



Foto di ITU Pictures

Virtual Meetings SIROE 2020



La Società Italiana per la Ricerca sugli Oli Essenziali (S.I.R.O.E.) ha organizzato nei giorni 25 settembre e 20 novembre 2020, due convegni che, data la particolarità del momento, si sono svolti in modalità on-line (webinar).

Il primo, dal titolo **“Oli essenziali ad attività antivirale per applicazioni in medicina umana”**, (rivolto ai soci S.I.R.O.E.) si è posto come obiettivo quello di approfondire le conoscenze e quindi le potenzialità biologiche di questi preziosi prodotti delle piante in campo medico, in particolare nel settore virologico. Gli oli essenziali sono parte integrante della fitoterapia, come dimostrato dall'efficacia di trattamenti complementari in malattie dermatologiche, uro-ginecologiche, gastro-intestinali, respiratorie, ecc. In questo webinar si è voluto quindi dare una risposta ad una precisa domanda: *Quale ruolo possono svolgere gli oli essenziali nel settore prettamente virologico?*

Il secondo webinar, dal titolo **“Oli essenziali in Fitopatologia, Microbiologia Alimentare e Medicina Veterinaria”** ha visto coinvolto un pubblico molto più vasto, composto da giovani (soprattutto studenti di diverse università), professionisti, agronomi, addetti ai lavori, ricercatori, ecc. Si sono infatti trattati alcuni dei possibili impieghi degli oli essenziali, ed anche degli idrolati, in diversi settori. Si è iniziato da quello della ‘difesa’ in ambito agronomico, quindi lotta alle avversità delle piante, per passare all’ambito veterinario, per continuare con la conservazione degli alimenti con lo scopo di andare incontro alle ben motivate preoccupazioni dei consumatori (ma anche delle industrie) nei confronti dei conservanti sintetici.

La Ricerca scientifica, quindi, non si ferma, e questi due *virtual meetings* lo dimostrano, così come la notevole partecipazione del pubblico registrata in entrambi gli eventi denota la grande fiducia e speranza riposta negli oli essenziali in quegli ambiti applicativi che riguardano la salute pubblica e la salvaguardia dell’ambiente. Di seguito si riportano, in maniera sintetica, i contenuti delle singole relazioni.

Website: www.siroe.it



NUOVE STRATEGIE PER LA LOTTA AL VIRUS DI ORIGINE UMANA E ANIMALE, NELL'AMBITO DELLE SOSTANZE NATURALI, TRA CUI GLI OLI ESSENZIALI

M. De Angelis¹, P. Checconi², D. Limongi², AT. Palamara^{1,2},
L. Nencioni¹

¹Dipartimento di Sanità Pubblica e Malattie Infettive, Sapienza Università di Roma, Roma, Italia

²Dipartimento di Scienze Umane e Promozione della Qualità di Vita, IRCCS San Raffaele Roma Università Telematica, Roma, Italia
e.mail: marta.deangelis@uniroma1.it; paola.checconi@uniroma5.it; dolores.limongi@uniroma5.it; annateresa.palamara@uniroma1.it; lucia.nencioni@uniroma1.it

La recente pandemia da coronavirus (SARS-CoV2), così come le frequenti epidemie stagionali da virus influenzale, sottolineano la problematica della emergenza e ri-emergenza dei virus respiratori, per i quali la ricerca di nuovi farmaci efficaci è ancora oggetto di studio.

In particolare, questi virus, possedendo un genoma a RNA, sono soggetti a continue mutazioni e i farmaci in commercio, soprattutto contro il virus influenzale, risultano inefficaci verso i ceppi di virus attualmente circolanti. Sono note, infatti, tre famiglie di farmaci che agiscono a livello dello scapsidamento virale (impediscono alla proteina di matrice M2 di funzionare da canale ionico), nella fase di uscita delle particelle neoformate dalla cellula infettata (bloccano l'attività sialidasi della glicoproteina di superficie neuraminidasi) e nella fase di trascrizione del genoma (bloccano la polimerasi virale). Questi ultimi sono stati sviluppati più recentemente e introdotti in commercio in Giappone e Stati Uniti, ma sono stati riportati già diversi casi di farmaco-resistenza. Inoltre, la loro efficacia è limitata a causa della tossicità e della breve finestra d'azione terapeutica.

Gli studi si sono quindi rivolti all'identificazione e caratterizzazione di nuovi target terapeutici comprendenti sia specifiche proteine strutturali o enzimi dei virus, sia proteine cellulari utilizzate dai virus per svolgere il proprio ciclo replicativo. Per quanto riguarda il SARS-CoV2, poiché non esistono farmaci noti, i target studiati sono la proteina di superficie Spike, che il virus usa per legare il recettore cellulare o la RNA polimerasi virale necessaria per la trascrizione del genoma. Ci sono poi degli studi mirati a bloccare il recettore cellulare, ACE2 (*Angiotensin Converting Enzyme 2*), per impedire il legame della Spike virale con la cellula ospite. Per il virus influenzale, recentemente la ricerca si è rivolta anche alla valutazione dell'efficacia di molecole di sintesi o naturali capaci di bloccare alcune fasi del ciclo replicativo virale, agendo direttamente su enzimi della cellula infettata deputati alla fosforilazione e attivazione di vie cellulari, enzimi necessari per il *fold*ing proteico, proteine coinvolte nei processi di morte o sopravvivenza cellulare.

Fra le molecole naturali, il nostro gruppo di ricerca ha dimostrato l'efficacia del Resveratrolo (un polifenolo presente nella buccia dell'uva rossa) e di suoi analoghi, nell'inibire l'attivazione di chinasi cellulari coinvolte nel traffico nucleo-citoplasma della nucleoproteina

del virus influenzale. Più recentemente abbiamo valutato l'efficacia di un estratto idroalcolico di luppolo contro diversi ceppi di virus influenzali. Nell'ambito delle sostanze naturali, anche gli oli essenziali si sono dimostrati efficaci su modelli *in vitro* d'infezione da virus influenzale. È stata, infatti, riportata l'attività antivirale di *Melaleuca alternifolia* (*tea tree oil*), che sembra agire nella fase di scapsidamento virale. Inoltre, in modelli murini, gli oli essenziali sono stati in grado di ridurre le citochine pro-infiammatorie e il danno polmonare indotto dal virus influenzale. Infine, studi di docking molecolare hanno proposto gli oli essenziali nel trattamento dell'infezione da SARS-CoV2.

In conclusione, nonostante il trattamento delle infezioni da virus respiratori, quali il coronavirus o il virus influenzale, rimanga un grave problema di sanità pubblica, gli sforzi della ricerca si sono rivolti anche verso la valutazione di molecole naturali, compresi gli oli essenziali, da usare in combinazione con i farmaci noti o come immunomodulanti. Gli studi finora condotti sembrano promettenti ma sicuramente occorrerà approfondire i loro meccanismi d'azione e valutare la loro potenziale efficacia nei modelli *in vivo*.

