

AURELIO CIANCIO*, SERGIO MOLINARI*, TRIFONE D'ADDABBO*

Innovazioni nella difesa delle colture da nematodi fitoparassiti

I nematodi sono presenti sul pianeta da circa mezzo miliardo di anni e rappresentano un gruppo animale di successo, diversificato e specializzato, presente in natura in tutte le nicchie ecologiche disponibili. Nel terreno, molti gruppi svolgono un ruolo utile come decompositori o predatori, e solo una piccola frazione del totale delle specie è nota per parassitare le piante. Fra queste, alcune specie inducono un impatto economico significativo sulle colture, e risultano essere un serio fattore limitante per le produzioni agrarie.

Questa constatazione spiega l'attenzione dedicata nelle ultime decadi ai nematodi fitoparassiti e gli sforzi finalizzati al loro contenimento. Come per altre discipline afferenti alla protezione delle piante, la nematologia è oggi in una fase matura in cui l'ottimismo iniziale sull'uso generalizzato di prodotti chimici e fumiganti ha lasciato spazio a una visione più pragmatica e olistica, finalizzata alla gestione integrata e razionale delle fitoparassitosi.

Le specie fitoparassite afferiscono principalmente ai nematodi galligeni, cisticoli e a specie vettrici di virus. Altri gruppi d'importanza agraria includono nematodi delle lesioni e fogliari. Le perdite di produttività variano in funzione delle specie e delle colture interessate. Diverse stime, spesso non in accordo fra loro, collocano le perdite di produzione causate dai nematodi, incluso il prodotto non commerciabile, in un ordine di grandezza variabile dal 5 al 20% della produzione agraria mondiale. La stima dell'impatto economico causato dai nematodi non è infatti agevole, variando sia in funzione del tipo di danno causato che del parametro agronomico o economico utilizzato per la sua quantificazione (ad es. resa colturale, percentuale di prodotto non com-

* *Istituto per la Protezione delle Piante, CNR, Bari*

merciabile ma destinabile ad altro uso agroindustriale, costi diretti o indiretti derivanti dalle strategie di difesa adottate).

Nei paesi maggiormente industrializzati l'espansione di attività agricole di tipo sostenibile, integrato o "biologico" richiede lo sviluppo di nuovi fattori di produzione e la ricerca di tecnologie alternative ai fitofarmaci per produzioni specializzate può avere anche ricadute applicabili nell'agricoltura convenzionale. In questa relazione verranno presi in esame alcuni aspetti teorici e applicativi relativi alle innovazioni introdotte nella gestione dei problemi nematologici, con particolare riguardo alle procedure maggiormente ecocompatibili.

I. CENNI SU NEMATODI VETTORI DI VIRUS, STRATEGIE DI DIFESA E PREVENZIONE

Due gruppi di nematodi, appartenenti alle famiglie Longidoridae (Dorylaimida) e Trichodoridae (Triplonchida), includono specie in grado di trasmettere virus delle piante. In particolare, i Longidoridae trasmettono Nepovirus, mentre i Trichodoridae sono vettori di Tobravirus (Lamberti e Roca, 1987; Decraemer & Robbins, 2007).

Il GFLV, *Grapevine fanleaf virus*, è il più importante virus trasmesso da nematodi in Italia. Esso è l'agente causale del complesso dell'arricciamento infettivo della vite, noto come "fanleaf", malattia molto significativa dal punto di vista economico, che causa deformazioni di foglie e steli, estesi giallumi fogliari con consistenti perdite di produzione (Lamberti, 1991; Martelli, 2002). GFLV è un Nepovirus che può essere anche trasmesso per via meccanica e il cui vettore naturale è *Xiphinema index*, specie diffusa in molte regioni del mondo in cui la vite è coltivata. Le perdite di produzione sono consistenti, per via dei foci epidemici che si sviluppano progressivamente nei vigneti infestati dal vettore, ovvero quando viene utilizzato materiale di propagazione non certificato.

Recenti indagini hanno mostrato che GFLV è ancora endemico, in Italia, nel materiale di propagazione (Bica et al., 2002). *Xiphinema index* è purtroppo endemico nelle aree del Mediterraneo, ma non è stato rinvenuto in campi di pre-moltiplicazione, per cui è possibile che il virus sia diffuso con partite di materiale di propagazione infetto (Bica et al., 2002). *Xiphinema index* è spesso risultato associato a GFLV in Italia meridionale (Catalano et al., 1992). In Puglia, questo nematode è stato rinvenuto negli ultimi anni con frequenze del 28% dei campioni analizzati, provenienti da parcelle da reinvestire a vite ovvero da vigneti in corso. Si tratta di un nematode longevo, il cui ciclo di vita

può durare più di un anno, in grado di rimanere virulifero per lunghi periodi di tempo e di acquisire particelle virali anche alimentandosi sui residui delle radici presenti nel terreno dopo la rimozione delle piante (Raski et al., 1965; Taylor e Raski, 1964). L'associazione virus-vettore è molto specifica e le particelle di GFLV acquisite durante la fase di alimentazione rimangono adsorbite sulla superficie interna dello stiletto e dell'esofago, dove possono restare per lunghi periodi di tempo. Il virus viene rilasciato attraverso lo stiletto quando il vettore si alimenta su nuove radici, ma viene perduto con la muta (Taylor e Robertson, 1970; Belin et al., 2001).

Altri importanti virus trasmessi da nematodi in Italia sono: SLRV, *Strawberry Latent Ringspot Virus*, responsabile della malattia nota come "rosetta a foglie saliciformi del pesco", caratterizzata da internodi raccorciati con vegetazione affastellata e trasmesso da *Xiphinema diversicaudatum*, e AILV, *Artichoke Italian Latent Virus*, trasmesso da *Longidorus apulus* su carciofo (Lamberti e Roca, 1987).

Una fondamentale strategia di contenimento della diffusione di GFLV o altri virus si basa sull'uso di materiale di propagazione certificato esente dalla malattia. Con questa procedura di difesa si mira infatti a prevenire la dispersione del virus. A tal fine numerosi progressi sono stati effettuati negli ultimi anni, e sono disponibili tecniche biologico-molecolari basate sia sull'uso di anticorpi (ELISA) che su sonde specifiche con PCR, in grado di rivelare la presenza del virus nei tessuti vegetali o anche in singoli esemplari del vettore (Esmenjaud et al., 1993; 1994; Rowhani et al., 1993). Tecniche basate su sonde a DNA fluorescente consentono di accertare non solo la presenza del virus, ma d'individuare singoli polimorfismi nucleotidici, per via dell'elevata specificità. Queste proprietà, correlate all'informazione presente nel genoma virale, hanno una pratica applicazione in epidemiologia e diagnostica quarantaria, ovvero quando è necessario identificare isolati endemici in specifiche aree geografiche.

Quando il vettore è presente in campo, le risorse per evitare la sua dispersione con il vigneto in atto sono molto limitate. Dopo l'espianto, la rotazione con colture non ospiti per alcuni anni rimane sempre una strategia necessaria e può essere utile integrata con trattamenti nematocidi con prodotti come l'1,3 dicloropropene, in grado di abbattere la popolazione del vettore (Lamberti, 1991). In assenza di fumigazione, i vigneti infestati da *X. index* normalmente richiedono un periodo di quarantena più lungo (4-7 anni), prima che sia possibile il reimpianto. In ogni caso, sono sempre necessari campionamenti replicati nel tempo e nello spazio per verificare l'assenza o l'eliminazione del vettore.

