

CONTROLLO DI *MELOIDOGYNE JAVANICA* MEDIANTE L'USO DI TANNINI

L. MAISTRELLO¹, G. VACCARI¹, I. PAPAJOVA², N. SASANELLI³

¹Dipartimento di Agricoltura e Scienze Alimentari, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Area S. Lazzaro, Pad. Besta - Via G. Amendola, 2, 42100 Reggio Emilia

²Parasitological Institute of Slovak Academy of Sciences - Hlinkova 3, 040 01, Košice, Slovak Republic

³Istituto per la Protezione delle Piante, Sede di Bari - CNR

Via G. Amendola, 122/A, 70126 Bari

lara.maistrello@unimore.it

RIASSUNTO

I tannini hanno notevoli proprietà antielmintiche nei confronti dei nematodi gastrointestinali dei ruminanti. Inoltre, essi sono tossici per numerosi funghi, batteri e lieviti. Pertanto, due esperimenti, uno *in vitro* e l'altro in vaso in serra, sono stati condotti al fine di valutare l'effetto di tannini estratti dal castagno nel controllo del nematode galligeno *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitw.. Nell'esperimento *in vitro* differenti concentrazioni in scala geometrica (da 0,32 a 20,48 g/L) sono state saggiate per il loro effetto sulla schiusura delle uova del nematode. Nell'esperimento in vaso, 100, 250 e 450 g/m² di tannini in soluzione acquosa, sono stati utilizzati al trapianto o al trapianto e due settimane dopo per verificare il loro effetto nel controllo del nematode. In entrambi gli esperimenti i trattamenti sono stati messi a confronto ad un controllo non trattato ed uno trattato con fenamiphos. Nell'esperimento *in vitro* è stato osservato un effetto nematostatico dei tannini, mentre in quello in vaso si è registrata una significativa riduzione del numero di uova e larve/g radice, della popolazione finale totale/cm³ di terreno e del tasso di riproduzione del nematode in confronto al controllo non trattato. Pertanto, l'uso dei tannini sembra offrire interessanti prospettive di applicazione in agricoltura biologica.

Parole chiave: *Meloidogyne javanica*, controllo, tannini da castagno

SUMMARY

THE EFFECTS OF TANNINS IN THE CONTROL OF *MELOIDOGYNE JAVANICA*

Tannins have been reported to possess antihelmintic properties especially for gastrointestinal nematodes in ruminants. Moreover, they are toxic to a wide range of fungi, bacteria and yeasts. Therefore, an *in vitro* and a glasshouse pot experiment were carried out to evaluate the effect of chestnut tannins on the control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitw.. In the *in vitro* experiment, different concentrations in a geometric scale (from 0.32 to 20.48 g/L), were tested for their effect on egg hatch of the nematode. In the pot experiment, 100, 250 and 450 g/m² of tannins in aqueous solutions, were used at transplant or at transplant and two weeks later to evaluate their effect on nematode control. In both experiments treatments were compared to untreated and fenamiphos treated controls. A nematostatic effect of tannins was observed in the *in vitro* experiment, whereas in the pot experiment a significant reduction of eggs and juveniles/g root, total soil population density and reproduction rates of the nematode were recorded. Therefore, the use of tannins seems to offer effective perspectives and their use could be suggested in an organic farming system.

Keywords: *Meloidogyne javanica*, nematode control, chestnut tannins

INTRODUZIONE

Tra i prodotti naturali estratti dalle piante, i tannini sono riportati in letteratura per le loro proprietà antielmintiche contro i nematodi gastrointestinali dei ruminanti (Hoste *et al.*, 2006). I tannini sono polifenoli secondari con un ampio spettro di azione tossica nei confronti di funghi, batteri e lieviti (Scalbert, 1991). Scarse informazioni sono disponibili sull'effetto dei tannini sui nematodi fitoparassiti, sebbene tali parassiti possano causare notevoli perdite di produzione a numerose colture di interesse agrario (Sasanelli, 1994).

L'obiettivo del presente lavoro è stato quello di valutare l'effetto dei tannini estratti da castagno nel controllo del nematode galligeno *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitw. attraverso due prove, una *in vitro* e l'altra, in condizioni controllate, in vaso su pomodoro.

MATERIALI E METODI

Prova *in vitro*

I tannini (Saviotan[®], Nuova Rivart, Radicofani, Siena) sono stati estratti da legno di castagno attraverso vapore, senza uso di solventi chimici, in forma polverulenta dopo disidratazione. Le soluzioni acquose di tannini a diverse concentrazioni, in scala geometrica da 0,32 a 20,48 g/L, sono state preparate per successive diluizioni della concentrazione più alta.

Sono stati quindi preparati gruppi di 50 masse d'uova di *M. javanica* raccolte da radici infestate di pomodoro. Le masse d'uova sono state raccolte in setaccini del diametro di 2 cm (215 µm di apertura della rete) che sono stati posti in piastre Petri del diametro di 3,5 cm.