Parole chiave. Oli essenziali, SARS-CoV2, Tea tree oil

MODELLI MATEMATICI PER SELEZIONARE OLI ESSENZIALI A BASSA TOSSICITÀ ED ELEVATA ATTIVITÀ ANTIVIRALE NEI CONFRONTI DI HSV

R. Ragno

Dipartimento di Chimica e Tecnologie del Farmaco, Sapienza Università di Roma, Roma, Italia
e.mail: rino.ragno@uniroma1.it

Recentemente le tecniche di intelligenza artificiale, anche definite di autoapprendimento o ancora *machine learning* (ML) stanno avendo un ruolo sempre più importante sia nella vita quotidiana che nelle applicazioni scientifiche e quindi nelle attività di ricerca. A titolo di esempio basti pensare che gli algoritmi ML sono giornalmente usati per la predizione delle condizioni atmosferiche e per progettare automobili che si guidano senza l'intervento umano. Nella presentazione relativa a questo documento è stato illustrato come le tecniche ML possono essere anche utilizzate nel campo della ricerca applicata agli oli essenziali (OE). Ricordando che gli OE sono delle sostanze di origine naturale estratte da piante e animali costituiti da miscele, anche complesse, di composti chimici. I componenti degli oli essenziali appartengono alla categoria dei terpeni e dei loro derivati ossigenati. Gli OE sono usati per una grande varietà di applicazioni che spaziano in diversi campi quali ad esempio microbiologico, agroalimentare, cosmetico, salutistico e medico. Negli ultimi anni nei laboratori del *Rome Center for Molecular Design* (www.rcmd.it) sono stati effettuati una serie di studi microbiologici su OE estratti da diverse tipologie di piante aromatiche indicando come queste interessanti miscele potrebbero essere impiegate in diverse modalità. Gli studi hanno visto la comparazione di diverse applicazioni di tec-

niche estrattive in funzione del tempo e del periodo in cui le piante venivano raccolte. In particolare, sono stati estratti oli essenziali da *Mentha suaveolens* (1), *Melissa officinalis*, *Foeniculum vulgare* (2), *Calamintha nepeta* (3), *Sideritis romana* (4) e diverse altre. In un precedente articolo l'olio essenziale di *Mentha suaveolens* dimostrò una certa efficacia nei confronti del virus *Herpes simplex* di tipo 1 (HSV1) (5); pertanto continuando gli studi, una serie di OE è stata oggetto di studio per la valutazione dell'attività antivirale nei confronti di HSV1. A questo scopo 38 campioni di OE sono stati valutati sia per l'attività antivirale che per la eventuale citotossicità in colture cellulari (cellule Vero). In parallelo è stata anche condotta l'analisi chimica dei campioni mediante gascromatografia accoppiata a spettrometria di massa (GC/MS). La valutazione microbiologica e l'analisi GC/MS hanno permesso di ottenere una matrice di dati (attività biologiche e composizione chimica) che sono state sottoposte ad un'analisi di classificazione mediante la tecnica statistica dell'analisi discriminante mediante regressione parziale (*partial least square discriminant analysis* – PLS-DA) (6). L'applicazione della PLS-DA ha permesso di costruire dei modelli matematico-statistici di classificazione (definiti modelli di relazione quantitativa composizione-attività o *quantitative composition-activity relationships* - QCAR) in grado di descrivere in modo quantitativo l'influenza della variazione quantitativa di ogni componente chimico degli OE sulla variazione di attività biologica (antivirale e citotossica). L'analisi dei modelli matematici, descritti da ottimi coefficienti statistici (Tabella 1), hanno permesso l'individuazione dei componenti chimici maggiormente importanti per una buona attività antivirale e contemporaneamente una contenuta citotossicità. Allo scopo di validare l'utilità dei modelli ottenuti una serie di 52 campioni di OE di cui era nota la composizione chimica sono stati valutati per la loro probabile attività anti-HSV1 e citotossicità. Questo ha permesso di selezionare 5 OE con un ottimo profilo che è stato in seguito confermato dai test microbiologici (Tabella 2).

In conclusione, l'applicazione combinata multidisciplinare di microbiologia, analisi chimica e approcci computazionali hanno dimostrato che è possibile prevedere il potenziale biologico di OE non ancora valutati biologicamente. Questo è uno studio ancora preliminare simile ad altri recentemente pubblicati (7,8). È in fase di realizzazione un database di OE contenente informazioni sulla loro composizione e valutazione biologica. La disponibilità di una grande quantità di dati potrà permettere la realizzazione di modelli ML di ampia applicazione nel classificare gli OE mediante preliminari analisi chimiche che possono essere condotte in pochi minuti.

Lo studio qui presentato è stato recentemente pubblicato sulla rivista *Molecules* (9).

Parole chiave. Estrazione di oli essenziali, Machine learning, HSV1, GC/MS, Studi multidisciplinari

Bibliografia

(1) Pietrella D., Angiolella L., Vavala E., Rachini A., Mondello F., Ragno R., Bistoni F., Vecchiarelli, A. (2011) - Beneficial effect of *Mentha suaveolens* essential oil in the treatment of vaginal candidiasis assessed by real-time monitoring of infection. *BMC Complement Altern Med*, 11: 18.

- (2) Garzoli S., Pirolli A., Vavala E., Di Sotto A., Sartorelli G., Bozovic M., Angiolella L., Mazzanti G. Pepi, F., Ragno R. (2015) - Multidisciplinary approach to determine the optimal time and period for extracting the essential oil from *Mentha suaveolens* Ehrh. *Molecules*, 20: 9640-9655.
- (3) Bozovic M., Garzoli S., Sabatino M., Pepi F., Baldisserotto A., Andreotti E., Romagnoli C., Mai A., Manfredini S., Ragno R. (2017) - Essential oil extraction, chemical analysis and anti-candida activity of *Calamintha nepeta* (L.) savi subsp. *Glandulosa* (req.) ball-new approaches. *Molecules*, 22.
- (4) Garzoli S., Bozovic M., Baldisserotto A., Andreotti E., Pepi F., Tadic V., Manfredini S., Ragno R. (2018) - *Sideritis romana* L. Subsp. *Purpurea* (tal. Ex benth.) heywood, a new chemotype from montenegro. *Nat Prod Res*, 32: 1056-1061.
- (5) Civitelli L., Panella S., Marcocci M.E., De Petris A., Garzoli S., Pepi F., Vavala E., Ragno R., Nencioni L., Palamara A.T. et al. (2014) - *In vitro* inhibition of herpes simplex virus type 1 replication by *Mentha suaveolens* essential oil and its main component piperitenone oxide. *Phytomedicine*, 21: 857-865.
- (6) Lee L.C., Liong C.Y., Jemain A.A. (2028) - Partial least squares-discriminant analysis (pls-da) for classification of high-dimensional (hd) data: A review of contemporary practice strategies and knowledge gaps. *Analyst*, 143: 3526-3539.
- (7) Ragno R., Papa R., Patsilinos A., Vrenna G., Garzoli S., Tuccio V., Fiscarelli E., Selan L., Artini M. (2020) - Essential oils against bacterial isolates from cystic fibrosis patients by means of antimicrobial and unsupervised machine learning approaches. *Sci Rep*, 10: 2653.
- (8) Artini M., Patsilinos A., Papa R., Bozovic M., Sabatino M., Garzoli S., Vrenna G., Tilotta M., Pepi F., Ragno R. et al. (2028) - Antimicrobial and antibiofilm activity and machine learning classification analysis of essential oils from different mediterranean plants against *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecules*, 23.
- (9) Sabatino M., Fabiani M., Bozovic M., Garzoli S., Antonini L., Marcocci M.E., Palamara A.T., De Chiara G., Ragno R. (2020) - Experimental data based machine learning classification models with predictive ability to select *in vitro* active antiviral and non-toxic essential oils. *Molecules*, 25.