La ricerca di materiale vegetale resistente, sebbene sia un'alternativa molto promettente, è resa difficile dalla durata delle strategie di miglioramento genetico per portinnesti resistenti e che siano compatibili per l'innesto (Esmenjaud e Bouquet, 2008). Fonti di resistenza a *X. index* sono presenti in *Vitis candicans*, *V. solonis*, *V. arizonica*, *V. rufotomentosa* e *V. smalliana* (Kunde et al., 1968). Fra i portinnesti e gli ibridi di *Vitis* spp., a parte la moderata resistenza a *X. index* del 1613C, resistenza moderata al nematode è stata rinvenuta anche nei portinnesti Freedom e Harmony, ottenuti sempre dal 1613C (Harris, 1988). Purtroppo questi portinnesti non manifestano resistenza al virus. Nella cultivar Börner (ibrido di *V. riparia* × *V. cinerea*), è riportata resistenza sia a *X. index* che a GFLV (Becker 1989; Becker e Sopp, 1990). Tuttavia, in prove di campo condotte in Francia, l'infezione da GFLV su Cabernet-Sauvignon innestato su Börner non ha mostrato differenze significative dagli altri portinnesti suscettibili (Esmenjaud e Bouquet, 2008).

Interessanti fonti di resistenza sono state rinvenute anche in *Muscadinia rotundifolia*. Purtroppo la distanza genetica che separa questa specie dal genere *Vitis* non la rende compatibile e suscettibile d'impiego come portinnesto per *V. vinifera* (Bouquet & Hevin, 1978; Bouquet, 1980). Alcuni ibridi brevettati di *V. vinifera* × *M. rotundifolia* hanno manifestato resistenza a GFLV (Walker et al., 1994), in seguito rivelatasi parziale, per via del fatto che consentivano il movimento del virus nei tessuti della pianta limitando i danni a livello del frutto. Fra questi, solo il VR 039-16 viene considerato in California per i siti a rischio di fanleaf (Esmenjaud e Bouquet, 2008). Questo portinnesto presenta però altri inconvenienti, fra cui la suscettibilità a nematodi galligeni e la difficile moltiplicazione.

Alcuni portinnesti sono stati ottenuti in Francia dall'incrocio di ibridi F₁ *V. vinifera* × *M. rotundifolia* (resistenti a nematodi) col portinnesto 140 Ruggeri (*V. berlandieri* × *V. rupestris*). L'ibrido Mtp 3146-1-87 è tollerante alla clorosi ed è usato nel Mediterraneo. Esso ha mostrato in campo un notevole ritardo nell'infezione da GFLV e, rispetto a SO4 e 140 Ruggeri, una maggior produzione (Bouquet et al. 2003). Questo portinnesto richiede però un affinamento di alcune caratteristiche agronomiche per quanto riguarda la facilità di moltiplicazione.

2. METODOLOGIE BASATE SU ANTAGONISTI BIOLOGICI: ASPETTI TEORICI (MODELLISTICA) E PRATICO-APPLICATIVI

Il terreno è un sistema complesso in cui i nematodi fitoparassiti coesistono con numerosi antagonisti naturali a diverso grado di specializzazione, come

funghi acquatici, ifomiceti, batteri, amebe o predatori come nematodi, tardigradi e acari (Sayre e Starr 1988; Stirling, 1991; Ciancio, 2000). L'ambiente tellurico presenta infatti una grande biodiversità microbiologica, dell'ordine di 10^3 specie per grammo di terreno (Torsvik et al., 1990). Sebbene la maggior parte dei microrganismi svolga funzioni come la decomposizione o il riciclo dei nutrienti, nei terreni non coltivati è spesso possibile osservare una grande diversità di antagonisti. L'uso indiscriminato di nematocidi di sintesi e di fumiganti spesso comporta, nei terreni agricoli, una riduzione significativa di tutte le specie, incluso quelle utili, sia dal punto di vista della densità che per quanto concerne la loro biodiversità.

2.1 Principali antagonisti

Gli antagonisti di nematodi rientrano principalmente in due gruppi: batteri e funghi. I batteri del genere *Pasteuria* sono antagonisti specifici. Si tratta di specie Gram-positive afferenti alle Bacillaceae, specializzate e caratterizzate da endospore infettive e durevoli, dal tipico aspetto a ventosa (Sayre e Starr, 1988; Stirling, 1991; Sturhan et al., 1994). Numerose specie attaccano nematodi fitoparassiti, ma il gruppo include anche specie parassite di nematodi predatori o di vita libera, presenti sia in terreni agrari che in terreni non coltivati. Quasi tutte le specie di *Pasteuria* sono state osservate in nematodi, con l'eccezione di *P. ramosa*, parassita di *Daphnia* spp. *Pasteuria penetrans* è parassita di nematodi galligeni del genere *Meloidogyne* (Mankau, 1975; Stirling, 1991; Sayre e Starr, 1988). Altre specie sono: *P. thornei*, descritta da *Pratylenchus brachyurus* (Starr e Sayre, 1988); *P. nishizawae*, descritta da *Heterodera glycines* (Noel et al., 2005); *Candidatus P. usgae*, descritta da *Belonolaimus longicaudatus* (Giblin Davis et al., 2003) e *P. hartismeri* descritta da *Meloidogyne ardenensis* (Gowen et al., 2008).

Tutte le specie di *Pasteuria* hanno un'endospora durevole provvista di fibre parasporali. Essa è sia una forma di resistenza che un propagulo infettivo, è molto resistente alle alte temperature e alla disidratazione, e resta vitale per molto tempo (Mankau, 1975; Stirling, 1991). Le fibre parasporali consentono l'adesione all'ospite, che è molto specifica. Nel genere *Pasteuria* sono presenti specie che sporulano nell'ospite adulto (*P. penetrans*, *P. nishizawae*), negli stadi giovanili (Sturhan et al., 1994; Ciancio, 1995a) o in entrambi gli stadi dell'ospite (Ciancio, 1995a; Galeano et al., 2003).

L'infezione avviene in maniera passiva per adesione dell'endospora alla cuticola del nematode, grazie ai movimenti di quest'ultimo nel terreno. Dopo

una fase di attivazione, il processo germinativo penetra nella cuticola, originando la fase parassitaria con la proliferazione di un tallo dicotomico. Il ciclo termina con la sporulazione e la formazione di nuove endospore all'interno del nematode che vengono disperse nel terreno, per iniziare a un nuovo ciclo alla morte di quest'ultimo.

Altri batteri Gram-negativi sono stati recentemente individuati e mostrano un ciclo parassitario simile a quello di *Pasteuria* spp. Essi sono in grado di aderire alle larve di *Meloidogyne* spp. e di germinare al loro interno, dando origine a una fase infettiva che si conclude con la morte dell'ospite. Questo gruppo di batteri, non coltivabili, è attualmente allo studio. Inoltre, applicazioni di tipo metagenomico hanno mostrato l'esistenza di una grande biodiversità di specie batteriche associate a nematodi d'importanza agraria, suggerendo che quanto oggi è noto rappresenti solo una frazione delle specie esistenti (Nour et al., 2003).

Fra i funghi che attaccano i nematodi, solo alcune specie hanno un interesse pratico. Gli organi di cattura di alcuni ifomiceti (per esempio le trappole di *Arthrobotrys* spp.) sono strutture molto sofisticate ma non specifiche, finalizzate ad acquisire fonti aggiuntive di nutrimento per fronteggiare la competizione da parte di altri microrganismi. In altri casi è invece la biologia degli stessi organismi a non renderli adatti a uno scopo pratico, come per *Catenaria anguillulae*, un fungo acquatico comune nei terreni agrari. Sebbene sia molto diffuso, la necessità di un ambiente acquatico ne limita l'applicazione. Altre specie, pur provviste di veri organi di attacco (per esempio le cellule "cannone" di *Haptoglossa* o le spore a uncino di *Harposporium*) hanno un ruolo marginale nell'ecologia del terreno, sono coltivabili con difficoltà o interessano solo i nematodi di vita libera.

