre Yoshimura et al. (2004) suggerisce 1-2 trattamenti con fungicidi all'anno in piantagioni di prugne, amarene e 3-4 trattamenti per pesche e nettarine. Sono numerosi i principi attivi registrati nel mondo per contrastare l'infezione di *Monilinia* spp. Oltre 30 principi attivi di diversi gruppi chimici vengono utilizzati in tutto il mondo, tra cui azoxystrobin, bitertanol, captano, diclofluanid, dithianon, fenhexamid, fludioxonil, fluopyram, fluoroimid, imibenconazolo, mepanipirim, oxiconazolo fumarato, propineb, triadimephon, triflumizol, tiram, triforin e ciram (Tomlin, 2009). Per il controllo delle specie di *Monilinia*, più comunemente sono usati i dicarbosimmidi, i benzimidazoli ed i triazoli. Inoltre, sono spesso usati fungicidi protettivi con meccanismi d'azione aspecifici tra cui captano, mancozeb, metiram, propineb, tiram, folpet e clorotalonil (Baker et al., 2011). Fino agli anni '80 i fungicidi più importanti usati per il controllo delle specie di *Monilinia* erano stati i benzimidazoli, e tra questi benomil e tiofanatmetile (Ma et al., 2003). Nell'Unione Europea, il benomil, che era stato utilizzato per il controllo di *Monilinia* spp. per molti anni, è stato escluso dall'allegato 1 della direttiva 91/414/CEE (ora 1107/2009) (EU Pesticide Database, 2012) a causa delle sue proprietà tossicologiche avverse (tossicità per la riproduzione e mutagenicità) e quindi non è più utilizzato per la protezione dei frutti. Dal 1977, quando si è scoperta la resistenza di *Monilinia* spp. ai benzimidazoli, sono entrati in gioco gli inibitori dell'ergosterolo (fungicidi DMI) che sono diventati i fungicidi più efficaci e più diffusi (Schnabel et al., 2004; Zehr et al., 1999). Sono molto efficaci nella prevenzione dell'avvizzimento fiorale e sul marciume dei frutti su specie di drupacee (Schnabel et al., 2004). Nonostante il successo di questi fungicidi per oltre 15 anni, la sensibilità verso di loro si è ridotta. Negli ultimi anni, sono stati registrati nuovi gruppi di fungicidi con differenti modalità di azione come le strobilurine, i carbossammidi, le idrossianilidi e le anilinoipirimidine. Tuttavia, strobilurine, azossistrobin e piraclostrobin sono considerati ad alto rischio tra i fungicidi per lo sviluppo di resistenze (Amiri et al., 2008). Altri esempi di nuovi prodotti con diverse modalità d'azione sono il fenexamid ed il boscalid.

Non è pratica comune l'applicazione di fungicidi in magazzino durante lo stoccaggio (Mari et al., 2007), tuttavia, diversi fungicidi sono stati registrati in alcuni paesi per trattamenti postraccolta, come fludioxonil, fenhexamid,

tebuconazolo, propiconazolo e pirimetanil negli USA (Karabulut et al., 2010; Vico e Jurick, 2012). Il trattamento può ridurre l'inoculo presente sulla superficie del frutto ma non può influenzare il micelio presente all'interno dei frutti. D'altra parte, l'Unione Europea, non consente l'uso di fungicidi dopo la raccolta o negli impianti di stoccaggio (Karabulut e Baykal, 2004) oltre al fludioxonil su drupacee.

1.7.3 Trattamenti fisici

L'uso di metodi fisici per prevenire il marciume bruno nelle drupacee è stato ampiamente studiato. Il calore, le onde radio (RF) e gli UV-C sono solo alcuni dei principali metodi fisici saggiati negli ultimi anni per sostituire i fungicidi sintetici.

Il calore è stato applicato in diversi modi come acqua calda (HW) (Jemirc et al., 2011; Spadoni et al., 2013) e aria calda (Casals et al., 2010) che si è dimostrato controllare efficacemente *Monilinia* spp. su drupacee. La germinazione dei conidi di *M. laxa*, *M. fructicola* e *M. fructigena* è stata completamente inibita con un'immersione in acqua a 55°C per 60 secondi (Casals et al., 2010; Spadoni et al., 2013). *M. fructicola* è risultata più resistente rispetto alle altre due specie (Helmerhorst et al., 2001). Negli studi in vivo, i migliori risultati sono stati ottenuti immergendo la frutta per 20 secondi in acqua a 60°C, con una riduzione del marciume bruno causato da *M. laxa* che andavano dal 51% (Casals et al., 2010) al 94,7% (Spadoni et al. 2013). Trattamenti molto brevi (20–60 secondi) sono ottimali per accelerare la lavorazione della frutta nei centri di confezionamento e migliori per l'applicazione commerciale rispetto ai trattamenti più lunghi (6-12 minuti) riportati da altri autori (Jemric et al., 2011; Liu et al., 2012). Sebbene il trattamento HW richieda attrezzature specializzate, può essere considerato un metodo sostenibile, poiché negli imballaggi industriali il riscaldamento dell'acqua può essere ottenuto da gas refrigeranti (ammoniaca, anidride carbonica, ecc.) provenienti dagli impianti di accumulo. L'uso di aria calda e umida (50°C per 2 ore a 95–99% UR) ha completamente inibito *M. laxa* e *M. fructicola* in quattro varietà di pesca e nettarina (Casals et al., 2010). I trattamenti termici hanno un vantaggio maggiore rispetto ad altri metodi di controllo non convenzionali delle malattie della frutta (come BCA o composti vegetali bioattivi), poiché non richiedono alcuna registrazione da parte di enti pubblici. Al contrario, il processo di registrazione di un biofungicida in Europa è una via più complessa che altrove, in termini di tempo e costi (Ehlers, 2011). Casals et al. (2010) sono stati i primi a studiare il riscaldamento RF per controllare il marciume bruno postraccolta, dimostrando

l'efficacia del trattamento RF per 18 minuti di esposizione per il controllo del marciume bruno nelle pesche. L'efficacia del trattamento è stata migliorata immergendo i frutti in acqua durante il trattamento con RF (Sisquella et al., 2013a).

L'attività di UV-C (raggi UV), saggiata in vitro, ha mostrato un'inibizione della crescita del micelio di *Monilinia* spp. dopo l'esposizione ai raggi UV a onde lunghe (320–380 nm) (De Cal e Melgarejo, 1999).

Infine, è stata valutata anche l'efficacia dell'acqua ozonizzata o elettrolizzata (EO). L'esposizione per 1 minuto in acqua ozonizzata (1,5 mg g⁻¹) ha ridotto significativamente l'incidenza del marciume bruno (Smilanick et al., 2002). È stato utilizzato un trattamento d'immersione in acqua EO per valutare la capacità di prevenire o ritardare l'insorgenza di marciumi di *Monilinia* spp. sui frutti durante il postraccolta, nel packaging e negli ambienti degli scaffali della vendita al dettaglio. I risultati suggeriscono che questa soluzione potrebbe rivelarsi efficace per la sanificazione postraccolta delle superfici dei frutti prima del confezionamento e può aumentare la durata di conservazione della frutta in commercio (Guentzel et al., 2010).

1.8 STRATEGIE INNOVATIVE UTILIZZATE IN PRERACCOLTA E POSTRACCOLTA

Ad oggi il mercato e le direttive UE richiedono un uso sempre più limitato di fungicidi sintetici. Queste richieste sono influenzate dalle preoccupazioni del pubblico sulla contaminazione ambientale e sui rischi per la salute umana associati ai residui chimici nei frutti e dalla perdita di efficacia di questi prodotti sul controllo del patogeno a causa della comparsa di resistenze. Inoltre, i requisiti per un'agricoltura sostenibile, per una gestione integrata delle colture e per una produzione biologica, sono diventati più restrittivi negli ultimi decenni, ed hanno portato alla necessità di sviluppare altri metodi per controllare il marciume bruno (Nunes, 2012).

1.8.1 Uso di sostanze alternative

Psota et al. (2013) hanno dimostrato l'uso efficace di prodotti alternativi nel controllo dell'avvizzimento dei fiori di albicocco. I trattamenti sono stati effettuati utilizzando Algisure (estratto di alghe marine 24%, aminoacidi vegetali 7%, fosfati 20%), Kocide 2000 (53,8% di rame puro), Kumulus WG (80% di zolfo puro), VitiSan (idrogeno di potassio bicarbonato 100%), e Polisenio (calce zolfo, 380 g/l).

La combinazione di Algisure e Kocide 2000 ha mostrato la massima efficacia con 100% di prevenzione delle infezioni.

Prodotti utilizzabili per il controllo del marciume bruno sono gli induttori di resistenza. Tra questi, uno dei più utilizzati è il chitosano (Romanazzi et al., 2018) che si ottiene dalla decomposizione dei gusci di crostacei ricchi di chitina, una molecola simile alla micosina contenuta nelle pareti cellulari dei funghi che stimola le naturali difese immunitarie ed il vigore vegetativo della pianta. L'applicazione del chitosano sulle piante promuove una reazione difensiva endogena. I meccanismi difensivi indotti prevedono una protezione fisica attraverso un ispessimento di tessuti e pareti cellulari per bloccare la penetrazione del patogeno e la sua diffusione; inoltre, prevedono una protezione biochimica mediante la produzione di composti ad azione antifungina ed antibatterica come fitoalessine ed enzimi idrolitici (Landi et al., 2017). L'incidenza del marciume bruno è stata ridotta nel frutto immerso in una soluzione di chitosano allo 0,5% o all'1% a 20°C o 40°C a un grado inferiore del 30%, rispetto alla frutta non trattata (superiore al 72%). Al contrario, la soluzione di chitosano applicata a 50°C ha causato un effetto negativo sulla sua efficacia nel controllare future infezioni da *M. fructicola*, e l'incidenza del marciume bruno aumentava con l'aumento delle concentrazioni di chitosano (Casals et al., 2010). Altri estratti vegetali, come quelli di Brassicacee, hanno portato alla riduzione della malattia. Si è visto come le semplici estrazioni di colza (canola) e senape indiana siano risultate efficaci nel controllare il marciume bruno postraccolta nelle pesche. Quando questi estratti sono combinati con la termoterapia (estratto + termoterapia + estratto) l'efficacia del controllo di marciume bruno postraccolta nelle pesche ha dato risultati migliori (Pazolini et al., 2016).

Altri composti come gli additivi alimentari generalmente riconosciuti come sicuri (GRAS) (come Sali come carbonato di sodio, bicarbonato di sodio, sorbato di potassio e sodio propionato) possono essere utilizzati senza restrizioni per molte applicazioni nelle normative europee e nordamericane. Questi prodotti sono stati testati in numerose prove e sembrano essere strumenti interessanti per gestire il marciume bruno in postraccolta (Gregori et al., 2008; Palou et al., 2012). Oltre alla loro costante attività antimicrobica, sono economici e prontamente disponibili. Tuttavia, i composti come il sorbato di potassio e il benzoato di sodio, che hanno mostrato una buona attività in prove preliminari in letteratura, hanno dimostrato scarsa efficacia e persistenza quando testati contro *M. fructicola* in prove su piccola scala (Palou et al., 2012). Sulle specie di *Monilinia*, un trattamento a base di sorbato

di potassio ha mostrato un buon controllo (oltre l'80% in quattro su cinque prove) su pesche e nettarine naturalmente infette (Gregori et al., 2008). Tuttavia, anche gli additivi GRAS presentare alcuni inconvenienti tra i quali sono fungistatici, poco persistenti e coinvolgono un minimo rischio di danno al frutto e per questi motivi non sono molto usati.