Parametri Statistici	Modello IC ₅₀ -PLS-DA	Modello EC ₅₀ -PLS-DA
cut-off (mg/ml)	0,25	0,20
EV	75%	75%
FNER	0,77	0,68
CVNER	0,71	0,61
ACC	0,76	0,68

EV: varianza spiegata; FNER: fitting-non-error-rate; CVNER: cross-validation-non-error-rate; ACC: accuratezza

Tabella 1. Caratterizzazione statistica dei modelli di classificazione mediante PLS-DA ottenuti per l'attività antivirale (IC₅₀) e per la citotossicità (EC₅₀).

EO Id ^a	IC ₅₀ (mg/ml)	CC ₅₀ (mg/ml)	SI
CS12h	0.460	0.520	1.1
CJM1	0.063	> 3	>47.5
CJM3	0.143	2.503	17.5
CJM4	0.116	> 3	>25.9
CSM4	0.124	> 3	>24.2

Tabella 2. Attività antivirale (IC₅₀) e citotossicità determinate sperimentalmente sui 5 campioni selezionati mediante i modelli PLS-DA.

OLI ESSENZIALI AMAZZONICI CON ATTIVITÀ ANTIVIRALE. PROSPETTIVE E LIMITI DELLA RICERCA NEL 2020

M. Radice¹, A. Pietrantonio², A. Guerrini³, M. Tacchini³,
G. Sacchetti³, M. Chiurato³, G. Venturi², C. Fortuna²

¹Universidad Estatal Amazónica, Department of Earth Sciences,
Puyo, Ecuador

²Istituto Superiore di Sanità, National Center for Innovative
Technologies in Public Health, Roma, Italia

³Università degli Studi di Ferrara, Department of Life Sciences and
Biotechnology (SVeB), Malborghetto di Boara, Ferrara, Italia

⁴Istituto Superiore di Sanità, Department of Infectious Diseases,
Roma, Italia

e.mail: mradice@uea.edu.ec

Il contesto amazzonico è da sempre una delle maggiori riserve di biodiversità del Pianeta e rappresenta una delle zone di maggiore interesse per lo studio delle piante medicinali. In Ecuador il territorio amazzonico copre quasi il 45% della superficie nazionale e la varietà di ecosistemi presenti fanno sì che l'Ecuador sia parte dei paesi considerati "Megadiversi" (1). Dal 1996 l'Università degli Studi di Ferrara, grazie alle attività del Centro di Ateneo per la cooperazione allo sviluppo internazionale, ha coordinato con la ONG italiana VIS (Volontariato Internazionale per lo sviluppo) ed altri attori locali delle attività di ricerca fitochimica volte alla valorizzazione della biodiversità amazzonica. La cooperazione universitaria, oltre alla produzione di articoli scientifici, ha permesso di creare filiere produttive sostenibili e proporre opportunità di sviluppo economico per le popolazioni locali (2,3,4). Negli ultimi anni, la collaborazione scientifica con la Universidad Estatal Amazónica e l'Istituto Superiore di Sanità ha permesso di focalizzare l'attenzione sullo studio di oli essenziali amazzonici, approfondendone la caratterizzazione chimica e l'attività biologica. Tra i lavori pubblicati è stato possibile realizzare uno studio relativo all'effetto inibitorio degli oli essenziali di *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. e *Piper aduncum* L. nei confronti dell'infezione indotta da West Nile virus (WNV) (5).



Figura 1. "Istallazione di distillatori di oli essenziali nel territorio amazzonico ecuadoriano" (L. Scalvenzi, 2003).

WNV è un Flavivirus trasmesso dalle zanzare, soprattutto appartenenti al genere *Culex*, responsabile di malattia nell'uomo spesso asintomatica o con una sintomatologia simil-influenzale. Nell'1% dei casi di infezione si manifestano sintomi più gravi tra i quali meningiti ed encefaliti, in alcuni casi letali. Uno studio pubblicato nel 2018 ha indagato per la prima volta gli effetti inibitori degli oli essenziali amazzonici *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. e *Piper aduncum* L. sulla replicazione del WNV. In questo studio il virus è stato trattato con gli oli essenziali prima dell'adsorbimento su cellule Vero (*African green monkey kidney cells*), e osservando l'andamento dell'infezione in assenza ed in presenza di olio essenziale. È stato inoltre valutato l'effetto, trattando le cellule con gli oli prima di infettarle con il virus. Le tecniche di GC-MS e GC-FID sono state utilizzate per la caratterizzazione chimica degli oli essenziali identificando rispettivamente 1,8-cineolo (39,15%) e dillapiolo (48,21%) come composti principali dell'olio di *O. quixos* e *P. aduncum*.

Oli essenziali	CC ₅₀	EC ₅₀	SI
<i>Ocotea quixos</i>	840 µg/ML	372 µg/mL	2.2
<i>Piper aduncum</i>	163 µg/ML	163 µg/mL	1

Tabella 1. Esiti degli studi di attività inibitoria degli oli essenziali di *O. quixos* e *P. aduncum* nei confronti di WNV.

I dati riportati in Tabella 1 sono relativi rispettivamente al valore di CC₅₀, EC₅₀ e SI che i due oli essenziali mostrano nei confronti del WNV. Il valore di CC₅₀ indica la concentrazione dell'olio essenziale che induce citotossicità nei confronti del 50% delle cellule trattate; il valore di EC₅₀ esprime la concentrazione dell'olio che induce una risposta di vitalità cellulare nel 50% delle cellule infettate e SI misura il rapporto tra citotossicità e attività antivirale. I valori ottenuti di CC₅₀ indicano che l'olio di *P. aduncum* è relativamente più tossico di quello ottenuto da *O. quixos*. I valori di EC₅₀ evidenziano un'azione protettiva di entrambi gli oli nei confronti delle cellule infettate mentre l'indice di selettività SI per l'olio di *O. quixos* suggerisce una sua potenziale maggior efficacia e sicurezza per una futura applicazione farmaceutica.