Applicazioni con alcuni prodotti industriali a base di micelio sono riportate in letteratura per *A. irregularis* (Cayrol, 1983), *A. oligospora* e *Dactylellina dactyloides* (Jaffee, 2000; 2003). Queste specie sono caratterizzate da trappole formate da ife adesive o anelli costrittori di cui si servono per la cattura dei nematodi. Risultati di maggior interesse sono riferiti per ifomiceti quali *Pochonia chlamydosporia*, parassita di uova di nematodi galligeni e cisticoli (Kerry et al., 1993; De Leij et al., 1993; Bourne et al., 1994; Kerry e Bourne, 1996) o per il predatore *Dactylellina ellipsospora* (syn. *Monacrosporium ellipsosporum*) (Gaspard e Mankau, 1987; Jaffee e Muldoon, 1994; Jaffee, 2003) (Tabella 1). Quest'ultima specie forma nella rizosfera delle reti di ife provviste di bottoni adesivi, che immobilizzano i nematodi prima di essere colonizzati dal micelio del predatore. Un altro fungo parassita d'interesse agrario è l'ifomicete *Hirsutella rhossiliensis*, caratterizzato da conidi adesivi che germinano in seguito

all'adesione passiva all'ospite, per svilupparsi con un micelio al suo interno. Numerose sperimentazioni hanno chiarito per questa specie il rapporto di densità dipendenza con l'ospite e i fattori biotici e abiotici in grado d'influenzare l'attività (Jaffee e McInnis, 1991; Jaffee et al., 1992).

2.2 *Modellistica*

L'approccio sperimentale allo studio degli antagonisti dei nematodi si basa sull'osservazione ripetuta nel tempo di un microcosmo (rizosfera), col rilievo dei dati relativi al parassitismo e alla densità di ospiti e antagonisti. Per interpretare le dinamiche di popolazione è però necessario disporre di un quadro teorico sulla regolazione in natura operata dagli antagonisti. L'insieme costituito dai nematodi fitoparassiti, antagonisti, dalle altre componenti biotiche del terreno, unitamente all'apparato radicale e ai fattori pedologici e ambientali, costituisce un tipico sistema complesso provvisto di componenti caotiche che rendono difficile prevederne l'evoluzione nel tempo (Ciancio, 2000). Sono disponibili però dei modelli interpretativi in grado di far luce sui meccanismi di regolazione delle popolazioni in natura. La modellistica delle relazioni ospite-parassita trae ausilio dagli studi teorici svolti nel passato e dalle problematiche legate al monitoraggio di antagonisti o parassitoidi (Hassel, 1978). Lotka e Volterra, come in seguito Anderson e May (1981), hanno costruito una solida base teorica su cui sviluppare modelli e simulazioni, utili anche per invertebrati e antagonisti.

I dati delle dinamiche di popolazione rappresentano la base quantitativa dell'analisi delle relazioni densità-parassitismo nel tempo e/o nello spazio (Jaffee, 1992) e delle relazioni densità-dipendenti (Jaffee et al., 1990). Uno degli obiettivi dei modelli è valutare gli effetti di medio e lungo termine dei trattamenti inondativi ovvero dei semplici inoculi, effettuati con la trasmissione dell'infezione nella popolazione ospite, da parte dei microrganismi citati. Il primo modello generale in grado di descrivere una regolazione stabile nel tempo (Lotka-Volterra, LV), si basa su un sistema di due equazioni applicabile a un ampio spettro di situazioni. Esso utilizza quattro costanti che descrivono l'antagonismo fra due specie, una delle quali (X) è la preda/ospite mentre la seconda (Y) è il predatore/parassita. Per l'applicazione al sistema nematodi-antagonisti, la densità dei nematodi nel tempo t è riferita a un volume del microcosmo (per es. 100 cm³ o un litro di terreno della rizosfera) mentre la prevalenza (percentuale di vero parassitismo o di esemplari infetti) è usata per l'antagonista. Nella sua forma più semplice, alle differenze, ogni valore di X

e Y può essere calcolato a partire da valori iniziali, con somme o differenze a intervalli di tempo regolari (giorni, settimane o mesi, in funzione della scala del campionamento usata). Le equazioni 1) e 2) del modello originano, con le costanti appropriate, delle fluttuazioni con cicli regolari nel tempo:

$$X_{t+1} = X_t + a X_t - b X_t Y_t \quad 1)$$

$$Y_{t+1} = Y_t + c X_t Y_t - d Y_t \quad 2)$$

Per una popolazione di nematodi con un singolo parassita specifico (per esempio *Pasteuria*), le costanti sono: il tasso a di moltiplicazione dell'ospite, il tasso b di declino dovuto all'antagonista (o prevalenza), il tasso c di crescita della popolazione dell'antagonista (o prevalenza), e il tasso d di riduzione del parassita (o prevalenza), per via della mortalità naturale del parassita.

In questo modello è possibile osservare la relazione fra due specie su un solo piano cartesiano chiamato "spazio delle fasi" (fig. 1a). Nel solo caso di relazioni stabili, le simulazioni producono un ciclo con un'orbita a "satellite" visibile quando le osservazioni (reali o simulate) sono proiettate su questo piano. Il ciclo si produce per via delle fluttuazioni dei valori nel tempo e ha un andamento antiorario. Inoltre, la sua forma varia in funzione dei punti iniziali usati per le dinamiche simulate (fig. 1b,c). Le densità e prevalenze simulate tendono a chiudere il ciclo intorno a un singolo punto chiamato "punto d'equilibrio", man mano che i valori iniziali delle due variabili si avvicinano alle sue coordinate. In termini dinamici, al punto d'equilibrio non si osservano variazioni o fluttuazioni nel tempo di prevalenza e densità, che si riducono a due rette orizzontali ($dx/dt = dy/dt = 0$). I valori delle coordinate del punto d'equilibrio (indicati con un asterisco) sono dati dai rapporti fra le costanti usate nel modello: $X^* = d / c$ e $Y^* = a / b$.

Questo modello è stato applicato allo studio di una popolazione di *Xiphinema diversicaudatum* su pesco e di *Tylenchulus semipenetrans* su agrumi, ciascuna associata a una specifica *Pasteuria* sp. (Ciancio, 1995b; 1996). Sebbene le dinamiche reali delle popolazioni studiate ricadano nei cicli simulati dal modello, quest'ultimo non fornisce informazioni circa i meccanismi di regolazione, per via della mancanza di dettagli analitici. Per via della sua regolarità, inoltre, esso non spiega gli effetti delle numerose variabili esterne coinvolte nel parassitismo in natura e altri effetti stocastici. Le equazioni 1) e 2) hanno comunque migliorato l'interpretazione dei dati, fornendo un quadro più attendibile rispetto ad altri modelli applicabili a insetti, per es.

quello di Nicholson-Bailey, per via delle instabilità prodotte da quest'ultimo (Atibalentja et al., 1998).

Il modello G sviluppato da Anderson & May (1981), consente un'interpretazione più analitica della regolazione da microparassiti come *Pasteuria* spp. Nella sua forma alle differenze, esso è il seguente:

$$H_{t+1} = H_t + r H_t - \alpha Y_t \quad 3)$$

$$X_{t+1} = X_t + a (X_t + Y_t) - b X_t - v W_t X_t + \gamma Y_t \quad 4)$$

$$Y_{t+1} = Y_t + v W_t X_t - (\alpha + b + \gamma) Y_t \quad 5)$$

$$W_{t+1} = W_t + \lambda Y_t - (\mu + v H_t) W_t \quad 6)$$

In questo modello H corrisponde alla densità di popolazione in un volume di spazio (nel caso dei nematodi: la rizosfera); X indica la frazione della popolazione ospite parassitata, ma non ancora in grado di trasmettere il parassita; Y indica la componente della popolazione in grado di trasmettere l'infezione e W corrisponde alla densità dell'antagonista nello stesso volume (rizosfera). Il sistema calcola per ogni tempo t l'incremento o variazione delle varie popolazioni. Le costanti sono a : tasso di moltiplicazione dell'ospite, b : tasso di mortalità dell'ospite, α : mortalità indotta dal parassitismo, v : tasso di variazione da infetto a infettivo dell'ospite, γ : tasso di guarigione dell'ospite, λ : numero di propaguli del parassita prodotti per ospite e μ : tasso di mortalità del parassita.