Le sostanze alternative non sono sempre capaci di ridurre i marciumi, specialmente se applicati individualmente: è necessario quindi utilizzarli in combinazione. Ad esempio, la combinazione tra HW ed etanolo è risultata migliore nel controllo di *M. fructicola* su pesche e nettarine rispetto al trattamento con HW ed etanolo singolarmente (Margosan et al., 1997). Allo stesso modo, la combinazione tra acido peracetico e HW (trattamento con acido peracetico riscaldato a 40°C) ha mostrato una maggiore riduzione dei marciumi su pesche inoculate con *M. fructicola*, rispetto al trattamento con HW e acido peracetico applicati singolarmente (Sisquella et al., 2013). L'applicazione del bicarbonato di sodio ha aumentato l'efficacia del lievito antagonista *Cryptococcus laurentii* contro i marciumi su ciliegie.

1.8.2 Agenti di biocontrollo

Il controllo biologico è una strategia alternativa che prevede l'uso di microrganismi antagonisti per il controllo delle malattie fungine, da sole o integrate con trattamenti convenzionali con il fine di ridurre la quantità di sostanze chimiche utilizzate in agricoltura. La fase postraccolta è adatta all'applicazione di agenti biologici (BCA). Lesioni causate durante la raccolta e la manipolazione del frutto possono essere protette con una singola applicazione di BCA direttamente sul sito di infezione, producendo un intimo contatto tra antagonista e patogeno (Wilson e Wisniewski, 1989b). Il primo studio sul controllo biologico di *M. fructicola* nella fase di postraccolta con BCA si è svolto nel 1984 (Pusey e Wilson, 1984), dove sono stati testati due isolati batterici (*Pseudomonas* spp. e *Bacillus* spp.). Gli autori hanno dimostrato la possibilità di controllare *M. fructicola* sulle pesche ed hanno posto le basi per lo sviluppo di una nuova strategia. In questi ultimi 30 anni, risultati interessanti sono stati ottenuti utilizzando una vasta gamma di antagonisti: batteri, lieviti e funghi. All'interno della categoria dei batteri, *Bacillus* spp. rappresenta un candidato promettente per il controllo biologico di *Monilinia* spp. grazie alla sua capacità di produrre un'ampia varietà di composti antimicrobici, tra cui l'iturina e gli antibioti lipopeptidi (Yañez-Mendizibal et al., 2011). Da un recente studio si è

visto che l'antagonista *B. subtilis* CPA-8 ha fornito un'elevata protezione dalle infezioni postraccolta di *M. fructicola* quando i frutti sono stati conservati a 20°C (Casals et al., 2011). Un altro batterio, *Pantoea agglomerans*, saggiato contro le infezioni naturali del marciume bruno, ha mostrato una riduzione dei frutti decomposti di oltre il 50% (Bonaterra et al., 2003).

I trattamenti a base di lieviti sono risultati efficaci nella riduzione delle infezioni di *Monilinia* spp. (Zhang et al., 2010; Mari et al., 2012a). All'interno dei lieviti, ceppi di *Aureobasidium pullulans* sono stati studiati con successo contro molti agenti patogeni postraccolta su diversi ospiti come agrumi (Wilson e Chalutz, 1989a), uva (Scheda et al., 2003), pomacee (Mari et al., 2012b), drupacee (Zhang et al., 2010) e fragole (Adikaram et al., 2002). I ceppi L1 e L8 di *A. pullulans* erano attivi su *Monilinia* spp. a bassa temperatura (0°C) su pesca (Mari et al., 2012a). L'efficacia di questo BCA contro un'ampia gamma di agenti patogeni, su diversi prodotti raccolti, anche a basse concentrazioni, e la sua compatibilità con le condizioni di conservazione lo rendono un buon candidato come antagonista ideale, tuttavia altri criteri come stabilità genetica, facilità di formulazione, capacità di sopravvivenza anche in condizioni ambientali avverse, ecc., devono ancora essere soddisfatte.

Un'applicazione sul campo di *Epicoccum nigrum*, per il controllo postraccolta del marciume bruno delle drupacee, è stato studiato in tre paesi europei. I risultati hanno mostrato che due applicazioni di *E. nigrum* nel frutteto (in fioritura e preraccolta) ha ridotto significativamente il marciume bruno sulle pesche in postraccolta (Larena et al., 2005). Allo stesso modo, un trattamento postraccolta con *E. nigrum* ha ottenuto una significativa riduzione del marciume bruno sulle nectarine sia naturalmente che artificialmente infettati (Mari et al., 2007). Altri agenti di biocontrollo fungino, come *P. frequentans*, hanno ottenuto il controllo sullo sviluppo di *Monilinia* spp. di oltre il 50% (Guijarro et al., 2007). Una specie testata è stata anche *Phaeosphaeria nodorum* che ha prodotto composti volatili inibitori contro *M. fructicola* (Pimenta et al., 2012). È stato anche prodotto un composto volatile (alcol fenilico) da un ceppo di *P. expansum* (R82) che, in prove in vitro, ha inibito completamente la germinazione e la crescita del micelio di *M. laxa* (Rouissi et al., 2013). I biofungicidi sono di difficile e costosa formulazione, infatti solo pochi ad oggi sono commercializzati come 'Bisave' 10 LP e 110 a base di *P. syringae* (ceppo 10 LP e 110) e 'Serenade' a base di *B. subtilis*.

1.8.3 Modelli previsionali

Uno degli ultimi strumenti introdotti per cercare di contrastare il marciume bruno sono i modelli previsionali. I modelli previsionali sono strumenti in grado di leggere ed elaborare i dati ambientali (condizioni metereologiche, caratteristiche ed aspetti specifici delle colture). Si ottengono così, in modo semplice, informazioni quantitative precoci sulle condizioni delle colture per attuare interventi efficaci, efficienti e mirati. Oltre alle previsioni metereologiche, ampiamente diffuse e utilizzate, i modelli previsionali sviluppati ad hoc per il settore agricolo forniscono informazioni utili sul rischio di infestazione da patogeni o fitofagi specifici in ciascun momento del ciclo colturale. Un modello previsionale sviluppato e usato in Spagna è stato suddiviso in base agli stadi fenologici in cui si può sviluppare la malattia ed è basato su un sistema di equazioni differenziali. Il modello è abbastanza semplice per consentire uno studio analitico dei principali fattori epidemiologici che determinano il tasso di progressione della malattia durante una sola stagione di crescita. Il modello prende in conto, suscettibilità dell'ospite, primaria e secondaria, fonti di inoculo e infezioni latenti nei frutti immaturi (Villarino et al., 2022).

2 OBIETTIVI DELLA RICERCA

Le drupacee rappresentano la principale produzione frutticola della Regione Marche. La scarsa conoscenza a disposizione delle aziende frutticole sulla gestione del marciume bruno rappresenta un limite alla produzione causando gravi perdite sia in preraccolta sia in postraccolta, con conseguenti danni economici. Considerando il numero in diminuzione di principi attivi utilizzabili e lo sviluppo sempre crescente di resistenze ai fungicidi risulta chiara l'importanza di sviluppare strategie innovative per il controllo di *Monilinia* spp.

L'obiettivo generale della presente tesi, quindi, è stato quello di contribuire ad incrementare conoscenze utili per migliorare la gestione di questa fitopatìa e di sviluppare strategie innovative per il suo controllo. Con queste finalità, in un primo esperimento, è stata valutata l'efficacia di sostanze alternative e microrganismi antagonisti per il controllo del marciume bruno in postraccolta ed il prolungamento della *shelf life* su pesche e nettarine provenienti dall'azienda 'Acciarri Società Agricola s.r.l' situata in provincia di Fermo. Un'altra ricerca ha riguardato la validazione di modelli previsionali già esistenti per il controllo del marciume bruno e per la razionalizzazione dell'uso di fitofarmaci. I modelli sono stati testati in due aziende della Valdaso, area vocata della regione per la produzione ortofrutticola.

Le attività svolte durante questa seconda ricerca hanno compreso la valutazione delle infezioni latenti, il monitoraggio tramite una stazione meteo collegata ad un modello previsionale di rischio di moniliosi e la validazione di un modello previsionale spagnolo basato sulla fase fenologica del frutto (immaturo, maturo), sulla suscettibilità dell'ospite, sulle fonti di inoculo e sulla presenza di infezioni latenti.

Il lavoro è stato svolto nell'ambito di due progetti: il progetto PRIMA 'StopMedWaste', che prevede di ridurre gli sprechi di frutta fresca, verdure ed erbe aromatiche attraverso l'uso di tecnologie a basso impatto ambientale ed il progetto PSR sulla prevenzione delle malattie postraccolta delle drupacee per la riduzione degli sprechi di ortofrutticoli freschi 'ZeroSprechi'. Questi progetti sono finalizzati a migliorare la salute del consumatore e degli operatori del settore ed a ridurre gli sprechi di prodotti ortofrutticoli freschi, spesso legati a problematiche fitosanitarie.

Gli obiettivi di questo lavoro sono in linea con quelli posti dall'Unione Europea attraverso l'insieme di iniziative strategiche del New Green deal tra cui la strategia Farm to Fork. Le iniziative proposte mirano ad avviare l'UE sulla strada di una transizione verde proponendosi, tra gli obiettivi, la riduzione del 50% dell'uso complessivo di pesticidi, la riduzione del 50% dei pesticidi più pericolosi ed il raggiungimento di almeno il 25% della superficie agricola dell'UE con metodo biologico entro il 2030. Tra le varie strategie proposte, la Farm to Fork rappresenta il piano decennale messo a punto dalla Commissione Europea per guidare la transizione verso un sistema alimentare equo, sano e rispettoso dell'ambiente. L'obiettivo è di rendere i sistemi alimentari europei più sostenibili di quanto lo siano oggi.

3 MATERIALI E METODI

3.1 PROVA SPERIMENTALE 1: VALUTAZIONE DELL'EFFICACIA DI PRODOTTI DI ORIGINE NATURALE E MICRORGANISMI IN POSTRACCOLTA NEL CONTENIMENTO DEL MARCIUME BRUNO

3.1.1 Caratteristiche del frutteto

I frutti utilizzati per questa prova sperimentale provenivano dall'azienda agricola 'Acciarri Società Agricola S.R.L.' situata in località Ortezzano (FM), che opera in regime di agricoltura integrata (Figura 10).

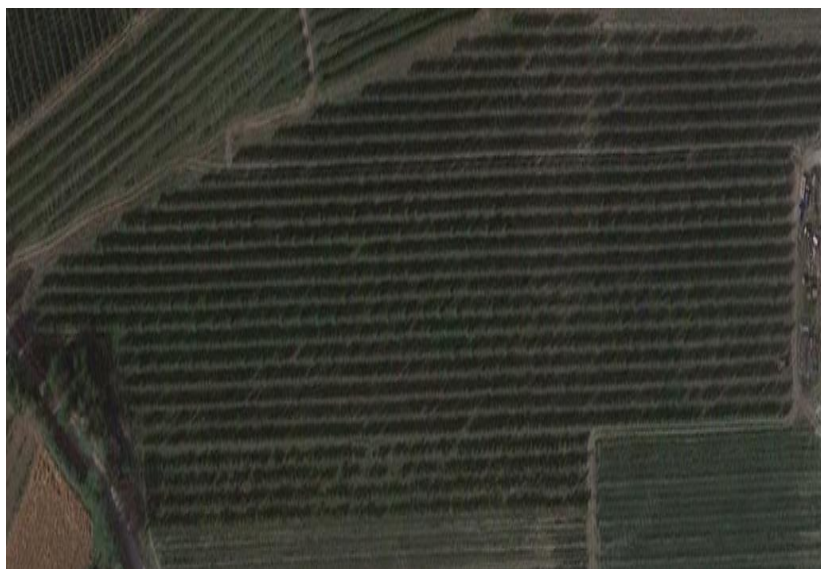


Figura 10 – Pescheto dell’azienda ‘Acciarri’ (FM).