I dati ottenuti evidenziano un potenziale ruolo antivirale degli oli testati ed ulteriori indagini saranno necessarie per identificare i meccanismi d'azione molecolari e cellulari di queste sostanze naturali. Alla luce degli studi realizzati, si conferma che il bacino amazzonico rappresenta una fonte rilevante di opportunità di ricerca nell'ambito fitochimico ed etnobotanico. La ricerca di base e quella applicata, inserite in un chiaro contesto di cooperazione tra le parti, permette inoltre lo sviluppo di progetti volti alla conservazione della biodiversità ed all'inclusione sociale ed economica delle popolazioni locali.

Parole chiave. Biodiversità, Fitochimica, Etnobotanica, Attività biologica

Bibliografia

- (1) Mittermeier R.A., Gil P.R., Mittermeier C.G. (1997) - Megadiversity: Earth's Biologically Wealthiest Nations. Conservation International, Cemex, México, D.F., México.
- (2) Sacchetti G., Medici A., Maietti S., Radice M., Muzzoli M.V., Manfredini S., Braccioli E., Bruni R. (2004) - Composition and functional properties of the essential oil of Amazonian basil, *Ocimum micranthum* Willd., Labiatae in comparison with commercial essential oil. J. Agric. Food Chem, 52: 3486-3491.
- (3) Sacchetti G., Maietti S., Muzzoli M.V., Scaglianti M., Manfredini S., Radice M., Bruni R. (2005) - Comparative evaluation of 11 essential oils of different origins functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. Food Chemistry, 91: 621-632.
- (4) Fundación Chankuap, Recursos para el futuro - <http://chankuap.org/>
- (5) Radice M., Pietrantoni A., Guerrini A., Tacchini M., Sacchetti G., Chiurato M., Venturi G., Fortuna C. (2018) - Inhibitory effect of *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. and *Piper aduncum* L. essential oils from Ecuador on West Nile virus infection. Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology, DOI: 10.1080/11263504.2018.1478902

OLI ESSENZIALI E IDROLATI PER IL CONTROLLO DEI MICRORGANISMI NEI VEGETALI FRESCI

A. Serio, C. Rossi, F. Maggio, C. Chaves López, A. Paparella

Università degli Studi di Teramo, Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agroalimentari e Ambientali, Teramo, Italia
e.mail: aserio@unite.it

I vegetali freschi o minimamente processati costituiscono un'importante categoria di prodotti presenti sulle nostre tavole. Poiché essi vengono spesso consumati crudi e possono essere soggetti alla contaminazione da parte di numerosi microrganismi patogeni, sorge l'esigenza di prevenire e controllare lo sviluppo microbico, anche mediante soluzioni sanizzanti. Tra i composti chimici maggiormente impiegati nelle operazioni di lavaggio, il cloro può essere scarsamente efficace e al contempo può causare lo sviluppo di composti organici pericolosi. Per questo motivo, tra le soluzioni di lavaggio alternative, negli ultimi anni si propone l'impiego di estratti vegetali come oli essenziali (OE) ed idrolati (ID).

Diversi studi sono stati pubblicati recentemente a dimostrazione dell'efficacia e dell'applicabilità di tali trattamenti su vegetali diversi. Ad esempio, Rossi et al. (1), hanno dimostrato l'efficacia dell'OE di *Cinnamomum zeylanicum* (5 µL/mL) nel ridurre l'adesione di *Salmonella enterica* su insalata Iceberg, con un effetto protettivo fino a 120 ore di conservazione a 8°C. Sull'insalata, anche l'OE di chiodi di garofano è risultato attivo nei confronti di *Listeria monocytogenes*, con effetto sia di disgregazione del biofilm che di riduzione di alcune attività enzimatiche del microrganismo, seppure con qualche effetto negativo sul colore del vegetale (2). L'OE di timo (0.5% in acqua) è risultato invece particolarmente efficace nel ridurre la popolazione di *Aeromonas* spp. su peperoni crudi, mentre in concentrazione di 1% ha ridotto significativamente anche la popolazione di enterobatteri (3). L'olio essenziale di semi di *Coriandrum sativum* (5 µL/mL), applicato

su carote stick, ha ridotto e contenuto lo sviluppo di un cocktail di *S. enterica* fino a 24 ore a 10°C (tabella 1), con effetti positivi sul colore del vegetale (4).

Alcuni idrolati sono stati impiegati sempre su carote; in particolare gli ID di *Rosmarinus officinalis* e *Thymus vulgaris* hanno ridotto la carica di *Escherichia coli* fino a 1,2 Log UFC/g dopo 60 minuti dall'applicazione (5), così come diversi idrolati hanno ridotto la popolazione di *L. monocytogenes*, *S. Typhimurium* ed *Escherichia coli* O157:H7 su lattuga, alcuni dei quali (ID di *Laurus nobilis* e *Sideritis canariensis*) senza impatto significativo sul profilo sensoriale del prodotto (6).

In conclusione, oli essenziali ed idrolati si sono dimostrati versatili e idonei alla decontaminazione di una varietà di vegetali, risultando efficaci nel contenimento sia della carica microbica totale sia di popolazioni specifiche di microrganismi patogeni. L'impiego degli estratti vegetali in soluzioni di lavaggio consente di limitare l'impatto sensoriale del prodotto, esplicando comunque l'azione antimicrobica. Sono necessari ulteriori studi per ottimizzare tali trattamenti e per stabilizzare le formulazioni decontaminanti, in vista di un potenziale impiego in ambito casalingo o industriale.

Parole chiave. Oli essenziali, Idrolati, Attività antimicrobica, Vegetali

Bibliografia

- (1) Rossi C., Chaves-López C., Smole Možina S., Di Mattia C., Scuota S., Luzzi I., Jenic T., Paparella A., Serio A. (2019) - *Salmonella enterica* adhesion: effect of *Cinnamomum zeylanicum* essential oil on lettuce. LWT, 111:16-22.
- (2) Zhang C., Li C., Abdel-Samie M.A., Cui H., Lin L. (2020) - Unraveling the inhibitory mechanism of clove essential oil against *Listeria monocytogenes* biofilm and applying it to vegetable surfaces. LWT, 134: 110-210.
- (3) Uyttendaele M., Neyts K., Vanderswalmen H., Notebaert E., Debevere J. (2004) - Control of *Aeromonas* on minimally processed vegetables by decontamination with lactic acid, chlorinated water, or thyme essential oil solution. International Journal of Food Microbiology, 90: 263-271.
- (4) Pellegrini M., Rossi C., Palmieri S., Maggio F., Chaves-López C., Lo Sterzo C., Paparella A., De Medici D., Ricci A., Serio A. (2020) - *Salmonella enterica* control in stick carrots through incorporation of coriander seeds essential oil in sustainable washing treatments. Frontiers in Sustainable Food Systems, 4: 14.
- (5) Tornuk F., Cankurt H., Ozturk I., Sagdic O., Bayram O., Yetim H. (2011) - Efficacy of various plant hydrosols as natural food sanitizers in reducing *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium on fresh cut carrots and apples. International Journal of Food Microbiology, 148: 30-35.
- (6) Ozturk I., Tornuk F., Caliskan-Aydogan O., Zeki Durak M., Sagdic O (2016) - Decontamination of iceberg lettuce by some plant hydrosols. LWT, 74: 48-54.