Utilizzando questi modelli è possibile simulare, noti i valori della costanti e le densità iniziali delle due specie, le dinamiche di popolazione per ottenere informazioni utili sul sistema, per es. sulle quantità di propaguli dell'antagonista da introdurre nel terreno per incrementare le probabilità di ottenere delle estinzioni locali. Le popolazioni dei nematodi, infatti, sono confinate in un microcosmo che corrisponde al volume di terreno esplorato dalle radici, e la mobilità delle larve è limitata alla ricerca di un sito di penetrazione, mentre i movimenti su distanze maggiori risultano dall'azione dell'uomo o dal trasporto passivo (percolazione, acque d'irrigazione ecc.). L'estinzione locale pertanto si riferisce al microcosmo, al cui interno devono essere eseguite le osservazioni ripetute nel tempo (Jaffee e McInnis, 1991; Jaffee, 1992; Verdejo-Lucas, 1992; Ciancio, 1995b). Poiché il campionamento è spesso di tipo distruttivo, per poter analizzare la relazione densità-dipendenti è utile ripor-

tare, per ciascuna osservazione temporale, le densità dei due organismi nello spazio della fasi rappresentato dalle densità dell'ospite e del parassita. È anche possibile effettuare un unico campionamento nello spazio, con numerose ripetizioni, per ricavare un quadro delle relazione densità-parassitismo senza effettuare uno studio prolungato nel tempo (Jaffee e McInnis, 1991; Ciancio, 1996), poiché le diverse associazioni ospite-parassita non sono sincrone. La rappresentazione nel piano delle fasi di un numero sufficiente di osservazioni consente quindi la ricostruzione del ciclo.

Anche in questo modello, nello spazio delle fasi le variazioni temporali delle due popolazioni seguono un'orbita circolare ad andamento antiorario, con un numero elevato di cicli possibili, in funzione del punto d'avvio della simulazione. Anche in questo caso si osservano punti d'equilibrio, che rappresentano il sistema quando le densità restano costanti nel tempo. Sono questi punti, o meglio la regione dello spazio di contorno che rimane stabile, a rappresentare e simulare gli effetti osservati in campo di soppressività del terreno o di regolazione biologica. Come indicato da Anderson & May (1981), il punto d'equilibrio della popolazione totale dell'ospite H^* dipende dal suo tasso di evasione dalla classe "infetti" ($\Gamma = \alpha + b + \gamma$), dal coefficiente di trasmissione dei propaguli ($\beta = v\lambda / \mu$) e dal numero totale di stadi infettivi prodotti per ospite: $\Lambda = (\alpha + b + \gamma) / \lambda$. Per la densità dell'antagonista, il suo punto d'equilibrio W^* dipende dal tasso di crescita dell'ospite ($r = a - b$), dal tasso Γ , dalla mortalità indotta dal parassitismo (α) e dal tasso di variazione dell'ospite, da infetto a infettivo (v).

Le simulazioni realizzate con questo o altri modelli ancor più complessi, sebbene non siano in grado di prevedere l'evoluzione nel tempo di un sistema naturale per via di perturbazioni esterne e di componenti caotiche proprie, ci permettono di conoscere il meccanismo di regolazione naturale. Sulla base di queste informazioni è possibile ricavare delle indicazioni pratiche utili, per esempio stimare le dosi dei trattamenti con gli antagonisti e i tempi richiesti per ottenere l'effetto desiderato, con l'introduzione di antagonisti ovvero favorendo il loro incremento, se già presenti nel sistema (Jaffee, 1992; Ciancio, 1995b; 1996; Atibalentja et al., 1998; Ciancio e Quenehervé, 2000).

2.3 Aspetti pratici e applicativi

Numerose prove sperimentali con *P. penetrans* hanno mostrato interessanti potenzialità. Questa specie, a lungo considerata un parassita obbligato (Mankau, 1975; Stirling, 1991; Sayre e Starr, 1988; Williams et al., 1989), è l'agen-

te biologico più efficace per il controllo dei nematodi galligeni (Tabella 1). Recenti progressi (Hewlett, com. pers.) indicano che la sua coltivazione *in vitro* è possibile. La produzione di endospore su larga scala è attualmente nella fase di passaggio dal laboratorio all'industria. Negli Stati Uniti è in corso di registrazione un prodotto a base di endospore di *P. usgae* ottenute con fermentazione su substrati artificiali, per il controllo di *Belonolaimus longicaudatus*. Anche il sequenziamento del genoma di *P. penetrans* è in fase avanzata (Davies, com. pers.) e indica una parentela con *Bacillus subtilis*. Con la produzione di endospore a basso costo e su larga scala, lo sfruttamento di questi batteri sarà reso possibile. Resta da chiarire il ruolo di fattori come l'elevata specificità di adesione all'ospite, da controbilanciare con l'uso di più isolati.

Anche alcuni funghi nematofagi mostrano fattori favorevoli allo sviluppo di prodotti applicativi. Per *P. chlamydosporia*, ad esempio, è accertata una specializzazione parassitaria legata a una serinproteasi (VCP1) attiva nelle prime fasi di penetrazione dell'ifa nell'uovo. Questo enzima è presente con varianti dovute, nel gene codificante, a polimorfismi che, cambiando la composizione amminoacidica dell'enzima, ne alterano la conformazione molecolare e la relativa funzionalità. La VCP1 mostra, negli isolati provenienti da nematodi galligeni, maggiore efficacia nella lisi della cuticola di *Meloidogyne*, mentre altre varianti, presenti in isolati provenienti da nematodi cisticoli del genere *Heterodera*, mostrano maggior efficacia sulla cuticola di queste specie (Morton et al., 2003). Questa specializzazione parassitaria suggerisce un'approfondita conoscenza degli isolati da utilizzare e dei nematodi bersaglio, prima di avviare un programma applicativo con questo fungo.

Altri fattori devono essere considerati nella selezione dei funghi nematofagi da applicare, come la presenza di clamidospore, che conferisce una maggiore longevità del preparato e facilità di dosaggio. Questo fattore favorisce *P. chlamydosporia* rispetto ad altri fomiceti, per via del gran numero di clamidospore che alcuni isolati producono. In *H. rhossiliensis* la trasmissione della spora al nematode è influenzata dal potenziale della soluzione circolante nel terreno. Questo fungo è densità-dipendente, ma può estinguersi in assenza dell'ospite e sviluppa epidemie locali in tempi molto lunghi (Jaffee, 1992). Un fattore importante è la dimensione dei pori del terreno, e quindi la sua struttura, poiché l'infezione dell'ospite avviene attraverso conidi infettivi posti all'apice di una fialide, prodotta perpendicolarmente all'ifa. Il diametro dei pori del terreno in cui l'ifa e le fialidi vengono esposte influenza il parasitismo. In terreni sabbiosi, con pori (e particelle) di grandi dimensioni, la probabilità del parasitismo è inferiore rispetto a quanto osservabile in terreni limosi, dato che un maggior volume aumenta la probabilità dell'ospite

di evadere l'infezione passiva. In terreni molto compatti, viceversa, la scarsa mobilità dei nematodi rende meno probabile l'adesione delle spore (Jaffee et al., 1990). *Hirsutella rhossiliensis* è stata rinvenuta in Italia in associazione a nematodi Longidoridae (Ciancio et al., 1986) e risulta endemica in Sicilia e in Campania, dove è stata anche osservata su *Heterodera daverti* e larve di *H. goettingiana*.