Di seguito sono riportate le caratteristiche stagionali dell’azienda ‘Acciarri’ (Tabella 1).

Tabella 1 – Principali caratteristiche del frutteto ‘Acciarri’.

Ubicazione frutteto	Ortezzano
Provincia	Fermo
Proprietà	Acciarri Società Agricola s.r.l.
Latitudine	43°01’18.45”N
Longitudine	13°36’36.16”E
Altitudine	206 m s.l.m.

3.1.2 Trattamenti in postraccolta

Le sperimentazioni sono state effettuate nel giugno e nel settembre del 2022 in relazione a due cultivar: nettarine cv ‘Carene’ e pesche cv ‘Extreme 486’. Il test ha previsto la valutazione dell’efficacia di dieci prodotti fitosanitari alternativi al fungicida di sintesi nel controllo del marciume bruno rispetto ad un fungicida di sintesi ed a un testimone non trattato. Sono stati prelevati campioni di frutti sani dal frutteto dell’azienda e trasportati presso lo stabilimento di Cesena dell’impresa cooperativa ‘Apofruit’, dove è stata svolta la prova (Figura 11).



Figura 11 – Stabilimento ‘Apofruit’ di Cesena.

I trattamenti effettuati sono riportati in Tabella 2.

Tabella 2 – Formulazioni con relativi principi attivi e dosaggi.

PRODOTTO	PRINCIPIO ATTIVO	DOSI
3Logy	Eugenolo (3,2%), Geraniolo (6,4%), Timolo (6,4%)	400 ml/hl
Chitosano denso	Chitosano cloridrato (50%)	400 gr/hl
Prev-Am	Olio essenziale di arancio dolce (5,88%)	6 l/ha
Ibisco	COS, OGA (12,5%)	1000 ml/hl
Swinglea	Estratto di Swinglea	2 kg/ha
Valesco	Estratto di ortica (15%)	5 ml /l
Serenade Aso	<i>Bacillus subtilis</i> ceppo QST 713	8 l/ha
Amylo-X	<i>Bacillus amyloliquefacens</i> ceppo D747 (25%)	2.5 kg/ha
Taegro	<i>Bacillus amyloliquefacens</i> ceppo FZB24	370 g/ha
Noli	<i>Metschnikowia fructicola</i> NRRL Y-27328	2 g/ha
Scholar	Fludioxonil (20,4%)	300 ml/hl

La prima prova è stata svolta a giugno con frutti della cv ‘Carene’ mentre la seconda a settembre con frutti cv ‘Extreme 486’. Per ogni tesi della Tabella 2 sono

stati trattati 200 frutti divisi in 4 repliche. Per effettuare i trattamenti è stato utilizzato un contenitore di plastica contenente il prodotto da testare (Figura 12 e 13). I campioni di ogni replica sono stati immersi nella vasca contenente il trattamento per 30 secondi e, successivamente, sono stati posti ad asciugare (Figura 14). Una volta asciugati completamente, i campioni sono stati trasferiti in cella refrigerata per la conservazione a circa 2°C per 13 giorni.

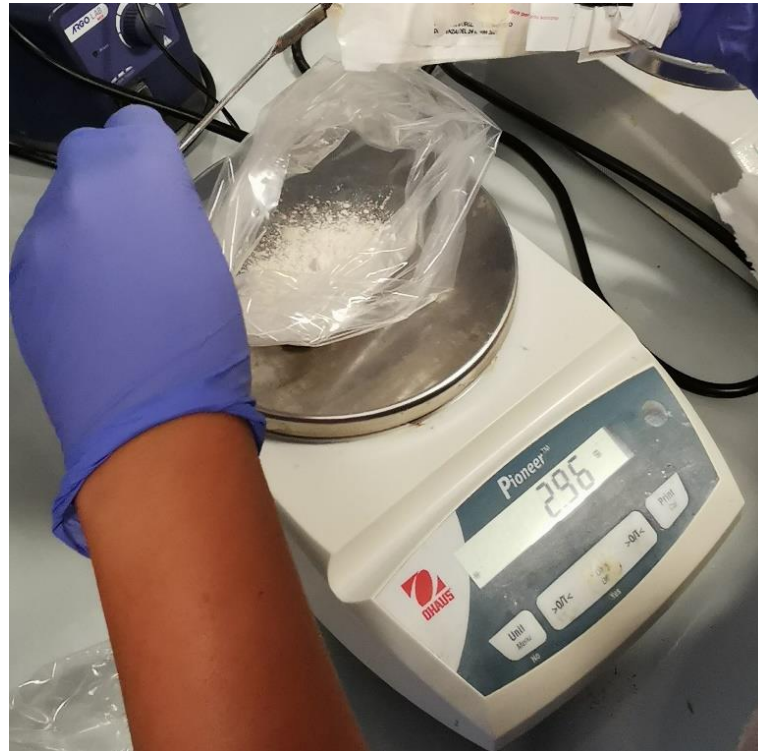


Figura 12 – Preparazione trattamenti in laboratorio.



Figura 13 - Trattamento delle nettarine cv 'Carene' con 'Prev-Am'.



Figura 14 – Nettarine trattate in fase di asciugatura.

Successivamente i frutti sono stati posti in alveolari plastici dentro confezioni di cartone (Figura 15) e disposti in cella termostata a 18-20°C (Figura 16) per 11 giorni per le valutazioni durante la *shelf life*.



Figura 15 – Nettarine disposte in alveolari plastici in cella termostata.



Figura 16 – Nettarine in *shelf life*.

3.1.3 Valutazione delle infezioni latenti

La valutazione delle infezioni latenti è stata effettuata valutando la presenza di *Monilinia* spp. Una volta individuate, le pesche sintomatiche venivano contate e successivamente eliminate. Per tutti i rilievi effettuati è stata calcolata la diffusione (D) per ciascuna tesi presa in analisi. La diffusione (D) esprime la percentuale di frutti infetti sul totale dei frutti presenti nelle cassette per ciascuna tesi. Tale parametro è stato calcolato con la formula:

$$D=n*100/N$$

dove: n: numero di frutti infetti

N: numero totale di frutti esaminati.

I dati così raccolti sono stati elaborati statisticamente calcolando le medie e la deviazione standard per ciascuna tesi considerata e per ciascun rilievo svolto. In seguito, è stata effettuata l'analisi della varianza (ANOVA) per verificare l'influenza dei trattamenti sui valori di diffusione. La significatività è stata valutata con il test di Tukey secondo il livello di probabilità $P < 0,05$.

3.2 PROVA SPERIMENTALE 2: VALIDAZIONE MODELLI SPERIMENTALI

3.2.1 Caratteristiche dei frutteti

I frutti utilizzati in questo studio provenivano dall'azienda 'Mazzoni', situata in Contrada Molino Aso nei pressi di Montedinove (AP) (Figura 17) che opera in regime di agricoltura integrata e dall'azienda 'Acciarri' precedentemente descritta.



Figura 17 – Pescheto dell'azienda 'Mazzoni' (AP).

Di seguito sono riportate le caratteristiche stazionali dell'azienda 'Mazzoni' (Tabella 3).

Tabella 3 – Principali caratteristiche del frutteto 'Mazzoni'.

Ubicazione frutteto	Montedinove
Provincia	Ascoli Piceno
Proprietà	Azienda agricola Mazzoni
Latitudine	42°59'14.3"N
Longitudine	13°33'24.5"E
Altitudine	257 m s.l.m.

3.2.2 Schema sperimentale

La sperimentazione prevedeva la validazione e la comparazione, sul territorio marchigiano, di più modelli previsionali già esistenti per il controllo del marciume bruno. Il primo modello prevedeva la valutazione delle infezioni latenti presenti in campo su frutti immaturi. Queste infezioni, se presenti, sono una fonte di inoculo importante in grado di causare successivamente notevoli perdite in postraccolta.

Il secondo modello preso in considerazione è un modello previsionale di rischio di moniliosi chiamato '*Field climate*' collegato ad una stazione meteo.

Il terzo modello validato è un modello sviluppato da un gruppo di ricerca spagnolo (Villarino et al., 2022) basato sulla fase fenologica del frutto (immaturo, maturo), sulla suscettibilità dell'ospite, sulle fonti di inoculo e sulla presenza di infezioni latenti.

3.2.3 Valutazione infezioni latenti

La valutazione delle infezioni latenti è stata effettuata presso le due aziende precedentemente descritte. La sperimentazione è stata effettuata in Giugno e Luglio del 2022 su varie cultivar descritte nella Tabella 4. Alcune cultivar erano state già trattate in campo secondo i protocolli aziendali con fungicidi di sintesi altre, invece, non avevano subito nessun trattamento.

Tabella 4 - Cultivar utilizzate per la valutazione di infezioni latenti in campo nelle aziende ‘Acciarri’ e ‘Mazzoni’.

CULTIVAR	TIPOLOGIA	TRATTAMENTO IN CAMPO	AZIENDA
Lucie	pesca	non trattate	Mazzoni
Honey Royal	nettarina	non trattate	Mazzoni
Big Top	nettarina	non trattate	Mazzoni
Nectadiva	nettarina	trattamento aziendale	Acciarri
O’ Henry	pesca	trattamento aziendale	Acciarri
Farlise	albicocca	trattamento aziendale	Acciarri
Sweet Lady	nettarina	trattamento aziendale	Acciarri

Per determinare la diffusione dell’infezione latente sui frutti è stata utilizzata la tecnica di incubazione con congelamento notturno (ONFIT) (Luo e Michailides, 2003). È stato effettuato un campionamento e sono stati raccolti frutti immaturi divisi in repliche con numero uguale di campioni. Per ogni campionamento, i frutti sono stati sterilizzati in superficie in una soluzione di cloro (32 ml di ipoclorito di sodio allo 0,525%, 32 ml di alcol etilico al 95% e 0,01 ml di tensioattivo Tween-20, in 2 litri di acqua) per circa 15-20 minuti. Quindi i frutti sono stati lavati 3 volte con acqua sterile e tenuti ad asciugare (Figura 18). Una volta asciugati completamente, sono stati trasferiti in sacchetti di plastica e messi a congelare a -20°C per 24 ore.

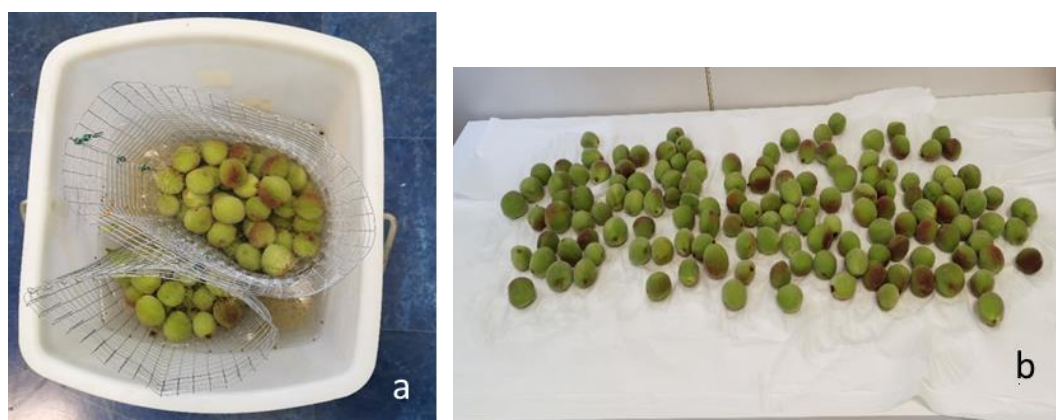


Figura 18 - Procedimento di sterilizzazione (a) ed asciugatura (b).