CAMPIONE	T1	T24	T48
Controllo	4,89 ^a ±0,10	4,86 ^a ±0,20	4,88 ^a ±0,20
Trattato	3,77 ^b ±0,15	3,96 ^b ±0,20	4,77 ^a ±0,20

Tabella 1. Evoluzione di *Salmonella enterica* durante la conservazione refrigerata di stick di carote a 10°C per 48h. Controllo si riferisce al campione non trattato; Trattato si riferisce al campione trattato con 5 microg/mL di olio essenziale di *Coriandrum sativum*. T1, T24 e T48 si riferiscono al tempo trascorso dal trattamento. La carica è espressa come Log UFC/g; lettere diverse in apice indicano campioni significativamente differenti secondo il test Tukey HSD post hoc (p>0,05).



Foto di Derek Winterburn

Cucurbita pepo

OLI ESSENZIALI PER LA DIFESA DELLE PIANTE DA PATOGENI SISTEMICI. APPLICAZIONE A CUCURBITA PEPO (ZUCCHINO)

R. Ragno

¹Dipartimento di Chimica e Tecnologie del Farmaco, Sapienza Università di Roma, Roma, Italia
e.mail: rino.ragno@uniroma1.it

Gli oli essenziali (OE) sono elencabili tra i cosiddetti metaboliti secondari prodotti dalle piante e si ritrovano concentrati in fiori, foglie, frutti e radici di un numeroso elenco di piante appartenenti più comunemente alle famiglie delle Apiaceae, Asteraceae, Lamiaceae e Myrataceae. Gli OE sono miscele complesse di composti chimici che appartengono a diverse classi chimiche: composti alifatici e aromatici e loro derivati ossigenati tra cui alcoli, fenoli, chetoni, esteri e acidi. Molti studi effettuati su EO hanno evidenziato una moltitudine di attività: antimicrobica, antivirale, antimicotica, antiparassitaria e insetticida sia nei confronti di patogeni animali e vegetali.

Le infezioni virali in piante è un argomento molto importante per l'agricoltura mondiale specialmente considerando che non esistono rimedi utilizzabili in campo per contenere le infezioni. Pertanto la maggior parte dei rimedi è affidata a tecniche di prevenzione. Quando nemmeno queste ultime sono applicabili si tenta di ricor-

rere a metodi costosi, verificati *in vitro*, per l'eliminazione dei virus fitopatogeni. Tra le sostanze impiegate nella lotta ai fitopatogeni di notevole rilievo sono una serie di studi riportati sull'efficacia di diverse sostanze sia di origine naturale che di preparazione sintetica.

In particolare, nello studio presentato, il virus del mosaico giallo del zucchini (MYMV) è stato selezionato in quanto responsabile di essere molto diffuso tra i patogeni delle Cucurbitacee in diverse regioni del Mondo. ZYMV è membro del genere *Potyvirus*, della famiglia dei *Potyviridae*, ed è un virus a RNA (ssRNA +) che viene trasmesso in maniera molto efficiente da afidi. Questo virus è capace di infettare tutti i membri delle Cucurbitacee includendo zucche, zucchine, cetriolini, meloni e cocomeri. I sintomi della malattia provocata da ZYMV sono particolarmente visibili sulle bacche di zucchini le quali sono rachitiche, contorte e deformate da protuberanze, inoltre le foglie hanno un classico a spetto a mosaico e malformate. Infine l'infezione da ZYMV riduce la resa in produzione fino al 90% ostacolando il commercio.

Con l'intento di trovare nuove sostanze in grado di funzionare quali potenziali antivirali, 61 OE commerciali caratterizzati chimicamente in laboratorio mediante gascromatografia accoppiata a spettrometria di massa (GC/MS) sono stati valutati per la loro capacità a ridurre le sia le lesioni locali che la carica virale in piante infettate. L'effetto degli OE è stato valutato su piante di *Chenopodium amaranticolor* preventivamente infettate con ZYMV. Analizzando le

lesioni riportate sulle piante infettate e trattate con OE in confronto con piante non trattate è risultato che 11 OE hanno mostrato una significativa riduzione dei sintomi con percentuali tra il 30 ed oltre il 93%. Pertanto gli 11 OE sono stati valutati per la loro capacità di ridurre il titolo virale in seguito ad inoculazione di ZYMV in esemplari di *Cucurbita pepo*, la classica zucca. La valutazione è stata fatta con il metodo $\Delta\Delta Ct$ mediante Real Time PCR rivelando che effettivamente 5 degli 11 campioni di OE hanno dimostrato un effetto inibitorio nei confronti dello ZYMV. Al fine di identificare i componenti chimici più importanti e in modo simile a quanto recentemente pubblicato (1,2) mediante l'applicazione di algoritmi *machine learning* sono stati derivati dei modelli quantitativi di classificazione. In particolare il miglior modello è stato ottenuto mediante il metodo *Gradient Boost* (GB), caratterizzato in cross-validazione da un coefficiente di correlazione di Matthew (MCC) di 0.69 e da un'area sotto la curva (AUC) di 0.96 (Figura 1). L'analisi dei modelli mediante i metodi delle variabili più importanti di dipendenza parziale hanno indicato che tra i diversi componenti β -*caryophyllene* e *linalool* sono i più importanti per ottenere un effetto antivirale (Figura 2). Ulteriori studi sono tuttora in corso per valutare l'attività dei singoli componenti e di eventuali miscele in modo da meglio comprendere la sinergia tra i componenti stessi e con altri con un'importanza comunque positiva.

Figura 1. Andamento dell'AUC per il modello GB.

Parole chiave. Oli essenziali, Machine learning, ZYMV, GC/MS, Cucurbita pepo, studi multidisciplinari

Bibliografia

- (1) Artini M., Patsilinakos A., Papa R., Bozovic M., Sabatino M., Garzoli S., Vrenna G., Tilotta M., Pepi F., Ragno R., *et al.* (2018) - Antimicrobial and antibiofilm activity and machine learning classification analysis of essential oils from different mediterranean plants against *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecules*, 23.
- (2) Patsilinakos A., Artini M., Papa R., Sabatino M., Bozovic M., Garzoli S., Vrenna G., Buzzi R., Manfredini, S. Selan L., *et al.* (2019) - Machine learning analyses on data including essential oil chemical composition and *in vitro* experimental antibiofilm activities against *Staphylococcus* species. *Molecules*, 24.