Infine, un fattore importante da considerare nell'approccio sperimentale riguarda la conoscenza approfondita della biologia degli antagonisti e delle caratteristiche proprie degli organismi con cui interagire. Per *P. chlamydosporia*, ad esempio, oltre la specificità parassitaria, è nota la variabilità degli isolati nella capacità di colonizzare terreno e rizosfera, e come questo fattore risenta della presenza degli apparati radicali delle piante utilizzate nella rotazione (Bourne et al., 1994). Un ulteriore fattore da considerare è l'impatto ambientale di queste specie, e la potenziale attività contro altri organismi o specie superiori, incluso l'uomo. Alcuni funghi considerati nematofagi sono patogeni per l'uomo, e questi fattori possono essere importanti. Per le ragioni pratiche e applicative citate, il monitoraggio di un isolato dopo la sua introduzione nell'ambiente è, pertanto, un fattore chiave: sono oggi disponibili tecnologie basate sulla PCR di geni specifici e sul riconoscimento di particolari regioni del DNA presenti in una sola specie o un isolato (Hirsch et al., 2001; Mauchline et al., 2002; Ciancio et al., 2005). È inoltre possibile monitorare *P. chlamydosporia* dopo il suo inoculo, estraendo il DNA dal terreno con tecniche specifiche come l'ibridazione con sonde (dot-blot) o la PCR in tempo reale (Rosso et al., 2007).

3. PROSPETTIVE PER LA RICERCA E APPLICAZIONI PRATICHE DI FONTI DI RESISTENZA

Resistenza è un termine generalmente usato per descrivere la capacità delle piante di limitare o sopprimere lo sviluppo e la riproduzione dei nematodi. Tuttavia, in molti casi, esso può significare anche l'assenza di malattie o di sintomi specifici nella pianta, associati ai nematodi. La resistenza genetica è un carattere legato alla presenza di specifici geni nel genoma dell'ospite, definiti geni *R* e può essere "verticale" ovvero "orizzontale". La resistenza verticale è solitamente controllata da un gene dominante ed è specie-specifica. Tuttavia, in qualche caso, essa può essere valida solo per delle varianti intra-specifiche dei nematodi, come razze, patotipi e biotipi. Al contrario, la resistenza orizzontale è poligenica e risulta determinata da parecchi geni minori,

che conferiscono, con effetti additivi, una resistenza quantitativa più larga ai nematodi.

La resistenza genetica è considerata uno dei migliori metodi per il controllo integrato dei nematodi nella pratica agricola ed è stata spesso preferita ad altri metodi comunemente adottati, quali la lotta chimica, biologica o le rotazioni colturali (Barker et al., 1994). Le cultivar resistenti garantiscono il potenziale di resa di una coltivazione in quanto la resistenza consente di migliorare la produzione in campi infestati con densità di popolazione dei parassiti che eccedono la soglia di danno (Sikora *et al.*, 2005). Inoltre, innovative applicazioni di miglioramento genetico hanno permesso di ottenere genotipi resistenti per colture quali cotone, arachide, soia, etc., con un potenziale di resa uguale a quello delle più produttive cultivar suscettibili (Starr et al., 2002). Oltre a essere un metodo a impatto ambientale nullo, l'uso della resistenza da parte dei produttori prevede un minimo costo diretto e si adatta quindi a tutti i sistemi di produzione agricola, sia intensivi che di sussistenza.

Tuttavia, anche l'uso della resistenza genetica presenta vari problemi che rappresentano una difficile sfida per la ricerca futura nel settore. Uno dei maggiori inconvenienti è l'attuale scarsa disponibilità di fonti di resistenza da usare nella pratica agricola. Solo per poche importanti coltivazioni sono oggi in commercio cultivar resistenti ai nematodi, valide per la produzione di mercato. Tutte, inoltre, presentano resistenza ai soli endoparassiti sedentari, quali i nematodi galligeni (genere *Meloidogyne*) o cisticoli (generi *Heterodera* e *Globodera*). Questi, tuttavia, sono i generi che causano i più ingenti danni economici a livello mondiale. Si riportano esempi di uso corrente negli Stati Uniti di cultivar di tabacco, pomodoro e cotone resistenti a varie specie di *Meloidogyne* e di soia resistente a *H. glycines*, mentre, nell'Europa del Nord, sebbene l'introduzione di patata resistente a *G. rostochiensis* ha avuto successo, essa ha altresì portato alla maggior diffusione della specie vicina *G. pallida*, contro cui l'applicazione della resistenza genetica sta mostrando effetti molto più limitati (Starr e Roberts, 2004). Al contrario, nessuna resistenza a importanti specie di nematodi, specialmente nell'ambito degli ectoparassiti migratori, è stata rinvenuta finora in specie economicamente importanti, mentre la si è trovata solo in specie selvatiche o genotipi non sfruttabili.

Questa scarsità di fonti di resistenza utilizzabili è dovuta al fatto che gran parte delle risorse genetiche disponibili deve ancora essere caratterizzata per la resistenza ai nematodi. Per molte specie, inoltre, non vi è ancora sufficiente germoplasma disponibile in collezione. Individuare il carattere di resistenza in una cultivar o accessione in collezione con i biosaggi attualmente in uso è un'operazione estremamente complessa, di difficile interpretazione e

che prevede tempi lunghi. Pertanto, la ricerca si è da tempo indirizzata alla produzione di marcatori molecolari di resistenza, che possono essere frammenti di DNA strettamente associati ai geni di resistenza o proteine e attività enzimatiche, associate alla reazione resistente delle piante (Abd-Elgawad e Molinari, 2008). I vantaggi di una selezione con marcatori molecolari (marker-assisted selection, MAS) rispetto a quella per mezzo di laboriosi biosaggi (che prevedono la crescita di piantine e la produzione di un inoculo valido, l'inoculazione in vaso con uova o larve e il tempo di sviluppo dei parassiti), sono enormi. Tentativi concreti di MAS sono già stati eseguiti: per la soia, in particolare, la selezione si è basata con successo sul locus genetico *rhg1* con marcatori molecolari del tipo SSR (simple sequence repeat) o microsatelliti (Young e Mudge, 2002).

Una volta che gruppi di DNA marcatori evidenziano una stretta associazione al gene *R* di resistenza da isolare, con tecniche di "cammino sul cromosoma" (*chromosome walking*), è possibile identificare, clonare, sequenziare e caratterizzare il gene. A tutt'oggi, circa 15 geni per la resistenza a nematodi endoparassiti risultano clonati o identificati in mappe genetiche (Williamson e Kumar, 2006). Il primo gene di resistenza ai nematodi a essere clonato è stato *HS1^{pro-1}*, dalla barbabietola da zucchero (genere *Beta*). Esso conferisce resistenza al nematode cisticolo *Heterodera schachtii*. L'interazione pianta-nematode più studiata, invece, è quella dei nematodi galligeni (*Meloidogyne*) col pomodoro, il cui gene *Mi* conferisce la resistenza alle tre specie più diffuse, *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria*. Esso è attualmente uno dei geni di resistenza ai nematodi meglio caratterizzati (Williamson, 1998). *Mi* è l'unico gene noto finora che conferisce resistenza anche a organismi molto diversi dai nematodi, quali l'afide della patata e la mosca bianca, che hanno però un habitus nutrizionale analogo a quello dei nematodi, che prevede la puntura e l'assunzione degli alimenti dalle cellule penetrate con uno stiletto.