Successivamente, i campioni sono stati messi ad incubare a 18-20°C in alveolari dentro cassette di plastica precedentemente sterilizzate (Figura 19). Le cassette sono

state chiuse dentro sacchi di plastica neri per creare buone condizioni di umidità e temperatura per lo sviluppo di funghi. I rilievi sono stati effettuati giornalmente per verificare la presenza di *Monilinia* spp. e di altri funghi patogeni. Una volta individuati, i frutti sintomatici venivano contati e successivamente eliminati.



Figura 19 – Frutti incubati a temperatura ambiente per la valutazione delle infezioni.

I dati così raccolti sono stati elaborati statisticamente calcolando le medie e la deviazione standard per ciascuna cultivar considerata, per ciascun rilievo svolto e per ciascun patogeno.

3.2.4 Validazione del modello *Field climate*

Il secondo modello preso in considerazione è un modello previsionale di rischio di moniliosi collegato ad una stazione meteo. Questo modello calcola la percentuale di rischio di infezione basandosi sull'umidità delle foglie, sulla temperatura e sull'umidità relativa (Figura 20 a e b). L'infezione al 100% sul grafico indica le condizioni ottimali affinché il fungo entri nel tessuto vegetale e causi infezioni. In questo caso, devono essere prese in considerazione le misure di protezione delle piante curative. Le informazioni rilevate da questo modello sono state messe in comparazione con i dati ottenuti dagli altri modelli.

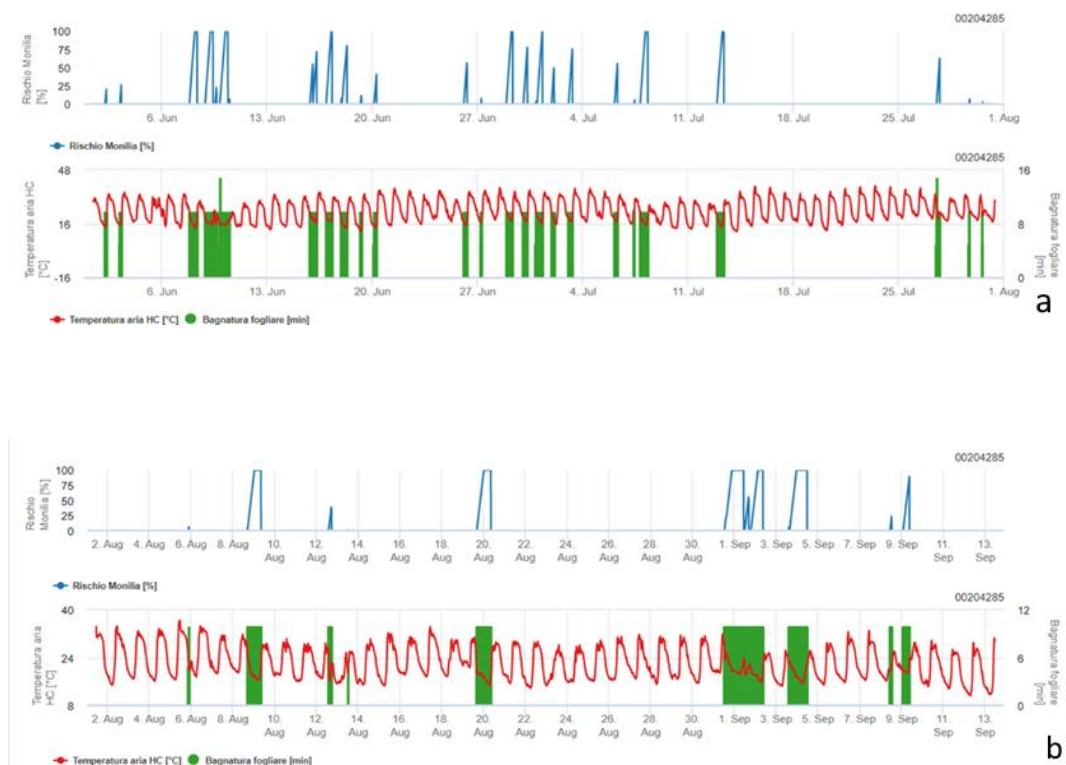


Figura 20 - Rischio di moniliosi indicato dal modello previsionale dal 1° giugno al 31 luglio 2022 (a) e dal 1° agosto al 13 settembre 2022 (b).

3.2.5 Validazione del modello previsionale spagnolo

Il terzo modello preso in considerazione è un modello previsionale già validato in spagna nella Valle dell'Ebro. Questo modello si basa sulla fase fenologica del frutto (fioritura, frutto immaturo e maturo), sulla suscettibilità dell'ospite, sulle fonti di inoculo primario (presenza di mummie o di altri organi svernanti della pianta) e secondaria (fiori e frutti infetti in campo), sulla presenza di infezioni latenti su frutti immaturi e sulle condizioni climatiche.

Questa prova è stata condotta nel frutteto 'Mazzoni' in relazione a tre cultivar: 'Big Top', 'Honey Royal' e 'Lucie'.

Inizialmente è stata valutata la presenza di infezioni latenti già precedentemente descritta per valutare l'inoculo presente sui frutti immaturi.

Dopo questo campionamento, i frutti in campo sono stati trattati una volta con fungicida di sintesi lasciando una porzione non trattata. Nel dettaglio:

- Big Top trattata con fluopyram e tebuconazolo il 27 giugno, 25 giorni prima della raccolta;

- Honey Royal trattata con fluopyram e tebuconazolo il 20 luglio, 33 giorni prima della raccolta;
- Lucie trattata con boscalid e pyraclostrobin il 22 agosto, 23 giorni prima della raccolta;

Successivamente, i frutti sono stati raccolti a maturazione commerciale (in luglio, agosto e settembre rispettivamente). Per ogni prova, sono stati raccolti 600 frutti, 300 di questi trattati in campo e altri 300 non trattati. Di questi, la metà dei frutti per ogni tesi è stata incubata temperatura ambiente (18-20°C) per 4/8 giorni in alveolari dentro cassette di plastica precedentemente sterilizzate. Le cassette sono state chiuse dentro sacchi di plastica neri per creare buone condizioni di umidità e temperatura per lo sviluppo di funghi. I rilievi sono stati effettuati giornalmente per verificare la presenza di *Monilinia* spp. Una volta individuati, i frutti sintomatici venivano contati e successivamente eliminati. I restanti frutti (150 trattati e 150 non trattati) sono state disposti con la medesima modalità e conservati in cella frigo per 7 giorni. Successivamente, è stata valutata la presenza di *Monilinia* spp. in *shelf life*.

I risultati, infine, sono stati correlati con i dati meteo della capannina meteorologica dell'azienda 'Mazzoni' (Figura 21) prendendo in considerazione le temperature max e min (°C) e le precipitazioni (mm) e con le informazioni derivanti dal modello di rischio *Field climate*.

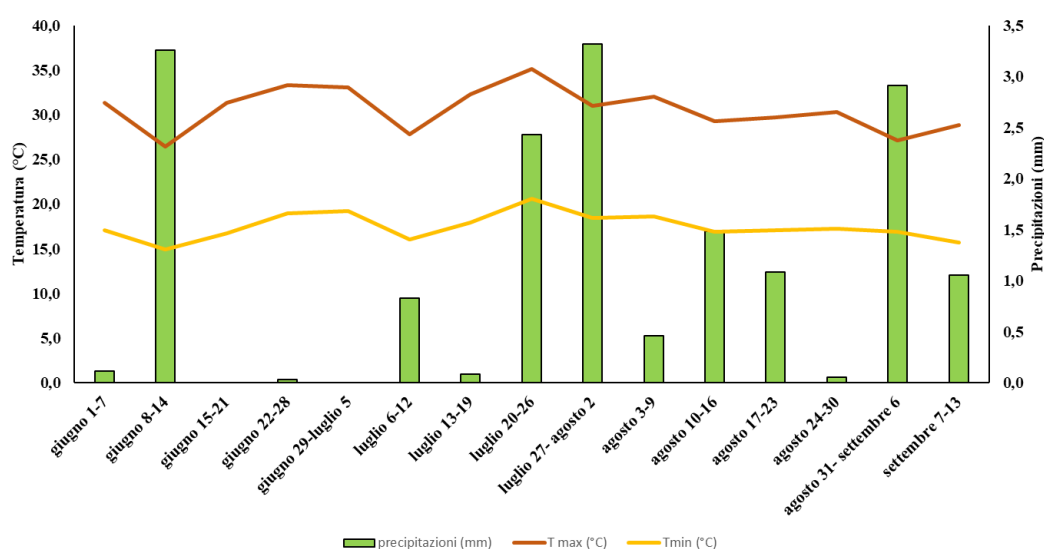


Figura 21 – Dati della capannina meteorologica dell'Azienda 'Mazzoni' divisi per settimana dal 1° giugno al 13 settembre 2022.

3.2.6 Valutazione delle infezioni in postraccolta

Per tutti i rilievi effettuati su frutti maturi in postraccolta è stata calcolata la diffusione (D) per ciascuna tesi presa in analisi. La diffusione (D) esprime la percentuale di frutti infetti sul totale dei frutti presenti nelle cassette per ciascuna tesi. Tale parametro è stato calcolato con la formula:

$$D=n*100/N$$

dove: n: numero di frutti infetti

N: numero totale di frutti esaminati.

I dati così raccolti sono stati elaborati statisticamente calcolando le medie e la deviazione standard per ciascuna tesi considerata e per ciascun rilievo svolto.

In seguito, è stata effettuata l'analisi della varianza (ANOVA) per verificare l'influenza dei trattamenti sui valori di diffusione. La significatività è stata valutata con il test di Tukey secondo il livello di probabilità $P < 0,05$.

4 RISULTATI

4.1 PROVA SPERIMENTALE 1: VALUTAZIONE DELL'EFFICACIA DI PRODOTTI DI ORIGINE NATURALE E MICRORGANISMI IN POSTRACCOLTA NEL CONTENIMENTO DEL MARCIUME BRUNO

4.1.1 Diffusione marciume bruno su pesche e nettarine in postraccolta

Durante i rilievi in postraccolta, per verificare l'efficacia di trattamenti alternativi ai fungicidi, su nettarine cv 'Carene' la diffusione di marciume bruno non è stata significativamente differente tra i diversi trattamenti testati dopo 3, 7 e 10 giorni di *shelf life*. Dopo 3 e 7 giorni non sono state trovate differenze significative tra i composti alternativi testati rispetto al testimone non trattato, mentre le nettarine trattate con fludioxonil non hanno mostrato presenza di malattia. Risultati simili si sono evidenziati nelle nettarine osservate dopo 10 giorni di *shelf life* dove gli altri trattamenti hanno mostrato una diffusione media variabile dal 10,7% per i frutti trattati con *Bacillus subtilis*, al 1,4% per i frutti trattati con chitosano cloridrato (Figura 22).