Tre ml di ciascuna soluzione in prova sono stati poi aggiunti in ciascun setaccino. Acqua distillata ed una soluzione acquosa del nematocida di sintesi fenamiphos (5 µg/ml) sono stati usati come controllo. L'esperimento è stato condotto secondo uno schema sperimentale a randomizzazione con quattro ripetizioni per ciascun trattamento. Le osservazioni nelle soluzioni in prova e nel fenamiphos sono state effettuate per due settimane alla fine delle quali le larve emerse sono state contate e rimosse. Dopo la seconda settimana il test di schiusura è continuato in sola acqua distillata per ulteriori 10 settimane sino all'esaurimento della schiusura. Al termine del test le uova non schiuse sono state estratte col metodo di Hussey e Barker (1973) e la schiusura totale è stata espressa come percentuale rispetto al totale della popolazione iniziale (uova non schiuse + uova schiuse). I dati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi della varianza, dopo trasformazione dei valori percentuali secondo le tabelle di Bliss, e le medie confrontate col metodo della Differenza Minima Significativa (DMS).

Prova in vaso

Un secondo esperimento in vaso, in condizioni controllate, è stato condotto utilizzando un terreno artificialmente infestato con la stessa popolazione utilizzata nell'esperimento *in vitro* (5 uova e larve/cm³ di terreno). Sono stati considerati, oltre al gruppo dei testimoni non trattato e trattato con fenamiphos (60 L/ha), 3 gruppi di trattamenti con tannino: a) 100 g/m²; b) 250 g/m² e c) 450 g/m² effettuati o al solo trapianto o al trapianto e due settimane dopo. L'esperimento è stato condotto in serra secondo uno schema sperimentale a blocchi randomizzati con 10 ripetizioni, costituite da vasi in ognuno dei quali era stata trapiantata una piantina di pomodoro cv San Marzano, per ciascun trattamento. Dopo due mesi dai trapianti si è proceduto alla valutazione del grado di infestazione del nematode sulle radici, secondo una scala di valutazione da 0 a 5 (Taylor e Sasser, 1978), alla determinazione del numero di uova e larve/g di radice in ciascun apparato radicale (Hussey e Barker, 1973) e alla densità totale di popolazione nel terreno (Coolen, 1979), nonché del tasso di riproduzione del nematode ($r = Pf/Pi$ in cui Pf = popolazione finale e Pi = popolazione iniziale di *M. javanica*). I dati

ottenuti sono stati sottoposti ad analisi della varianza e le medie confrontate col test della DMS.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Nell'esperimento *in vitro* è stata evidenziata da parte delle diverse concentrazioni delle soluzioni di tannino una forte azione nematostatica, in quanto fino alla quinta settimana, la schiusura delle uova è rimasta significativamente inferiore rispetto al controllo non trattato (figura 1). A concentrazioni di tannino più elevate (10,24 g/L), l'azione nematostatica si è protratta fino alla settima settimana. Al termine del test i diversi trattamenti non hanno differito significativamente dal controllo non trattato, eccetto il fenamiphos (figura 1). Considerando la prova in vaso, tutti i trattamenti hanno ridotto significativamente, rispetto al controllo non trattato, l'indice di galle (con esclusione della dose 100 g/m² e 250 g/m² applicata al solo trapianto), il numero di nematodi nelle radici e nel terreno, nonché il tasso di riproduzione (tabella 1).

L'acido tannico è una sostanza attrattiva per *M. arenaria* e *M. incognita*, repellente per *Radophulus similis* e senza alcun effetto attrattivo o repellente per il nematode cisticolo *Heterodera glycines* (Hewlett *et al.*, 1997). Poche sostanze con effetti attrattivi o repellenti sono state identificate per *M. javanica* (Bird, 1959; 1960; Oteifa e Elgindi, 1961). L'applicazione di sostanze attrattive o repellenti al momento del trapianto può servire a disorientare i nematodi fitoparassiti nella localizzazione degli apparati radicali delle piante ospiti. Pertanto, l'osservato effetto nematostatico delle soluzioni acquose di tannino in combinazione con le caratteristiche "disorientanti" possedute dalle medesime soluzioni, potrebbe rappresentare una possibile strategia tattica di controllo dei nematodi fitoparassiti, alternativa al ripetuto uso dei prodotti chimici di sintesi. I risultati ottenuti con l'esperimento in vaso sembrano confermare tale ipotesi.

In conclusione, l'uso dei tannini appare particolarmente interessante per il controllo dei nematodi galligeni in un regime di agricoltura sostenibile, sebbene, in ogni caso, ulteriori studi siano necessari per indagare l'effetto dei tannini in differenti tipi di terreno e su differenti specie di nematodi fitoparassiti.