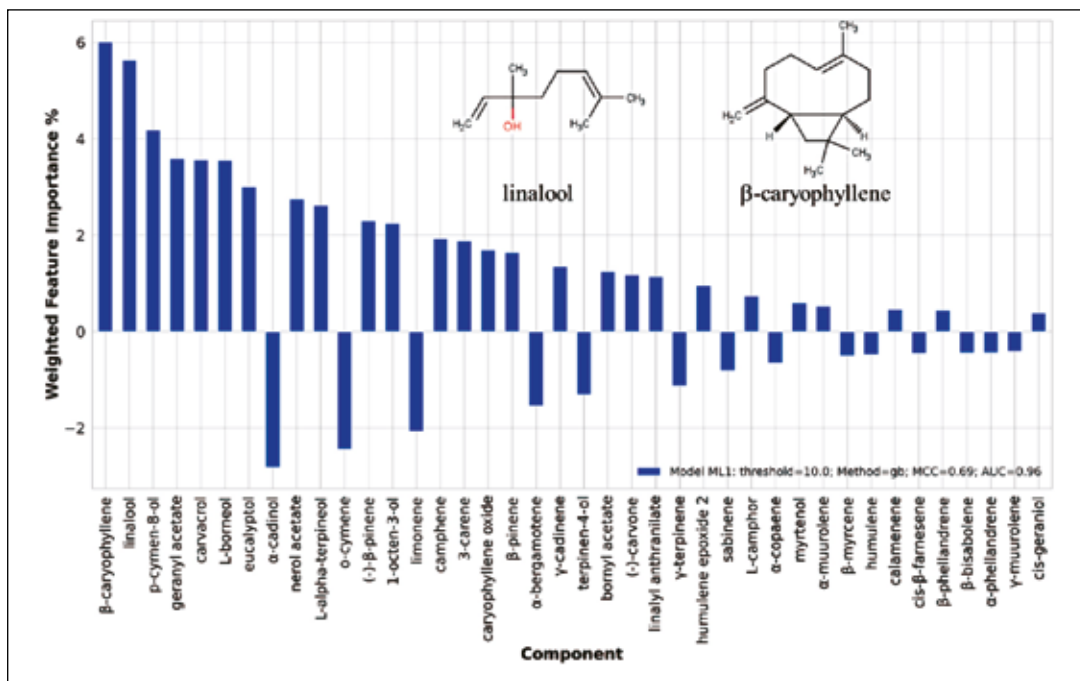
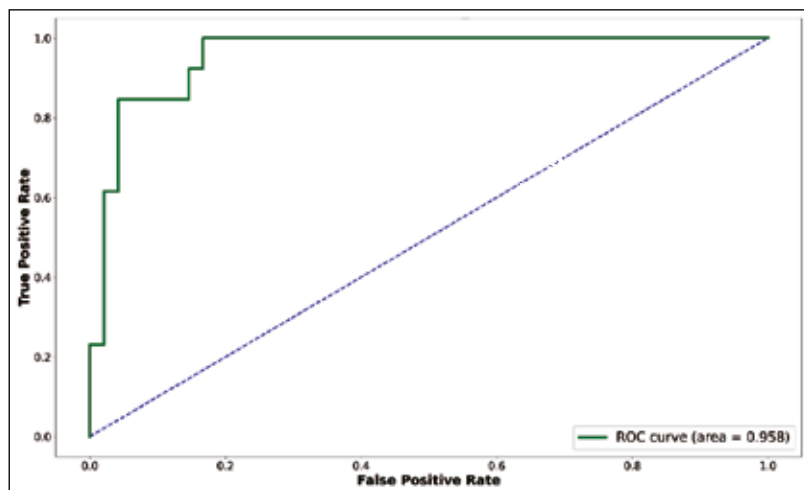


Figura 2. Importanza dei componenti chimici per l'attività antivirale in *Chenopodium amaranticolor*. Le strutture di β -caryophyllene e linalool sono anche riportate.

OLI ESSENZIALI NELLA PROTEZIONE DELLE PIANTE IN CAMPO E IN POSTRACCOLTA

G. Romanazzi, M. Mounni

Università Politecnica delle Marche, Dipartimento di Scienze Agrarie,
Alimentari ed Ambientali, Via Brecce Bianche, 10 - 60131
Ancona, Italia
e.mail: g.romanazzi@univpm.it

La gestione delle malattie delle piante avviene nella maggior parte dei casi attraverso l'uso di fungicidi di sintesi, applicati in campo e, talvolta, in postraccolta. Se l'uso di agrofarmaci, nel loro complesso, consente di ottenere produzioni di elevata qualità e quantità, allo stesso tempo il consumatore percepisce il rischio della presenza di eventuali residui sui prodotti agroalimentari. È per questi motivi che la strategia europea *From farm to fork* dell'*European Green Deal* prevede, entro il 2030, fra le altre misure, la riduzione dell'uso di prodotti chimici di sintesi nella protezione delle piante del 50% e l'incremento al 25% delle superfici destinate ad agricoltura biologica. Pertanto, è necessario individuare delle alternative all'uso di fungicidi di sintesi per la gestione delle avversità delle piante, che permettano di mantenere gli stessi livelli produttivi, e fra le sostanze naturali gli oli essenziali rappresentano una delle alternative più interessanti. Difatti, gli oli essenziali hanno una buona attività antimicrobica, manifestata nei confronti di una serie di malattie delle piante in campo e in postraccolta, e diversi formulati commerciali sono stati messi a disposizione dell'agricoltore.

Una serie di applicazioni pratiche di formulazioni a base di oli essenziali o loro componenti sono note, ad esempio nei confronti di importanti malattie della vite, come l'oidio o la muffa grigia, così come nella decontaminazione dei semi da patogeni fungini. Gli oli essenziali rappresentano dei composti ideali per i trattamenti postraccolta, ove l'applicazione di fungicidi di sintesi è nella maggior parte dei casi non consentita, in quanto i prodotti ortofrutticoli si conservano in un ambiente confinato, che limita la dispersione dei vapori. Tuttavia, la gestione degli oli essenziali non è semplice, in quanto a dosi elevate possono risultare fitotossici, mentre a basse dosi possono essere inefficaci. Pertanto, sono necessarie approfondite indagini per mettere a punto le strategie di applicazione, le tempistiche di trattamento e sviluppare formulazioni che ne determinino un graduale rilascio, al fine di prolungarne l'efficacia. Solo così si potrà gradualmente affiancare a fungicidi di sintesi alternative basate sull'uso di oli essenziali, sia per l'agricoltura integrata e soprattutto per l'agricoltura biologica.