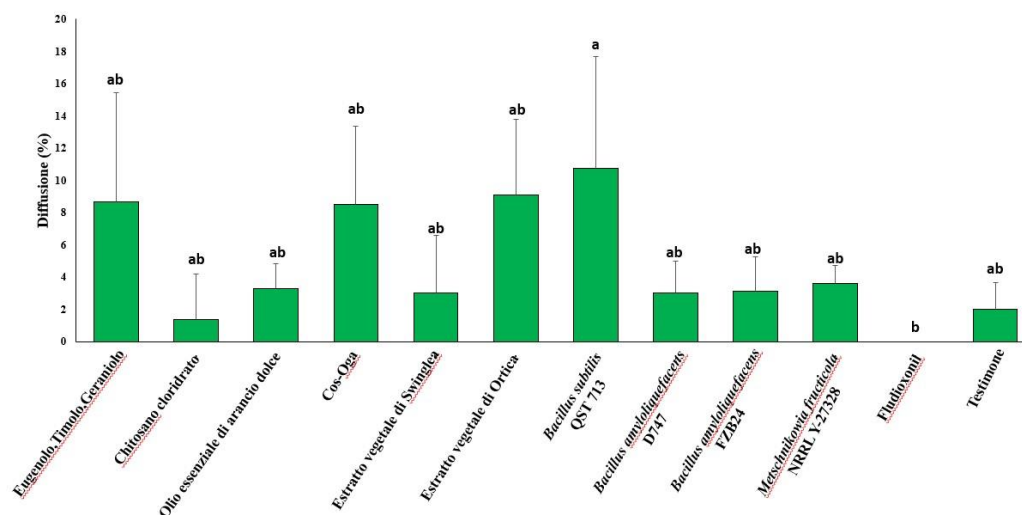


Figura 22 - Diffusione di marciume bruno dopo 10 giorni di *shelf life* osservato su nectarine, cv ‘Carene’ raccolte presso l’azienda ‘Acciari’. Il grafico rappresenta la media + SD di 4 ripetizioni, 50 pesche per ogni ripetizione (n = 4). Lettere differenti sopra alle colonne indicano dati statisticamente differenti (test di intervallo multipli, Tukey $P \leq 0.05$).

Durante i rilievi in postraccolta su pesche cv ‘Extreme 486’, per verificare l’efficacia di trattamenti alternativi ai fungicidi, la diffusione di marciume bruno non è stata differente tra i diversi trattamenti testati. Dopo 5 giorni di *shelf life* tra i composti alternativi testati non sono state trovate differenze significative rispetto al testimone non trattato. Le pesche trattate con fludioxonil non hanno mostrato presenza di malattia. Gli altri trattamenti hanno mostrato una diffusione media variabile dal 40% per le pesche trattate con estratto vegetale di ortica al 23,9% per le pesche trattate con Eugenolo, Geraniolo e Timolo (Figura 23). Risultati simili si sono evidenziati nelle pesche osservate dopo 11 giorni di *shelf life*.

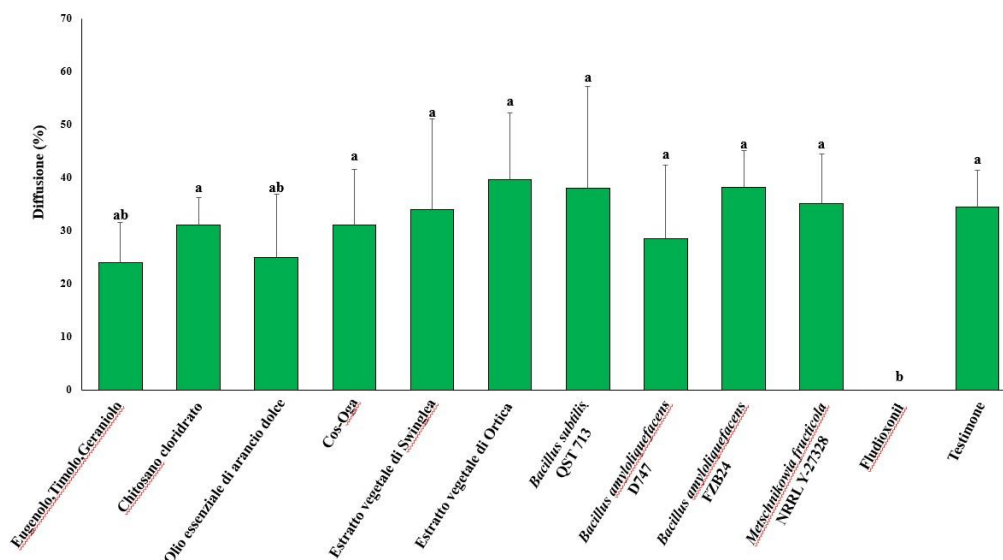


Figura 23 - Diffusione di marciume bruno dopo 5 giorni di *shelf life* osservato su pesche, cv 'Extreme 486' raccolte presso l'azienda 'Acciarri'. Il grafico rappresenta la media + SD di 4 ripetizioni, 50 pesche per ogni ripetizione (n = 4). Lettere differenti sopra alle colonne indicano dati statisticamente differenti (test di intervallo multipli, Tukey $P \leq 0.05$).

4.2 PROVA SPERIMENTALE 2: VALIDAZIONE MODELLI SPERIMENTALI

4.2.1 Monitoraggio infezioni latenti

Dalla valutazione effettuata su campioni di diverse cultivar prelevati dalle aziende 'Acciarri' e 'Mazzoni', per verificare la presenza di infezioni latenti causate da agenti dei marciumi della frutta abbiamo rilevato vari patogeni tra cui *Monilinia* spp., *Cladosporium* spp., *Rhizopus* spp., *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp. ed *Alternaria* spp.

Dall'analisi statistica dei dati raccolti *Rhizopus* spp. è risultato essere il patogeno omogeneamente più presente con una diffusione dal 7,11% al 74,9%. L'analisi ha mostrato una presenza di infezione latente di *Monilinia* spp. diversa tra le cultivar prese in esame. In particolare, la cultivar 'O'Henry' ha mostrato una diffusione della malattia del 9,5%, mentre la cv 'Lucie' del 0,3%. In 'Farlise', una cultivar di albicocca, *Monilinia* spp. era assente. Le restanti cultivar hanno mostrato valori di diffusione di malattia intermedi. Il monitoraggio ha mostrato presenza di infezioni latenti di *Cladosporium* spp. con valori compresi tra l'1,2% per 'Honey Royal' e il 15,3% per 'Farlise'. Alto livello di diffusione di *Aspergillus* spp. è stato rilevato su frutti delle cv 'Big Top' e 'Nectadiva', rispettivamente del 15,2% e 15,5%. Infine, sono stati rilevati valori di diffusione medio/bassa o assenza di malattia di

Alternaria spp. e *Fusarium* spp. Di seguito sono riportati i risultati dei monitoraggi effettuati per la prova sperimentale (Tabella 5).

Tabella 5 – Risultati valutazione infezioni latenti su cultivar provenienti dalle aziende ‘Mazzoni’ e ‘Acciarri’.

Cultivar	Diffusione (%)					
	<i>Monilinia</i> spp.	<i>Cladosporium</i> spp.	<i>Rhizopus</i> spp.	<i>Fusarium</i> spp.	<i>Aspergillus</i> spp.	<i>Alternaria</i> spp.
Lucie	bassa*	media	alta	bassa	bassa	media
Honey	bassa	bassa	media	bassa	bassa	bassa
Royal						
Big top	media	bassa	alta	bassa	alta	bassa
Nectadiva	media	assente	alta	media	alta	bassa
O' Henry	media	bassa	media	media	bassa	bassa
Farlise	assente	alta	alta	bassa	assente	assente
Sweet	bassa	media	alta	assente	assente	assente
Lady						

* malattia assente; bassa:1%-5%; media: 5,1%-10%; alta:>10%.

4.2.2 Validazione di modelli previsionali

La validazione dei modelli previsionali per *Monilinia* spp. è stata svolta presso l'azienda ‘Mazzoni’. ‘Big Top’ è stata la prima cultivar presa in esame. La valutazione delle infezioni latenti su frutti immaturi non trattati ha mostrato un livello di contaminazione da marciume bruno del 5,5%. Successivamente, i frutti sono stati trattati in campo 25 giorni prima della raccolta. I dati meteo della capannina Mazzoni hanno indicato, in questo periodo, una media di 0,03 mm di precipitazioni e temperature max e min rispettivamente di 33,3°C e 19°C. Il modello previsionale *Field climate* indicava una percentuale di rischio di infezione medio bassa nel periodo del trattamento e media nei giorni successivi. Infine, i frutti sono stati raccolti il 22 luglio a maturità commerciale per la valutazione in postraccolta. Non erano presenti frutti con infezione visibile in campo. I risultati ottenuti durante i rilievi effettuati per 8 giorni, non hanno mostrato nessuna differenza significativa tra la tesi trattata e non trattata sia su frutti posti a

temperatura ambiente sia su quelli in *shelf life* dopo 7 giorni di frigo conservazione (Tabella 6).

Tabella 6 – Dati di diffusione di *Monilinia* spp. rilevati durante i rilievi postraccolta su frutti cv ‘Big Top’.

trattamento	giorni a T. ambiente	risultati (%) T. ambiente	giorni di frigoconservazione	giorni di <i>shelf life</i>	risultati (%) <i>shelf life</i>
non trattate	8	1.38±1.89 ^{a*}	7	8	2.98±3.24 ^a
trattate		0.69±1.54 ^a			3.51±3.40 ^a

* Dati con lettere differenti indicano dati statisticamente differenti (test di intervallo multipli, Tukey $P \leq 0.05$).

‘Honey Royal’ è stata la seconda cultivar presa in esame. La valutazione delle infezioni latenti su frutti immaturi non trattati ha mostrato un livello di contaminazione da marciume bruno del 4,8%. Successivamente, i frutti sono stati trattati in campo 33 giorni prima della raccolta. I dati meteo della capannina Mazzoni hanno indicato, in questo periodo, una media di 0,57 mm di precipitazioni e temperature max e min rispettivamente di 33,6°C e 19,2°C. Il modello previsionale *Field climate* indicava assenza di rischio di infezione nel periodo del trattamento ed un rischio basso nei giorni successivi. Successivamente, i frutti sono stati raccolti il 22 agosto a maturità commerciale per la valutazione in postraccolta. Non erano presenti frutti con infezione visibile in campo. I risultati ottenuti durante i rilievi effettuati per 4 giorni, non hanno mostrato nessuna differenza significativa tra la tesi trattata e non trattata su frutti posti a temperatura ambiente. I dati hanno mostrato differenza significativa tra le due tesi nei monitoraggi effettuati per 4 giorni in *shelf life* dopo 7 giorni di frigo conservazione (Tabella 7).

Tabella 7 – Dati di diffusione di *Monilinia* spp. rilevati durante i rilievi postraccolta su frutti cv ‘Honey Royal’.

trattamento	giorni a T. ambiente	risultati (%) T. ambiente	giorni di frigoconservazione	giorni di <i>shelf life</i>	risultati (%) <i>shelf life</i>
Non trattate	4	38.42±19.88 ^{a*}	7	4	79.37±4.23 ^a
Trattate		18.68±15.81 ^a			18.62±7.14 ^b

* Dati con lettere differenti indicano dati statisticamente differenti (test di intervallo multipli, Tukey $P \leq 0.05$).