Lo scopo pratico dell'isolamento dei geni *R* di resistenza ai nematodi consiste nel loro trasferimento alle varietà di colture economicamente importanti, per le quali la resistenza non è disponibile. Se le piante transgeniche esprimessero una resistenza effettiva contro i nematodi in condizioni di campo, ci sarebbe inoltre la possibilità reale, tramite tecniche di manipolazione genetica, di una drastica riduzione nell'uso di nematocidi altamente tossici e pericolosi per la salute umana e l'ambiente. Al momento, seppure in condizioni controllate di laboratorio, solo il trasferimento intraspecifico di geni di resistenza ha avuto successo, mentre gli stessi geni hanno mostrato un'efficienza limitata se trasferiti in specie diverse. Ad esempio, il gene *Mi-1* conferisce una resistenza effettiva se trasferito in pomodoro suscettibile, ma non funziona se introdotto

nel tabacco o in *Arabidopsis*. Lo stesso gene conferisce resistenza ai nematodi ma non agli afidi della patata, se viene introdotto in melanzana (Williamson e Kumar, 2006). Le prospettive di ricerca in questo settore, quindi, sono indirizzate soprattutto alla disponibilità di validi marcatori molecolari per una rapida selezione nei programmi di miglioramento genetico o screening di collezioni genetiche, e allo studio di tutti i fattori che rendano ottimale la modificazione genetica di piante suscettibili, con i geni isolati.

3.1 *Problematiche legate all'insorgenza di popolazioni virulente: l'esempio di Meloidogyne spp.*

Se la resistenza genetica appare come uno dei metodi migliori per il controllo dei nematodi, l'eventuale bassa durabilità è uno degli aspetti più problematici che può vanificarne l'applicazione. Una delle minacce più gravi all'efficienza dei geni di resistenza è l'insorgenza di popolazioni di nematodi in grado di svilupparsi e moltiplicarsi anche su ospiti resistenti. Queste costituiscono le cosiddette popolazioni virulente. Nei nematodi galligeni (*Meloidogyne* spp.) esse sono molto studiate, per via dell'importante ricaduta economica (Starr e Roberts, 2004).

La virulenza potrebbe essere collegata alla mancanza o modificazione di quei prodotti genici dei nematodi la cui presenza "avverte" la pianta per mezzo dei prodotti dei geni-*R*. Più probabilmente, la virulenza può essere dovuta alla modifica di certe funzioni che consentono al nematode di evitare o tamponare la risposta di resistenza della pianta, per esempio producendo antiossidanti o potenziando il proprio sistema antiossidativo o alterando il bilancio ormonale per compromettere la risposta di difesa. A conferma è stato osservato che specie quali *M. hapla* o *M. mayaguensis*, che si riproducono su pomodoro che porta il gene *Mi*, o isolati di *M. incognita* selezionati in serra per la virulenza, hanno attività di enzimi antiossidanti quali superossidodismutasi, catalasi e perossidasi, molto più alte che popolazioni avirulente (Molinari e Miacola, 1997; Molinari, non pubbl.).

Popolazioni di *Meloidogyne* virulente possono essere selezionate in serra da popolazioni di campo avirulente, per mezzo d'inoculi ripetuti su pomodoro resistente. Inoltre, varie popolazioni in campo mostrano una virulenza "naturale" senza essere sottoposte a selezione mediante esposizione al gene *Mi* (Roberts, 1995). In campo ci sono casi in cui lunghe esposizioni alla stessa cultivar di pomodoro resistente possono o no determinare l'insorgenza di popolazioni in grado di superare la resistenza (Noling, 2000; Rich e Ol-

son, 1999). Inoltre, esistono popolazioni in grado di originare linee virulente, mentre altre popolazioni non ne sono capaci (Jarquin-Barberena et al., 1991). Anche se il gene *Mi* è presente in cultivar usate nella pratica agricola da più di vent'anni, la sua durabilità potrebbe quindi essere minacciata nel prossimo futuro dal rinvenimento di popolazioni virulente, la cui frequenza sta progressivamente incrementando.

3.2 *Potenzialità degli attivatori chimici di resistenza.*

In casi di accertata presenza di popolazioni virulente e di conseguente inefficacia nell'uso di cultivar resistenti, grosse potenzialità potrebbero avere gli attivatori chimici di resistenza quali l'acido salicilico e i suoi analoghi, responsabili nelle piante della cosiddetta resistenza sistemica acquisita (Systemic Acquired Resistance, SAR) (Durrant e Dong, 2004). Quando la SAR è attivata, un'interazione pianta-patogeno normalmente compatibile, cioè risultante in una malattia dell'ospite, può essere resa incompatibile. Pochi studi sono stati condotti finora per accertare se la SAR sia indotta sistemicamente anche da un'infestazione di nematodi e soprattutto se essa possa essere indotta naturalmente o chimicamente, tramite trattamento con acido salicilico o suoi analoghi chimici, per parassiti che attaccano le radici (Molinari, 2007). Studi preliminari hanno recentemente appurato che particolari applicazioni con acido salicilico possono indurre, nel pomodoro, resistenza a nematodi galligeni (Molinari, 2008a; 2008b).

4. APPLICAZIONE E SVILUPPO DI METODI AGRONOMICI DI DIFESA: BIOFUMIGAZIONE, SOVESCI E SOSTANZE DI ORIGINE NATURALE.

Il metabolismo vegetale produce centinaia di migliaia di principi biologicamente attivi, in gran parte non ancora identificati, con un ruolo trascurabile nei processi fisiologici primari della pianta ma determinanti per le relazioni interspecifiche della stessa e in primo luogo nella difesa della pianta da patogeni e parassiti. Tali sostanze sono di diversa natura chimica (per es. terpenoidi, alcaloidi, glicosidi, fenoli, tannini, ecc.) e possono costituire un'ampia riserva di principi attivi potenzialmente utilizzabili contro i nematodi fitoparassiti (Chitwood, 2002).

I meccanismi d'azione con cui tali molecole esplicano la loro attività nematocida o nematostatica possono essere differenti. Alcuni metaboliti sono in

grado di determinare un'interruzione temporanea o permanente dell'alimentazione del parassita, altri inducono cambiamenti morfologici o fisiologici, mentre per altri principi l'attività può essere semplicemente di tipo repellente. Inoltre, alcune specie vegetali possono agire come "piante trappola", impedendo il completamento del ciclo vitale e la riproduzione del nematode all'interno delle radici.

A dimostrazione dell'enorme potenziale offerto dalle specie vegetali per strategie sostenibili di lotta contro i nematodi fitoparassiti, viene di seguito riportata una rapida rassegna dei principali raggruppamenti botanici cui appartengono specie ad attività nematocida.

4.1 *Sostanze attive ad azione nematocida*

Alla famiglia delle Asteracee appartengono numerose specie ad attività nematocida, ma tra queste le più note sono sicuramente quelle del genere *Tagetes*, che agiscono inizialmente come piante trappola e quindi anche con sostanze nematotossiche contenute nei tessuti (Uhlenbroek e Bijloo, 1959). Le specie a più spiccata azione nematocida, sebbene variabile in relazione al nematode bersaglio, sono *T. erecta*, *T. patula* e *T. minuta* (Ploeg, 1999). Tra le altre Compositae, il genere *Chrysanthemum* ha evidenziato spiccate proprietà nematocide contro nematodi galligeni (Bar-Eyal et al., 2006), ma una buona attività contro diverse specie di nematodi è stata rinvenuta anche in specie appartenenti ai generi *Helenium*, *Gaillardia*, *Eryophyllum* e *Zinnia* (Hijink e Winoto Suatmadji, 1967). I flavonoidi presenti nei tessuti di varie *Artemisia* spp. sembrano inoltre essere responsabili delle proprietà nematocide osservate per tali specie (Sherif et al., 1987).

L'azione nematocida di specie di Cruciferae era già stata riportata nella prima metà del secolo scorso su nematodi cisticoli come *G. rostochiensis* (Ellenby, 1945) e *H. schachtii* (Den Ouden, 1956). L'attività biocida delle Brassicaceae è connessa al loro elevato contenuto in glucosinolati, metaboliti secondari la cui degradazione idrolitica genera componenti volatili quali isotiocianati e nitrili, altamente tossici verso nematodi e funghi. Il potenziale nematocida di tali specie è stato rivalutato negli ultimi decenni grazie agli studi sulla biofumigazione, ovvero l'effetto fumigante generato dai suddetti componenti volatili, derivante dall'interramento della massa verde, o precedentemente essiccata, di crucifere (Mojtahedi et al., 1991).