Parole chiave. Malattie fungine, Postraccolta, Oli essenziali

Bibliografia

- (1) Servili A., Feliziani E., Romanazzi G. (2017) - Exposure to volatiles of essential oils alone or under hypobaric treatment to control postharvest gray mold of table grapes. *Postharvest Biology and Technology*, 133: 36-40
- (2) Sivakumar D., Romanazzi G. (2019) - Essential oils improve postharvest quality and control postharvest decay of tropical, subtropical and temperate fruits. In: Palou L., Smilanick J.L., Eds, *Postharvest Pathology of Fresh Horticultural Produce*. CRC PRESS, Taylor & Francis Group, BOCA RATON, FLORIDA, US: 659-676.

Monarda sp.



Foto di mpshadow2003



Foto di Gerjjan van Noord

Prunus avium

PROVE SPERIMENTALI CON IDROLATI PER LA DIFESA DEL CILIEGIO DA *DROSOPHILA SUZUKII*

S. Civolani¹, S. Francati², M.L. Dindo², M.G. Bellardi²

¹ Centro di Saggio Innovaricerca srl, Ferrara, Italia

² Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari (DISTAL), Università di Bologna, Bologna, Italia
e.mail: cvlsfn@unife.it

Drosophila suzukii (Diptera: Drosophilidae) è comunemente nota con il nome “moscerino dei piccoli frutti” (in inglese Spotted Wing Drosophila, SWD). È considerata un insetto molto infestante che causa gravi danni a livello economico soprattutto nel suo continente d'origine, ovvero l'Asia, ma, recentemente, anche in America ed in Europa. Per difendere le colture, in particolare il ciliegio, da questo fitofago si fa uso per lo più di insetticidi di sintesi, in particolare modo prima della raccolta (1) quando la femmina con il proprio ovipositore sclerificato inizia a deporre nel frutto le proprie uova. I parassitoidi, come *Trichopria drosophilae* (Hymenoptera: Diapriidae), possono coadiuvare nella lotta, ma non sono, di per sé, sufficientemente efficaci (2). Le reti antinsetto sono efficienti ma molto costose. Visto che fra gli obiettivi dell'agricoltura sostenibile vi è la riduzione degli insetticidi di sintesi al fine di salvaguardare l'ambiente e la sicurezza alimentare dei consumatori, questo lavoro pone l'attenzione sull'utilizzo verso *D. suzukii* dell'idrolato di *Monarda didyma*, una pianta erbacea perenne appartenente alla famiglia delle Lamiacee (Fig. 1) ed originaria del Nord America contenente diversi metaboliti

secondari, in particolare il monoterpene Timolo, conosciuto in Letteratura per l'attività dissuasiva verso i fitofagi aggressori delle piante. Attraverso diversi biosaggi effettuati in laboratorio si è osservato che l'applicazione topica mediante Torre di Potter di diverse concentrazioni dell'idrolato di Monarda ha provocato elevate mortalità dopo 48 ore (Tab. 1), mentre nessuna attività repellente e fagoderrente è stata osservata rispettivamente mediante biosaggi con olfattometro a Y e biosaggi con dieta artificiale con colorante.

Parole chiave. Idrolati, Ciliegio, *Drosophila suzukii*

Bibliografia

- (1) Civolani S., Vaccari G., Caruso S., Finetti L., Bernacchia G., Chicca M., Cassanelli S. (2021) - Evaluation of insecticide efficacy and insecticide adaptive response in Italian strains of *Drosophila suzukii* Matsamura. Journal of Insectology (submitted).
(2) Mazzetto F., Marchetti E., Amiresmaeli N., Sacco D., Francati S., Jucker C., Dindo M.L., Lupi D., Tavella L. (2016) - *Drosophila* parasitoids in northern Italy and their potential to attack the exotic pest *Drosophila suzukii*, Journal of Pest Science, 89: 837-850.

Concentrazione (%) Idrolato di Monarda	Mortalità % dopo 48 h
0,1	27
0,5	35
1	65
10	92

Tabella 1. Esiti del biosaggio a diverse concentrazioni di idrolato di Monarda (*Monarda didyma*) su adulti di *Drosophila suzukii* mediante Torre di Potter.



Figura 1. Coltivazione di *Monarda didyma* da seme.

TRATTAMENTO DELLA METRITE DELLA CAVALLA CON UNA MISCELA A BASE DI OLI ESSENZIALI

A. Caneschi¹, J. Mariella¹, A. Lanci¹, C. Castellano¹, M. Scozzoli², M. Cescatti³, C. Castagnetti¹, A. Zaghini¹

¹Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Università di Bologna, Italia

²APA-CT Srl, Forlì, FC, Italia

³Fondazione IRET – Onlus, Ozzano Emilia, Bologna, Italia
e.mail: alice.caneschi2@unibo.it

La metrite acuta è una delle più comuni patologie puerperali che colpisce la cavalla, ed è potenzialmente l'infezione uterina più grave (1, 2). Le conseguenze della metrite post-partum variano dalla ritardata involuzione uterina allo sviluppo di setticemia/tossicemia, laminite e morte (3,4). Il trattamento prevede frequenti lavaggi uterini ad alti volumi, antibiotici sistemici e intrauterini appropriati, antinfiammatori, ossitocina, antiendotossici (5,6).

Lo scopo del lavoro è stato quello di sviluppare una miscela di oli essenziali (*Citrus limon*, *Eucalyptus globulus*, *Lavandula hybrida*, *Melaleuca alternifolia*, *Melaleuca leucadendron*, *Thymus capitatus*, *Thymus vulgaris*) ed estratti idroalcolici (*Calendula officinalis*, *Harpagophytum procumbens*, *Echinacea angustifolia*) che avrebbero svolto un'azione immunostimolante, antibatterica e antinfiammatoria nell'ambiente uterino e verificarne l'efficacia come coadiuvante nella terapia della metrite post-partum. La produzione è stata eseguita presso i laboratori dell'azienda APA-CT srl che ha fornito gli estratti delle piante utilizzate e gli oli essenziali. Nello studio sono state incluse le fattrici ricoverate durante la stagione riproduttiva 2019, presso l'Unità di Perinatologia Equina e Riproduzione del Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie dell'Università di Bologna, che hanno sviluppato metrite (36-48 ore post-partum) secondo i seguenti criteri di inclusione: ipertermia, raccolta uterina evidenziabile ecograficamente e nessuna terapia progressiva. Tutte le fattrici hanno ricevuto il trattamento previsto per la metrite post-partum e sono state divise in due gruppi, di cui uno ha ricevuto anche il trattamento endouterino con il fitoterapico. Un gruppo di fattrici con post-partum fisiologico ed esame clinico nella norma nei successivi 4 giorni è stato utilizzato come gruppo di controllo.