‘Lucie’ è stata la terza cultivar presa in esame. La valutazione delle infezioni latenti su frutti immaturi non trattati ha mostrato un livello di contaminazione da marciume bruno del 0,3%. Successivamente, i frutti sono stati trattati in campo 23 giorni prima della raccolta. I dati meteo della capannina Mazzoni hanno indicato, in questo periodo, una media di 1,08 mm di precipitazioni e temperature max e min rispettivamente di 29,7°C e 17,1°C. Il modello previsionale *Field climate* non indicava una percentuale di rischio di infezione durante il periodo di trattamento ma un picco di rischio elevato due giorni prima. Successivamente, il modello ha indicato un rischio di infezione elevato durante i primi giorni di settembre. Infine, i frutti sono stati raccolti il 14 settembre a maturità commerciale per la valutazione in postraccolta. I risultati ottenuti durante i rilievi effettuati per 8 giorni, hanno mostrato una diffusione significativamente differente tra la tesi trattata e non trattata su frutti posti a temperatura ambiente. I dati non hanno mostrato valori di diffusione significativamente differenti tra le due tesi nei monitoraggi effettuati per 7 giorni in *shelf life* dopo 7 giorni di frigo conservazione (Tabella 8).

Tabella 8 – Dati di diffusione di *Monilinia* spp. rilevati durante i rilievi postraccolta su frutti cv ‘Lucie’.

Trattamento	giorni a T. ambiente	risultati (%) T. ambiente	giorni di frigoconservazione	giorni di <i>shelf life</i>	risultati (%) <i>shelf life</i>
non trattate	8	35.84±9.34a*	7	7	24.22±9.15a
trattate		18.27±11.59b			14.81±5.06a

* Dati con lettere differenti indicano dati statisticamente differenti (test di intervallo multipli, Tukey $P \leq 0.05$).

5 DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Le perdite postraccolta interessano, a livello mondiale, più della metà della produzione di frutta e ortaggi. Il recupero di una porzione di queste potrebbe contribuire a limitare le crescenti richieste di cibo e gli sprechi di prodotti ortofrutticoli. La limitazione degli sprechi alimentari rappresenta una delle priorità dell’UE, infatti, una delle strategie principali del pacchetto del *New Green Deal* è la *Farm to Fork* che ha, come obiettivo, rendere i sistemi alimentari europei più sani e sostenibili.

Il marciume bruno, causato da *Monilinia* spp., ha importanza a livello mondiale e rappresenta la malattia più dannosa per le drupacee, causando significative perdite di produzione. Non di minore importanza risultano essere i marciumi causati da *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp., *Rhizopus* spp. e dagli altri agenti di marciumi

postraccolta. Infatti, molti di essi si manifestano solo dopo la raccolta, in magazzini e stoccaggi, dove il rischio di una diffusione rapida ed esponenziale è elevata e non è possibile utilizzare agrofarmaci per il loro controllo.

Per contenere le perdite di produzione vengono tuttora utilizzati fungicidi di sintesi che sono la principale strategia di gestione delle malattie in campo. Negli ultimi anni questi prodotti hanno destato molte preoccupazioni nei consumatori che li percepiscono come una minaccia per la salute umana e per l'ecosistema. Allo stesso tempo, l'UE, con la Direttiva 2009/128/CE, ha portato all'applicazione di norme atte a ridurre e razionalizzare l'uso di prodotti di sintesi. Considerando la riduzione del numero di fungicidi e lo sviluppo di resistenze da parte dei patogeni, si è vista l'esigenza di ricercare strategie alternative per una gestione sostenibile dei principali patogeni, in particolare per il marciume bruno. Molte sostanze e strategie di lotta innovative sono già state testate mostrando un'efficacia variabile (Casals et al., 2010; Zhang et al., 2010; Casals et al., 2011; Mari et al., 2012; Villarino et al., 2022). Questo lavoro di tesi, sviluppato nell'ambito dei progetti PRIMA 'StopMedWaste' e PSR 'ZeroSprechi', si è proposto di sviluppare e validare nuove strategie per il controllo del marciume bruno delle drupacee. Strategie basate su composti di base approvate a livello comunitario, quali il chitosano (Rajestary et al., 2021), su microrganismi antagonisti ed estratti vegetali possono rappresentare un valido aiuto per l'agricoltore per il controllo dei patogeni in postraccolta, per una produzione più ecosostenibile e per il prolungamento della *shelf life*. A tal proposito, in una prima prova si è proposto di valutare l'efficacia di una serie di composti alternativi su pesche e nettarine provenienti dall'azienda 'Acciarri', mettendoli a confronto con un fungicida di sintesi, per il controllo di *Monilinia* spp. in postraccolta. I risultati osservati su nettarine cv 'Carene' e su pesche cv 'Extreme 486' non hanno evidenziato significative riduzioni della malattia esercitata dai formulati testati in postraccolta, rispetto al controllo o al fungicida di sintesi. Mediamente la percentuale di frutti infetti individuati durante i rilievi è stata più elevata nella prova effettuata su frutti cv 'Extreme 486'. Questo dato potrebbe essere correlato all'andamento climatico della stagione caratterizzata, in maggio e giugno, da poche precipitazioni e temperature elevate e da maggiori precipitazioni e quindi livello di umidità maggiore in settembre e da una quantità di inoculo iniziale maggiore oltre che da una diversa suscettibilità verso il patogeno. L'applicazione di trattamenti con prodotti alternativi ai fungicidi di sintesi richiede un'attenta valutazione della migliore strategia e dose di applicazione, non potendo

semplicemente sostituire un prodotto chimico di sintesi con uno alternativo. Queste sostanze potrebbero essere utilizzate in combinazione tra loro o con altri mezzi di lotta alternativi (Sisquella et al., 2013). Inoltre, alcune fra le alternative a basso impatto ambientale come il chitosano, non hanno intervallo di sicurezza e limite massimo di residuo; quindi, si potrebbero applicare anche in quantità maggiori e variando la presenza di coformulanti che influenzano l'efficacia delle sostanze attive.

Un aspetto che può contribuire alla gestione differenziale della produzione è rappresentato dalle infezioni latenti. Per controllare le infezioni da marciume bruno in postraccolta, è auspicabile una bassa dose di inoculo al momento della raccolta e questa può avvenire attraverso una buona gestione del frutteto che può prevedere pratiche colturali che non causino stress alla pianta, non creino situazioni di ristagno idrico ed effettuando trattamenti fitosanitari se si sono venute a creare condizioni favorevoli per lo sviluppo del patogeno. A tal proposito, in una seconda prova si è proposta la validazione di modelli previsionali già esistenti nelle aziende 'Mazzoni' ed 'Acciarri' con lo scopo di sviluppare un valido aiuto per il controllo del marciume bruno e per l'ottimizzazione dei prodotti fitosanitari. Per la valutazione delle infezioni latenti è stato messo a punto un monitoraggio di tali infezioni attraverso la metodica ONFIT. I dati riferiti alle infezioni latenti hanno mostrato valori di diffusione diversi dei principali patogeni che colpiscono drupacee. Questo risultato può essere ascrivibile alla diversa varietà di frutto ed alla diversa suscettibilità delle cultivar ai diversi patogeni. Mediamente, la presenza di *Monilinia* spp. non è stata elevata, probabilmente a causa dell'andamento climatico dell'annata, che in primavera è stato secco e quindi non ha favorito le infezioni fiorali. Successivamente, sono stati messi a confronto due modelli previsionali, un modello di rischio di marciume bruno ed uno già validato in Spagna, nella valle dell'Ebro, basato sulla fase fenologica del frutto, sulle fonti di inoculo e sulla presenza di infezioni latenti. I modelli sono stati messi in correlazione con i dati forniti dalla capannina meteorologica dell'azienda 'Mazzoni'. Dai dati raccolti in tre periodi temporali diversi su tre cultivar di pesche e nettarine, 'Big Top', 'Honey Royal' e 'Lucie' si è vista una correlazione tra i vari modelli. A basse precipitazioni ed elevate temperature rilevate dalla capannina meteorologica corrispondevano bassi picchi di rischio di infezione del modello *Field climate*. In questi casi, sulle cultivar 'Big Top' e 'Honey Royal' monitorate in luglio ed agosto, il trattamento con fungicida di sintesi non ha dato risultati di diffusione di *Monilinia* spp.

significativamente differenti rispetto ai frutti non trattati. Nei primi giorni di settembre, le precipitazioni più abbondanti e l'abbassamento delle temperature, hanno fornito condizioni più idonee per la proliferazione del fungo e, in questo caso, sulla cultivar 'Lucie', si è vista l'efficacia del trattamento con il fungicida di sintesi. Il modello *Field climate*, in questo periodo, ha mostrato picchi di rischio più elevati in accordo con i risultati ottenuti. Il trattamento in frigoconservazione ha dato risultati diversi a seconda della cultivar testata. I risultati hanno mostrato come i modelli previsionali siano un valido aiuto nella lotta contro il marciume bruno e per la razionalizzazione e la riduzione dell'uso di prodotti di sintesi. La disponibilità di strategie per l'individuazione delle infezioni latenti quali l'ONFIT e la presenza di tecniche diagnostiche sensibili assieme ai recenti studi che hanno portato a maggiori informazioni sull'epidemiologia della malattia non potranno che fornire ulteriori elementi per una gestione accurata e sostenibile del marciume bruno e delle altre malattie postraccolta delle drupacee, con benefici per i frutticoltori e la riduzione di sprechi di prodotti alimentari, della quale si potrà trarre vantaggio su scala più ampia. Questo lavoro sottolinea l'importanza e la necessità di una più stretta collaborazione tra agricoltori ed enti di ricerca, per poter sviluppare efficaci e specifiche strategie di difesa basate sull'utilizzo di efficienti tecnologie per il controllo ecosostenibile delle malattie e per evitare l'utilizzo e quindi lo spreco di prodotti fitosanitari.

6 BIBLIOGRAFIA

- Abate, D., Pastore, C., Gerin, D., De Miccolis Angelini, R. M., Rotolo, C., Pollastro, S., Faretra, F. (2018). Characterization of *Monilinia* spp. populations on stone fruit in South Italy. *Plant Disease*, 102(9), 1708-1717.
- Adikaram, N. K., Joyce, D. C., Terry, L. A. (2002). Biocontrol activity and induced resistance as a possible mode of action for *Aureobasidium pullulans* against grey mould of strawberry fruit. *Australasian Plant Pathology*, 31(3), 223-229.
- Amiri, A., Scherm, H., Brannen, P. M., Schnabel, G. (2008). Laboratory evaluation of three rapid, agar-based assays to assess fungicide sensitivity in *Monilinia fructicola*. *Plant Disease*, 92(3), 415-420.
- Anonymous (1997). *Monilinia fructicola*. In: Quarantine Pests for Europe, 2nd edn (Eds. Smith IM, McNamara DG, Scott PR, Holderness M), *CAB International*, Wallingford, GB, 530-535.
- Balaž, J. (2000). *Monilinia* spp. kao parazit voćaka. *Biljni Lekar*, 28(2-3), 155-162.
- Bonattera, A., Mari, M., Casalini, L., Montesinos, E. (2003). Biological control of *Monilinia laxa* and *Rhizopus stolonifer* in postharvest of stone fruit by *Pantoea agglomerans* EPS125 and putative mechanisms of antagonism. *International Journal of Food Microbiology*, 84(1), 93-104.
- Børve, J., Stensvand, A. (2003). Use of a plastic rain shield reduces fruit decay and need for fungicides in sweet cherry. *Plant Disease*, 87(5), 523-528.
- Byrde, R. J. W., Willetts, H. J. (2013). The brown rot fungi of fruit: their biology and control. *Elsevier*.
- Cal, A. D., Melgarejo, P. (1999). Effects of long-wave UV light on *Monilinia* growth and identification of species. *Plant Disease*, 83(1), 62-65.
- Casals, C., Teixidó, N., Viñas, I., Silvera, E., Lamarca, N., Usall, J. (2010). Combination of hot water, *Bacillus subtilis* CPA-8 and sodium bicarbonate treatments to control postharvest brown rot on peaches and nectarines. *European Journal of Plant Pathology*, 128(1), 51-63.
- De Miccolis Angelini, R. M., Romanazzi, G., Pollastro, S., Rotolo, C., Faretra, F., Landi, L. (2019). New high-quality draft genome of the brown rot fungal pathogen *Monilinia fructicola*. *Genome Biology and Evolution*, 11(10), 2850-2855.