Figura 1. Rappresentazione grafica della schiusura di masse d'uova di *M. javanica* trattate per due settimane con soluzioni acquose a diversa concentrazione di tannino o con fenamiphos (5 µg/ml) e successivamente incubate in sola acqua distillata

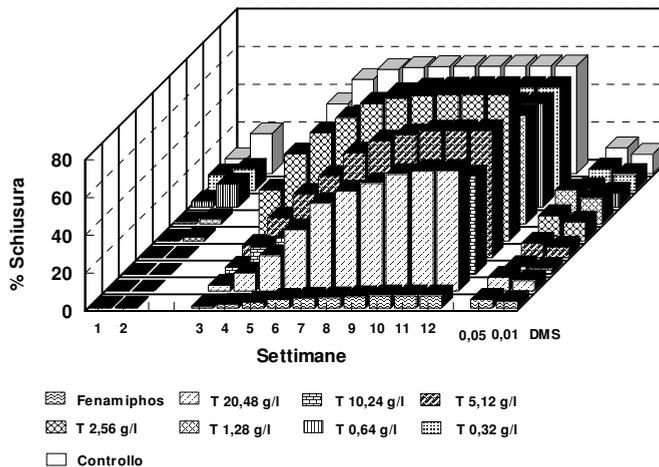


Tabella 1. Effetto di differenti concentrazioni di soluzioni acquose di tannini nel controllo di *Meloidogyne javanica* su pomodoro (cv S. Marzano) in vaso ed in condizioni controllate

Trattamento	Dose (g o ml/m ²)	Tempo di applicazione	Indice di galle (0-5)		Uova e larve/g radice		Pop. finale (uova e larve/cm ³ di terreno)		Pf/Pi	
Controllo non trattato			4,0 ¹	A	16.200	A	590	A	120	A
Fenamiphos	6	Al trapianto	1,8	D	2.480	E	55	D	11	D
Tannini	100	Al trapianto	3,8	AB	10.100	BC	290	BC	58	BC
Tannini	250	Al trapianto	3,7	ABC	7.700	BCD	250	BCD	50	BCD
Tannini	450	Al trapianto	2,7	BCD	4.470	DE	180	BCD	36	BCD
Tannini	100	Al trapianto + 2 sett. dopo	3,0	ABCD	9.900	BC	380	B	76	B
Tannini	250	Al trapianto + 2 sett. dopo	2,7	BCD	4.900	CDE	150	CD	30	CD
Tannini	450	Al trapianto + 2 sett. dopo	2,5	CD	5.270	BCDE	150	CD	30	CD

¹ Ciascun valore è la media di 10 ripetizioni

² I dati affiancati in ciascuna colonna da lettere uguali non sono statisticamente differenti tra loro in accordo al test della Differenza Minima Significativa (P=0,01)

Ringraziamenti

La presente ricerca è stata promossa e sostenuta finanziariamente dalla Società Agrostar S.r.l. (Cavriago, Reggio Emilia), dopo aver intravisto le potenzialità di applicazione dei tannini nella difesa delle piante, anche grazie alle molteplici intuizioni del Dr L. Marechino (Research & Development Division, Nuova Rivart S.r.l.). Gli autori ringraziano inoltre il CNR ed il SAV per il supporto tecnico-scientifico.

LAVORI CITATI

- Bird A.F., 1959. The attractiveness of roots to the plant-parasitic nematodes *Meloidogyne javanica* and *M. hapla*. *Nematologica*, 4, 322-335.
- Bird A.F., 1960. Additional notes on the attractiveness of roots to plant-parasitic nematodes. *Nematologica*, 5, 217.
- Coolen W.A., 1979. Methods for the extraction of *Meloidogyne* spp. and other nematodes from roots and soil. In: Root-knot nematodes (*Meloidogyne* species), Systematics, Biology and Control. Lamberti F. e Taylor C.E. eds, 317-329.
- Hewlett T.E., Hewlett, E.M., Dickson, D.W., 1997. Response of *Meloidogyne* spp., *Heterodera glycines* and *Radopholus similis* to Tannic Acid. *J. Nematol.*, 29, 737-741.
- Hoste H., Jackson F., Athanasiadou S., Thamsborg S.M. Hoskin, O.S., 2006. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. *Trends in Parasitol.*, 22, 253-261.
- Hussey R.S., Barker K.S., 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. *Plant Dis. Repr.*, 57, 1025-1028.
- Oteifa B.A., Elgindi D.M., 1961. Physiological studies on host-parasite relationship on the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica*. *Plant Dis. Repr.*, 45, 928-929.
- Sasanelli N., 1994. Tables of nematode-pathogenicity. *Nematologia med.*, 22, 153-157.
- Scalbert A., 1991. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochem.*, 30, 3875-3883.
- Taylor A.L., Sasser J.N., 1978. Biology, Identification and Control of Root-knot Nematodes (*Meloidogyne* spp.). Raleigh, North Carolina State University Graphic, N.C. (U.S.A.), 111 pp.