Tutti gli animali sono stati valutati clinicamente e sui liquidi di lavaggio è stata eseguita la valutazione della carica batterica e l'analisi delle citochine.

I risultati ottenuti non hanno evidenziato differenze statisticamente significative tra i due gruppi sperimentali di cavalle patologiche per quello che riguarda sia la carica batterica sia la valutazione delle citochine.

Il fitoterapico è stato molto ben tollerato da tutte le cavalle, inoltre si è ottenuta la guarigione delle fattrici di entrambi i gruppi sperimentali in 5 giorni e senza trattamenti antibiotici endouterini aggiuntivi. Per quanto riguarda la temperatura corporea 1 cavalla su 7 del gruppo trattato con il fitoterapico ha presentato ipertermia rispetto alle 4 su 5 dell'altro gruppo.

Parole chiave. Equino, Metrite post-partum, Fitoterapia, Terapia intrauterina

Bibliografia

- (1) Dolente B.A., Sullivan E.K., Boston R., Johnston J.K. (2005) - Mares admitted to a referral hospital for postpartum emergencies: 163 cases (1992-2002). *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 15(3): 193-200.
- (2) Morel M.C.G.D. (2015) - *Equine Reproductive Physiology, Breeding and Stud Management*, 4th Edition.
- (3) Blanchard T.L., Varner D.D., Scrutchfield W.L., Bretzlaff K.N., Taylor T.S., Martin M.T., Elmore R.G. (1990) - Management of dystocia in mares: Retained placenta, metritis, and laminitis. *The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* (USA).
- (4) Roberts S.J. (1986). *Veterinary obstetrics and genital diseases (theriogenology)*. S.J. Roberts; Distributed by David and Charles.
- (5) Ferrer M.S., Pozor M.A. (2018) - How to manage the post-partum mare with metritis - Lessons learned from a retrospective bacteriological study. *Proceedings of the 64th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners*, San Francisco, California, USA, 1-5 December 2018: 236-239.
- (6) McAuliffe S.B. (A c. Di) (2014) - Chapter 12 - Reproductive disorders. In: *Knottenbelt and Pascoe's Color Atlas of Diseases and Disorders of the Horse (Second Edition)*: 443-513.

VALUTAZIONE DEGLI EFFETTI DI UNA MISCELA DI OLI ESSENZIALI SUL BENESSERE E SULL'ACCRESIMENTO NELLE PRIME FASI DI SVILUPPO DELLA TROTA IRIDEA

C. Anibaldi¹, A. Elmi¹, M. Bertocchi¹, A. Parmeggiani¹, N. Govoni¹, M. Scozzoli², D. Ventrella¹, M.L. Bacci¹

¹Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Ozzano dell'Emilia (Bologna), Italia

²Medico Veterinario, libero professionista, Italia
e.mail: camilla.anibaldi2@unibo.it

In acquacultura, numerose sostanze che vengono somministrate con diverse finalità possono rimanere come residui nelle carni del pesce allevato e/o diffondersi nell'ambiente tramite l'acqua effluente; tra queste ricordiamo farmaci a scopo terapeutico, profilattico e molecole utilizzate come promotori di crescita. Attualmente, il focus dei produttori zootecnici si è spostato sulla ricerca di possibili alternative a tali sostanze, principalmente verso prodotti a base di piante, in particolare fito-estratti e fito-composti; questi generalmente vengono considerati più "sicuri e salutari" sia per gli animali allevati che per i consumatori, con in aggiunta un minor impatto sull'ambiente. I prodotti a base di erbe sono composti "naturali", ma tale definizione non è necessariamente sinonimo di innocuità, motivo per cui è necessario testarne la tossicità, anche in base alla

differenti posologia: dosaggio, tempo e metodo di somministrazione. Infatti, poiché l'azione di queste sostanze è spesso dose-dipendente, eventuali effetti negativi possono essere prevenuti tramite studi effettuati su specie ed età differenti. In questo studio, sono stati valutati gli effetti di due differenti dosaggi (0,05 e 0,1 mL/L) di Gill Fish®, nei primi stadi di vita di trote iridee (*Oncorhynchus mykiss*) allevate presso Rivoli Osoppo (UD); il prodotto commerciale registrato (Gill Fish®) è a base di oli essenziali, in particolare Melaleuca alternifolia, Citrus limon ed Origanum vulgare.

Il trattamento è stato effettuato per un totale di 6 giornate consecutive, somministrando il prodotto nell'acqua di 6 vasche California (0,05 mL/L n=3 and 0,1 mL/L n=3) contenenti uova embrionate di trota iridea in incubazione, a partire dal giorno 30 post-fertilizzazione fino al giorno di schiusa. Per valutare l'eventuale tossicità diretta e/o indiretta del Gill Fish®, sono stati presi in considerazione diversi parametri, tra cui la mortalità delle uova ed altri indici zootecnici misurati sugli avannotti, come il peso e la lunghezza medi, la biomassa ed il numero corrispondente di avannotti per ogni vasca. In aggiunta, è stato misurato il cortisolo sia sulle uova che sugli avannotti, per evidenziare un potenziale effetto stressante del

trattamento effettuato. Per ogni parametro, il tempo è risultato un fattore statisticamente significativo, mentre non sono state riscontrate differenze tra le vasche trattate e quelle di controllo (CTR n=4) all'interno dello stesso time point.

I risultati ottenuti dimostrano che il trattamento con Gill Fish® non ha determinato effetti nocivi o stressanti direttamente sulle uova embrionate, ed in aggiunta, non ne ha influenzato la successiva crescita in avannotteria; motivo per cui tale prodotto a base di oli essenziali potrebbe rappresentare un ottimo candidato per futuri studi, prolungando il tempo di somministrazione e/o utilizzando dosaggi differenti. L'obiettivo di ulteriori prove zootecniche con l'utilizzo di Gill Fish® potrebbe essere quello di individuare eventuali effetti benefici, sul breve e lungo periodo, che permetterebbero di usufruire di tale prodotto come alternativa più sostenibile ad eventuali sostanze chimiche già utilizzate in acquacultura.

Parole chiave. Trota iridea, Gill Fish®, Acquacultura

Sitarama® Via Michelucci, 9 - 50028 Barberino Tavarnelle (FI)
Tel.: 055 8071794 www.sitarama.com



NATURAL PREMIUM

Colorazione permanente per capelli

20 nuances
Colore Brillante
 Infiniti Riflessi
Tocco Naturale
 100% Copertura dei Capelli Bianchi

arricchita con **Argan** e **Olio di Jojoba**
 da **agricoltura biologica**

SENZA
 ammoniac
 p-fenilendiammina
 resorcina
 parabeni
 profumo

Nickel **TESTED**







NATURAL PREMIUM

NUOVA FORMULA
 dermatologicamente testata