- Di Francesco, A., Fruk, M., Martini, C., Jemric, T., Mari, M. (2015). First report of Asiatic brown rot (*Monilinia polystroma*) on apple in Croatia. *Plant Disease*, 99(8), 1181.
- Di Francesco, A., Mari, M. (2018). *Monilinia* species of fruit decay: a comparison between biological and epidemiological data. *Italian Journal of Mycology*, 47, 13-23.
- Droby, S., Wisniewski, M., Macarisin, D., Wilson, C. (2009). Twenty years of postharvest biocontrol research: is it time for a new paradigm. *Postharvest Biology and Technology*, 52(2), 137-145.
- Ehlers, R. U. (2011). Regulation of biological control agents and the EU policy support action REBECA. In *Regulation of Biological Control Agents*. Springer, Dordrecht, 3-23.
- Elmer, P. A. G., Spiers, T. M., Wood, P. N. (2007). Effects of pre-harvest foliar calcium sprays on fruit calcium levels and brown rot of peaches. *Crop Protection*, 26(1), 11-18.
- Emery, K. M., Michailides, T. J., Scherm, H. (2000). Incidence of latent infection of immature peach fruit by *Monilinia fructicola* and relationship to brown rot in Georgia. *Plant Disease*, 84(8), 853-857.
- EU Pesticide Database (2009): http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/. Accessed on 11 April 2012.
- European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control (2011). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2009. *EFSA Journal*, 9(3), 2090.
- FAOSTAT (2021). <http://www.fao.org/faostat/es/#home>. Accessed on 2 November 2021.
- Förster, H., Adaskaveg, J. E. (2000). Early brown rot infections in sweet cherry fruit are detected by *Monilinia*-specific DNA primers. *Phytopathology*, 90(2), 171-178.
- Fourie, R. H., Holz, G. (2003). Germination of dry, airborne conidia of *Monilinia laxa* and disease expression on nectarine fruit. *Australasian Plant Pathology*, 32(1), 9-18.
- Fulton, C. E., Van Leeuwen, G. C. M., Brown, A. E. (1999). Genetic variation among and within *Monilinia* species causing brown rot of stone and pome fruits. *European Journal of Plant Pathology*, 105(5), 495-500.

- Gell, I., De Cal, A., Torres, R., Usall, J., Melgarejo, P. (2008). Relationship between the incidence of latent infections caused by *Monilinia* spp. and the incidence of brown rot of peach fruit: factors affecting latent infection. *European Journal of Plant Pathology*, 121(4), 487-498.
- Gell, I., De Cal, A., Torres, R., Usall, J., Melgarejo, P. (2009). Conidial density of *Monilinia* spp. on peach fruit surfaces in relation to the incidences of latent infections and brown rot. *European Journal of Plant Pathology*, 123(4), 415-424.
- Gerin, D., Pollastro, S. (2021). Esempi di malattie: Marciume bruno o moniliosi di drupacee e pomacee. In Vannacci, G. (Cur). *Patologia vegetale*. Edises università, 8, 45-49.
- 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(8), 1626-1631.
- Guentzel, J. L., Lam, K. L., Callan, M. A., Emmons, S. A., Dunham, V. L. (2010). Postharvest management of gray mold and brown rot on surfaces of peaches and grapes using electrolyzed oxidizing water. *International Journal of Food Microbiology*, 143(1-2), 54-60.
- Guijarro, B., Melgarejo, P., Torres, R., Lamarca, N., Usall, J., De Cal, A. (2007). Effects of different biological formulations of *Penicillium frequentans* on brown rot of peaches. *Biological Control*, 42(1), 86-96.
- Helmerhorst, E. J., Troxler, R. F., Oppenheim, F. G. (2001). The human salivary peptide histatin 5 exerts its antifungal activity through the formation of reactive oxygen species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(25), 14637-14642.
- Hilber-Bodmer, M., Knorst, V., Smits, T. H. M., Patocchi, A. (2012). First report of Asian brown rot caused by *Monilinia polystroma* on apricot in Switzerland. *Plant Disease*, 96(1), 146-146.
- Holb, I. J., Schnabel, G. (2005). Effect of fungicide treatments and sanitation practices on brown rot blossom blight incidence, phytotoxicity, and yield for organic sour cherry production. *Plant Disease*, 89(11), 1164-1170.
- Holb, I. J. (2006). Possibilities of brown rot management in organic stone fruit production in Hungary. *International Journal of Horticultural Science*, 12(3), 87-91.

- Holb, I. J. (2008). Brown rot blossom blight of pome and stone fruits: symptom, disease cycle, host resistance, and biological control. *International Journal of Horticultural Science*, 14(3), 15-21.
- Hong, C., Holtz, B. A., Morgan, D. P., Michailides, T. J. (1997). Significance of thinned fruit as a source of the secondary inoculum of *Monilinia fructicola* in California nectarine orchards. *Plant Disease*, 81(5), 519-524.
- Hossain, M. S., Hossain, M. A., Williams, D. G., Chandra, S. (2013). Management of *Carpophilus* spp. beetles (Nitidulidae) in stone fruit orchards by reducing the number of attract-and-kill traps in neighbouring areas. *International Journal of Pest Management*, 59(2), 135-140.
- 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(1), 149-154.
- Kable, P. F. (1971). Significance of Short-term Latent Infections in the Control of Brown Rot in Peach Fruits. *Journal of Phytopathology*, 70(2), 173-176.
- Karabulut, O. A., Baykal, N. (2004). Integrated control of postharvest diseases of peaches with a yeast antagonist, hot water and modified atmosphere packaging. *Crop Protection*, 23(5), 431-435.
- Karabulut, O. A., Smilanick, J. L., Crisosto, C. H., Palou, L. (2010). Control of brown rot of stone fruits by brief heated water immersion treatments. *Crop Protection*, 29(8), 903-906.
- Keske, C., Amorim, L., May-De Mio, L. L. (2011). Peach brown rot incidence related to pathogen infection at different stages of fruit development in an organic peach production system. *Crop Protection*, 30(7), 802-806.
- Kišpatić, J., Maceljški, M. (1989). Zaštita voćaka od bolesti, štetnika i korova. *Znanje*.
- Landi, L., Feliziani, E., Romanazzi, G. (2016). Surveys for *Monilinia* spp. on stone fruit in central-eastern Italy. In *III International Symposium on Postharvest Pathology: Using Science to Increase Food Availability 1144*, 225-230.
- Landi, L., De Miccolis Angelini, R. M., Pollastro, S., Feliziani, E., Faretra, F., Romanazzi, G. (2017). Global transcriptome analysis and identification of differentially expressed genes in strawberry after preharvest application of benzothiadiazole and chitosan. *Frontiers in Plant Science*, 8, 235.

- Larena, I., Torres, R., De Cal, A., Liñán, M., Melgarejo, P., Domenichini, P., Usall, J. (2005). Biological control of postharvest brown rot (*Monilinia* spp.) of peaches by field applications of *Epicoccum nigrum*. *Biological Control*, 32(2), 305-310.
- Liu, J., Sui, Y., Wisniewski, M., Droby, S., Tian, S., Norelli, J., Hershkovitz, V. (2012). Effect of heat treatment on inhibition of *Monilinia fructicola* and induction of disease resistance in peach fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 65, 61-68.
- Luo, Y., Michailides, T. J. (2001). Factors affecting latent infection of prune fruit by *Monilinia fructicola*. *Phytopathology*, 91(9), 864-872.
- Luo, Y., Michailides, T. J. (2001). Risk analysis for latent infection of prune by *Monilinia fructicola* in California. *Phytopathology*, 91(12), 1197-1208.
- Luo, Y., Morgan, D. P., Michailides, T. J. (2001). Risk analysis of brown rot blossom blight of prune caused by *Monilinia fructicola*. *Phytopathology*, 91(8), 759-768.
- Luo, Y., Michailides, T. J. (2003). Threshold conditions that lead latent infection to prune fruit rot caused by *Monilinia fructicola*. *Phytopathology*, 93(1), 102-111.
- Luo, Y., Michailides, T. J., Morgan, D. P., Krueger, W. H., Buchner, R. P. (2005). Inoculum dynamics, fruit infection, and development of brown rot in prune orchards in California. *Phytopathology*, 95(10), 1132-1136.
- Luo, Y., Ma, Z., Reyes, H. C., Morgan, D., Michailides, T. J. (2007). Quantification of airborne spores of *Monilinia fructicola* in stone fruit orchards of California using real-time PCR. *European Journal of Plant Pathology*, 118(2), 145-154.
- Lurie, S. (2002). Temperature management. In: Knee, M. (Ed.), *Fruit Quality and its Biological Basis*. Academic Press, Sheffield, 107–121.
- Ma, Z., Yoshimura, M. A., Michailides, T. J. (2003). Identification and characterization of benzimidazole resistance in *Monilinia fructicola* from stone fruit orchards in California. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(12), 7145-7152.
- Margosan, D. A., Smilanick, J. L., Simmons, G. F., Henson, D. J. (1997). Combination of hot water and ethanol to control postharvest decay of peaches and nectarines. *Plant Disease*, 81(12), 1405-1409.
- Mari, M., Casalini, L., Baraldi, E., Bertolini, P., Pratella, G. C. (2003). Susceptibility of apricot and peach fruit to *Monilinia laxa* during phenological stages. *Postharvest Biology and Technology*, 30(1), 105-109.

- Mari, M., Torres, R., Casalini, L., Lamarca, N., Mandrin, J. F., Lichou, J., Usall, J. (2007). Control of post-harvest brown rot on nectarine by *Epicoccum nigrum* and physico-chemical treatments. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(7), 1271-1277.
- Mari, M., Neri, F., Bertolini, P. (2009). Management of important diseases in Mediterranean high value crops. *Stewart Postharvest Reviews*, 5(2), 1-10.
- Mari, M., Martini, C., Guidarelli, M., Neri, F. (2012a). Postharvest biocontrol of *Monilinia laxa*, *Monilinia fructicola* and *Monilinia fructigena* on stone fruit by two *Aureobasidium pullulans* strains. *Biological Control*, 60(2), 132-140.
- Mari, M., Martini, C., Spadoni, A., Rouissi, W., Bertolini, P. (2012b). Biocontrol of apple postharvest decay by *Aureobasidium pullulans*. *Postharvest Biology and Technology*, 73, 56-62.
- Martini, C., Spadoni, A., Mari, M. (2013). First report of brown rot caused by *Monilinia fructicola* on apple in Italy. *Plant Disease*, 97(5), 689-689.
- Martini, C., Lantos, A., Di Francesco, A., Guidarelli, M., D'Aquino, S., Baraldi, E. (2014). First report of Asiatic brown rot caused by *Monilinia polystroma* on peach in Italy. *Plant Disease*, 98(11), 1585.
- Martini, C., Mari, M. (2014). *Monilinia fructicola*, *Monilinia laxa* (*Monilinia* rot, brown rot). In: Bautista-Baños S (Ed.), *Postharvest Decay*, Academic Press, 233-265.
- Martini, C., Mari M. (2016). *Monilinia fructicola*, *Monilinia laxa* (*Monilinia* Rot, Brown Rot). *CRIOF, DipSA, University of Bologna*, 233-257.
- Michailides, T.J., Morgan, D.P., Felts, D. (2000). Detection and significance of symptomless latent infection of *Monilinia fructicola* in California stone fruits. *Phytopathology*, 90-S53.
- Nunes, C. A. (2012). Biological control of postharvest diseases of fruit. *European Journal of Plant Pathology*, 133(1), 181-196.
- Ogawa, J. M., English, H. (1987). Diseases of temperate zone tree fruit and nut crops. *UCANR Publications*.
- Ogawa J. M., English H. (1991). Diseases of temperate zone tree fruit and nut crops. *University of California, Division of Agriculture and Natural Resources*.
- Palou, L., Smilanick, J. L., Crisosto, C. H. (2012). Evaluation of food additives and low-toxicity compounds as non-polluting means to control the main postharvest diseases of California peaches. *Acta Horticulturae*, 962, 539-548.