Numerose specie di Leguminosae tropicali, quali *Crotalaria* spp., *Mucuna* spp. e altre, mostrano un'attività nematocida quando sono incluse in rota-

zioni colturali o vengono utilizzate come sovescio verde (Reddy *et al.*, 1986; Kushida *et al.*, 2003). L'azione soppressiva sembra essere connessa essenzialmente alla produzione di metaboliti tossici o allo sviluppo sulle radici di una specifica microflora batterica in grado di esercitare un effetto soppressivo sulla nematofauna (Kloepper *et al.*, 1991). Tra le leguminose dei climi temperati, il sovescio di foglie e fusti di medica (*Medicago sativa*) e soia (*Glicine max*) ha ridotto la schiusura delle uova di *M. incognita* (Johnson e Shamiyeh, 1975), mentre estratti fogliari di *Phaseolus vulgaris* sono risultati tossici per *Tylenchorhynchus dubius* (Miller *et al.*, 1973).

Contro *Pratylenchus penetrans* e *M. incognita* sono risultati efficaci essudati radicali, estratti fogliari e olii essenziali di numerose specie spontanee o coltivate di Graminacee, quali *Brachiaria* spp., *Cymbopogon* spp., *Digitaria decumbens* (Brito e Ferraz, 1987; Haroon e Smart, 1983), così come il sovescio di biomasse verdi o essiccate di avena (Merwin e Styles, 1989). I prodotti d'idrolisi dei glicosidi presenti in *Sorghum* spp. sembrano essere all'origine dell'azione soppressiva conseguente al sovescio verde di tali piante (Widmer e Abawi, 2000).

Gli olii essenziali presenti in un gran numero di specie vegetali sono in grado di svolgere una intensa attività biocida (Malik *et al.*, 1987). In particolare, vanno ricordate numerose specie aromatiche della famiglia delle Lamiacee (*Mentha* spp., *Ocimum* spp., *Oreganum* spp.) i cui olii essenziali hanno mostrato, sia in laboratorio che nel terreno, una spiccata azione biocida nei confronti di nematodi galligeni (Oka *et al.*, 2000; Walker e Melin, 1996).

Alle Meliaceae appartiene una specie arborea, il neem (*Azadirachta indica*), da secoli nota per la ricchezza delle sue proprietà biologiche e per la sua azione insetticida. Negli ultimi decenni numerosi studi hanno dimostrato la tossicità, contro varie specie di nematodi fitoparassiti, di olii, estratti, foglie, radici ed essudati radicali di questa specie (Akhtar, 2000). Numerose formulazioni nematocide a base di olii di neem sono già commercialmente disponibili. Le basi chimiche della sua attività nematocida sono complesse e non ancora ben chiarite, sebbene steroidi e terpenoidi, in particolare l'azadiractina, appaiano come i principali componenti di tale attività.

Un'altra specie arborea che ha recentemente dato origine allo sviluppo industriale di formulati nematocidi è la quillaja (*Quillaja saponaria*), il cui estratto acquoso corticale presenta un elevato contenuto in saponine e tannini, responsabili dell'attività soppressiva osservata contro nematodi galligeni (D'Addabbo *et al.*, 2005). Più in generale, le saponine, glicosidi di steroidi e triterpenoidi, sono sostanze presenti in molte famiglie botaniche e in grado di svolgere un'elevata attività nematocida (Argentieri *et al.*, 2008).

Molte Solanaceae hanno evidenziato attività soppressiva su varie specie fitoparassite (Haseeb e Butool, 1996), e le specie con il maggior potenziale nematocida, riconducibile all'elevato contenuto in alcaloidi, appartengono al genere *Datura* spp. (Saxena e Sharma, 2005). La presenza di alcaloidi biologicamente attivi è anche alla base dell'azione soppressiva su nematodi galligeni di estratti acquosi e masse verdi sovesciate delle specie arbustiva *Calotropis procera* (Asclepiadaceae) (Reina et al., 2002) e *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) (Mashela et al., 2007), sebbene nei tessuti di quest'ultima specie siano stati identificati anche altri componenti attivi, quali flavonoidi e tannini.

Un elevato contenuto in componenti attivi contro i nematodi, quali olii essenziali, saponine, flavonoidi ed esteroidi, è inoltre responsabile dell'attività fungicida, battericida, insetticida e anche nematocida riscontrata nel genere *Chenopodium* spp. (Chenopodiaceae), e in particolare in *C. ambrosioides* (Quarles, 1992).

Alla famiglia delle Rutaceae appartiene infine una specie, *Ruta graveolens*, largamente studiata per la sua attività nematocida, in particolare su nematodi galligeni (D'Addabbo e Sasanelli, 2004). In tale raggruppamento botanico, inoltre, rientrano numerose altre specie che, per il loro contenuto in olii essenziali, presentano un elevato potenziale nematocida.

4.2 Applicazione e utilizzo dell'azione nematocida

Le modalità tecniche per uno sfruttamento concreto dell'azione nematocida di queste specie vegetali possono essere di tipo agronomico o industriale. L'utilizzo agronomico può prevedere l'uso in coltura intercalare o in rotazione con colture suscettibili, ovvero un sovescio della massa verde o il suo impiego come pacciamatura della superficie coltivata. L'utilizzo industriale fa riferimento al condizionamento della massa verde per la preparazione di granulati o pellets da distribuire al terreno o all'impiego di un principio attivo per la preparazione di formulati commerciali.

L'individuazione di un principio nematocida di origine vegetale può seguire due differenti approcci (Harvey, 2000). Una prima modalità parte dall'osservazione di un'attività nematostatica o nematocida in una specie vegetale e prosegue attraverso l'isolamento, la caratterizzazione chimica e il successivo saggio biologico dei componenti attivi presenti nella pianta. Un secondo approccio consiste nel procedere casualmente all'isolamento, identificazione e saggio biologico di principi attivi, visto che è molto probabile che i prodotti del metabolismo secondario siano coinvolti nelle interazioni pianta – nematode.

In ogni caso, pochi principi attivi arrivano alla formulazione commerciale, poiché numerosi fattori possono condizionarne lo sviluppo e la commercializzazione. Un primo aspetto da considerare è la brevettabilità di una sostanza, che può essere complicata da una preventiva pubblicazione di dati sulle sue proprietà nematocide. Occorre poi considerare le proprietà tossicologiche e ambientali del principio attivo, visto che la sua origine naturale non ne garantisce la sanità per l'uomo e l'ambiente. Altro elemento condizionante è la possibilità di estrazione in quantitativi elevati, necessari per condurre saggi biologici più estensivi.

Tra i possibili metodi di produzione di una sostanza nematocida di origine vegetale le opzioni tecnicamente ed economicamente più interessanti sono fornite dalle tecniche di biosintesi, quali la produzione su colture cellulari o tessuti, ovvero il trasferimento dell'informazione genica relativa alla sintesi del principio in microrganismi o direttamente nella pianta da proteggere. Il vantaggio principale della produzione su colture cellulari o tissutali è costituito dalla rapida selezione di linee cellulari in grado di produrre più elevati livelli del metabolita, mentre gli aspetti negativi sono legati alla stabilità genetica del materiale usato (Alfermann et al., 2003). Il trasferimento dell'informazione genica in un microrganismo consente la produzione del principio attivo mediante normali fermentazioni, ma non è utilizzabile per metaboliti secondari complessi, in cui numerosi geni siano coinvolti nella conversione di prodotti intermedi nel prodotto desiderato. Peraltro, la manipolazione transgenica del metabolismo di una pianta può risultare assai complessa e portare a scarsi risultati, per cui un'alternativa più semplice può essere quella di trasferire in microrganismi l'informazione relativa alla sintesi del principio attivo (Verpoorte e Memelink, 2002).