- Pazolini, K., dos Santos, I., Giaretta, R. D., Marcondes, M. M., Reiner, D. A., Citadin, I. (2016). The use of brassica extracts and thermotherapy for the postharvest control of brown rot in peach. *Scientia Horticulturae*, 209, 41-46.
- Pellegrino, C., Gullino, M. L., Garibaldi, A., Spadaro, D. (2009). First report of brown rot of stone fruit caused by *Monilinia fructicola* in Italy. *Plant Disease*, 93(6), 668-668.
- Petróczy, M., Palkovics, L. (2009). First report of *Monilia polystroma* on apple in Hungary. *European Journal of Plant Pathology*, 125(2), 343-347.
- Pimenta, R. S., Moreira da Silva, J. F., Buyer, J. S., Janisiewicz, W. J. (2012). Endophytic fungi from plums (*Prunus domestica*) and their antifungal activity against *Monilinia fructicola*. *Journal of Food Protection*, 75(10), 1883-1889.
- Poniatowska, A., Michalecka, M., Bielenin, A. (2013). Characteristic of *Monilinia* spp. fungi causing brown rot of pome and stone fruits in Poland. *European Journal of Plant Pathology*, 135(4), 855-865.
- Psota, V., Bagar, M., Ackermann, P., Veselovský, M. (2013). Control of brown rot blossom blight (*Monilinia laxa*) on apricot in organic agriculture. *IOBC-WPRS Bulletin*, 91, 357-360.
- Pusey, P. L., Wilson, C. (1984). Postharvest biological control of stone fruit brown rot by *Bacillus subtilis*. *Plant Disease*, 68(9), 753-756.
- Rajestary, R., Landi, L., Romanazzi, G. (2021). Chitosan and postharvest decay of fresh fruit: meta-analysis of disease control and antimicrobial and eliciting activities. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20, 563–582.
- Romanazzi, G., Feliziani, E., Sivakumar, D. (2018). Chitosan, a biopolymer with triple action on postharvest decay of fruit and vegetables: Eliciting, antimicrobial and film-forming properties. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2745.
- Rouissi, W., Ugolini, L., Martini, C., Lazzeri, L., Mari, M. (2013). Control of postharvest fungal pathogens by antifungal compounds from *Penicillium expansum*. *Journal of Food Protection*, 76(11), 1879-1886.
- Rungjindamai, N., Jeffries, P., Xu, X. M. (2014). Epidemiology and management of brown rot on stone fruit caused by *Monilinia laxa*. *European Journal of Plant Pathology*, 140(1), 1-17.
- Sanzani, S. M., Nigro, F., Mari, M., Ippolito, A. (2009). Innovations in the control of postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. *Arab Journal of Plant Protection*, 27(2), 240-244.

- Schena, L., Nigro, F., Pentimone, I., Ligorio, A., Ippolito, A. (2003). Control of postharvest rots of sweet cherries and table grapes with endophytic isolates of *Aureobasidium pullulans*. *Postharvest Biology and Technology*, 30(3), 209-220.
- Schlagbauer, HE and Holz, G. (1989). Occurrence of latent *Monilinia laxa* infections on plums, peaches and apricots. *Phytophylactica*, 21(1), 35-38.
- Schnabel, G., Bryson, P. K., Bridges, W. C., Brannen, P. M. (2004). Reduced sensitivity in *Monilinia fructicola* to propiconazole in Georgia and implications for disease management. *Plant Disease*, 88(9), 1000-1004.
- Sharma, R. R., Singh, D., Singh, R. (2009). Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: A review. *Biological Control*, 50(3), 205-221.
- Sisquella, M., Casals, C., Picouet, P., Vinas, I., Torres, R., Usall, J. (2013). Immersion of fruit in water to improve radio frequency treatment to control brown rot in stone fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 80, 31-36.
- Sisquella, M., Casals, C., Vinas, I., Teixidó, N., Usall, J. (2013). Combination of peracetic acid and hot water treatment to control postharvest brown rot on peaches and nectarines. *Postharvest Biology and Technology*, 83, 1-8.
- Smilanick, J. L., Margosan, D. M., Mlikota Gabler, F. (2002). Impact of ozonated water on the quality and *shelf-life* of fresh citrus fruit, stone fruit, and table grapes. *Ozone: Science Engineering*, 24(5), 343-356.
- Spadoni, A., Neri, F., Bertolini, P., Mari, M. (2013). Control of *Monilinia* rots on fruit naturally infected by hot water treatment in commercial trials. *Postharvest Biology and Technology*, 86, 280-284.
- Spiegel, J., Stammler, G. (2006). Baseline sensitivity of *Monilinia laxa* and *M. fructigena* to pyraclostrobin and boscalid. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 113(5), 199-206.
- Tomlin, C. D. (2009). The pesticide manual: a world compendium. *British Crop Production Council*.
- Van Leeuwen, G. C. M., Van Kesteren, H. A. (1998). Delineation of the three brown rot fungi of fruit crops (*Monilinia* spp.) on the basis of quantitative characteristics. *Canadian Journal of Botany*, 76(12), 2042-2050.
- Van Leeuwen, G. C. M., Stein, A., Holb, I., Jeger, M. J. (2000). Yield loss in apple caused by *Monilinia fructigena* (Aderh, Ruhl.) Honey, and spatio-temporal dynamics of disease development. *European Journal of Plant Pathology*, 106(6), 519-528.

- Van Leeuwen, G. C., Baayen, R. P., Jeger, M. J. (2002a). Distinction of the Asiatic brown rot fungus *Monilia polystroma* sp. nov. from *M. fructigena*. *Mycological Research*, 106(4), 444-451.
- Van Leeuwen, G. C. M., Holb, I. J., Jeger, M. J. (2002b). Factors affecting mummification and sporulation of pome fruit infected by *Monilinia fructigena* in Dutch orchards. *Plant Pathology*, 51(6), 787-793.
- Vasić, M., Duduk, N., Ivanović, M. S. (2013). First report of brown rot caused by *Monilia polystroma* on apple in Serbia. *Plant Disease*, 97(1), 145-145.
- Vico, I., Jurick, W. M. (2012). Postžetvena patologija biljaka i biljnih proizvoda. *Univerzitet u Beogradu-Poljoprivredni Fakultet*.
- Villarino, M., Melgarejo, P., Usall, J., Segarra, J., De Cal, A. (2010). Primary inoculum sources of *Monilinia* spp. in Spanish peach orchards and their relative importance in brown rot. *Plant Disease*, 94(8), 1048-1054.
- Villarino, M., Melgarejo, P., Usall, J., Segarra, J., Lamarca, N., De Cal, A. (2012). Secondary inoculum dynamics of *Monilinia* spp. and relationship to the incidence of postharvest brown rot in peaches and the weather conditions during the growing season. *European Journal of Plant Pathology*, 133(3), 585-598.
- Villarino, M., Usall, J., Casals, C., Lamarca, N., Melgarejo, P., De Cal, A., Segarra, J. (2022). Development of brown rot epidemics in Spanish peach orchards. *European Journal of Plant Pathology*, 1-15.
- Willetts, H. J., Byrde, R. J. W., Fielding, A. H., Wong, A. L. (1977). The taxonomy of the brown rot fungi (*Monilinia* spp.) related to their extracellular cell wall-degrading enzymes. *Microbiology*, 103(1), 77-83.
- Willetts, H. J., Harada, Y. (1984). A review of apothecial production by *Monilinia* fungi in Japan. *Mycologia*, 76(2), 314-325.
- Wilson, C. L., Chalutz, E. (1989a). Postharvest biological control of *Penicillium* rots of citrus with antagonistic yeasts and bacteria. *Scientia Horticulturae*, 40(2), 105-112.
- Wilson, C. L., Wisniewski, M. E. (1989b). Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables: an emerging technology. *Annual Review of Phytopathology*, 27(1), 425-441.
- Wilson, E.E. and Ogawa, J.M. (2009). Fungal, bacterial and certain non-parasitic diseases of fruit and nut crops in California. *Californian Agricultural Science Publications*, Berkeley, California.

- Xu, X. M., Guerin, L., Robinson, J. D. (2001). Effects of temperature and relative humidity on conidial germination and viability, colonization and sporulation of *Monilinia fructigena*. *Plant Pathology*, 50(5), 561-568.
- Yáñez-Mendizábal, V., Usall, J., Viñas, I., Casals, C., Marín, S., Solsona, C., Teixidó, N. (2011). Potential of a new strain of *Bacillus subtilis* CPA-8 to control the major postharvest diseases of fruit. *Biocontrol Science and Technology*, 21(4), 409-426.
- Yoshimura, M. A., Luo, Y., Ma, Z., Michailides, T. J. (2004). Sensitivity of *Monilinia fructicola* from stone fruit to thiophanate-methyl, iprodione, and tebuconazole. *Plant Disease*, 88(4), 373-378.
- Zehr, E. I., Luszcz, L. A., Olien, W. C., Newall, W. C., Toler, J. E. (1999). Reduced sensitivity in *Monilinia fructicola* to propiconazole following prolonged exposure in peach orchards. *Plant Disease*, 83(10), 913-916.
- Zhang, D., Spadaro, D., Garibaldi, A., Gullino, M. L. (2010). Selection and evaluation of new antagonists for their efficacy against postharvest brown rot of peaches. *Postharvest Biology and Technology*, 55(3), 174-181.

RINGRAZIAMENTI

Sono stati due anni impegnativi, intensi e difficili soprattutto affrontati durante una pandemia mondiale.

Questo percorso è stato reso meno difficoltoso da tutte le persone che mi sono state sempre accanto e che mi hanno sostenuto.

I miei ringraziamenti vanno a tutto il corpo docente che mi ha accompagnato in questa “avventura” e soprattutto vanno al mio relatore il prof. Gianfranco Romanazzi che mi ha saputo guidare e consigliare.

Un ringraziamento speciale va alla mia correlatrice la dott.ssa Annamaria Lucrezia D’Ortenzio per la sua disponibilità e pazienza nel seguirmi.

Grazie a mamma, papà e Alessio che mi hanno sempre sostenuto in ogni mia scelta.

Grazie ai miei amici Matias, Gabriele, Alkis, Maria e Matteo che siete stati sempre fonte di dialogo e consiglio.

Infine, grazie a tutti miei compagni di corso con cui ho affrontato gli anni di magistrale.