5. CONCLUSIONI

Abbiamo oggi a disposizione un ampio ventaglio di conoscenze, suscettibili di sviluppo applicativo e/o industriale per esplorare e integrare diverse strategie di controllo dei nematodi fitoparassiti. A tal fine i prodotti e le tecnologie sviluppati devono necessariamente caratterizzarsi per costi di produzione contenuti, ma anche per efficacia, facilità d'uso e innocuità nei confronti dell'uomo e dell'ambiente.

Le tecnologie per la protezione "biologica" delle colture potranno inoltre integrare nel futuro altri metodi avanzati, incluso la prevenzione o esclusione del parassita, ovvero metodi di recente introduzione come il "precision far-

ming". Considerando il progresso dell'elettronica di consumo e l'integrazione attuale dei sistemi informativi è possibile anche ipotizzare futuri scenari di monitoraggio in tempo reale e di flussi di dati che, dal campo coltivato, possano informare il produttore o il consumatore, anche per quanto riguarda lo stato fitosanitario e la protezione di una coltura. Inoltre, sono molteplici i vantaggi per l'economia, l'ambiente e la società nonché le implicazioni legate allo sviluppo di prodotti e processi per la gestione dei problemi causati dai nematodi fitoparassiti. Grazie ai microrganismi, alle piante resistenti o ai più efficaci principi attivi di origine naturale possono emergere nuovi settori produttivi industriali e nuovi prodotti. Se le aspettative del mercato permangono in crescita, è infine possibile attendersi un'auspicabile riduzione dell'impatto ambientale derivante dai trattamenti con prodotti di sintesi, con un maggior standard di sicurezza per operatori e consumatori.

RIASSUNTO

Vengono descritte le innovazioni relative alle attuali possibilità di difesa delle colture dai principali nematodi fitoparassiti. Per i nematodi vettori di virus, le strategie di difesa si basano sempre sulla prevenzione con l'uso di materiale certificato esente da virus, che trae vantaggio dai moderni metodi di diagnosi molecolare. Per la vite, prospettive interessanti possono derivare anche dalla ricerca sui portinnesti resistenti a GFLV e/o al suo vettore, *Xiphinema index*. Per i nematodi galligeni o cisticoli, diverse metodologie possono essere prese in considerazione e integrate. Vengono illustrati aspetti teorici per l'uso di antagonisti biologici, come la modellistica, e pratico - applicativi, relativi alla biologia dei principali funghi e batteri. Vengono quindi prese in esame le problematiche legate alla disponibilità di geni di resistenza, all'insorgenza di popolazioni virulente e alle potenzialità degli attivatori chimici. Ulteriori innovazioni derivano dall'applicazione e sviluppo di metodi agronomici di difesa come la biofumigazione e l'uso di sostanze di origine naturale, di cui sono brevemente illustrate l'azione nematocida e le applicazioni.

ABSTRACT

The innovations related to the possibilities actually available for control of main plant parasitic nematodes are described. For virus vectoring nematodes, protection strategies should always rely on prevention, through the exploitation of plants certified as virus exempt, which benefits from the modern methods of molecular diagnostics. For grapevine, interesting perspectives may result from the research on rootstocks resistant to GFLV and/or its vector, *Xiphinema index*. For root-knot or cyst nematodes several methodologies may be considered and integrated. The use of biological antagonists is reviewed, discussing theoretical aspects like modelling and practical ones, as those related to the biology of main fungi and bacteria. The problems concerning the availability of resistance genes, the

insurgence of virulent populations and the potentialities of chemical activators are then reviewed. Further innovations result from the application and development of agronomic practices of crop protection, like biofumigation and the use of natural compounds, whose nematocidal activity and applications are briefly illustrated.

BIBLIOGRAFIA

- ABD-ELGAWAD M.M., MOLINARI S. (2008): *Markers of plant resistance to nematodes: classical and molecular strategies*, «Nematologia mediterranea», 36, pp. 3-11.
- AKHTAR M. (2000): *Nematicidal potential of the neem tree Azadirachta indica (A. Juss)*, «Integrated Pest Management Review», 5, pp. 57-66.
- ALFERMANN A.W., PETERSEN M., FUSS E. (2003): *Production of natural products by plant cell biotechnology: results, problems and perspectives*, in *Plant tissue culture, 100 years since Gottlieb Haberlandt*, a cura di M. Laimer e W. Rücker, Springer, Wien/New York.
- ANDERSON R.M., MAY R.M. (1981): *The population dynamics of microparasites and their invertebrate hosts*, «Philosophical Transactions of the Royal Society of London», 291, pp. 451-524.
- ARGENTIERI M.P., D'ADDABBO T., TAVA A., AGOSTINELLI A., JURZYSTA M., AVATO P. (2008): *Evaluation of nematocidal properties of saponins from Medicago spp.*, «European Journal of Plant Pathology», 120, pp. 189-197.
- ATIBALENTJA N., NOEL G.R., LIAO T.F., GERTNER G.Z. (1998): *Population changes in Heterodera glycines and its bacterial parasite Pasteuria sp. in naturally infested soil*, «Journal of Nematology», 30, pp. 81-92.
- BAR-EYAL M., SHARON E., SPIEGEL Y. (2006): *Nematicidal activity of Chrysanthemum coronarium*, «European Journal of Plant Pathology», 114, pp. 427-433.
- BARKER K.R., HUSSEY R.S., KRUSBERG L.R., BIRD G.W., DUNN R.A., FERRIS H., FERRIS V.R., FRECKMAN D.W., GABRIEL C.J., GREWAL P.S., MACGUIDWIN A.E., RIDDLE D.L., ROBERTS P.A., SCHMITT D.P. (1994): *Plant and soil nematodes: societal impact and focus for the future*, «Journal of Nematology», 26, pp. 127-137.
- BELIN C., SCHMITT C., DEMANGEAT G., KOMAR V., PINCH L., FUCHS, M. (2001): *Involvement of RNA2-encoded proteins in the specific transmission of Grapevine fanleaf virus by its nematode vector Xiphinema index*, «Virology», 291, pp. 161-171.
- BICA D., NICOLOSI E., COSTA A., COLOMBO A., BUONOCORE E. (2002): *Indagine sulla presenza dei principali virus e nematodi della vite in Sicilia*, «Informatore fitopatologico», 52, pp. 64-67.
- BOUQUET A., HEVIN M. (1978): *Green-grafting between Muscadine grape (Vitis rotundifolia Michx) and bunch grapes (Euvitis sp.) as a tool for physiological and pathological investigations*, «Vitis», 17, pp. 134-138.
- BOUQUET A. (1980): *Differences observed in the graft compatibility between some cultivars of Muscadine grape (Vitis rotundifolia Michx) and European grape (Vitis vinifera L. cv. Cabernet-Sauvignon)*, «Vitis», 19, pp. 99-104.
- BOUQUET A., TORREGROSA L., CHATELET, P. (2003): *Combinaison des approches biotechnologiques et conventionnelles dans la sélection de porte-greffes présentant une résistance durable à la transmission de la maladie du court-noué*, «Progress in Agriculture and Viticulture», 120, pp. 507-512, 528-532.

- BOURNE J.M., KERRY B. R., DE LEIJ F.A.A.M. (1994): *Methods for the study of Verticillium chlamydosporium in the rhizosphere. Workshop: Organisms and methods for biological control*, «Journal of Nematology», 26 (Suppl.), pp. 587-591.
- BRITO J.A., FERRAZ S. (1987): *Seleção de gramíneas antagonistas a Meloidogyne javanica*, «Nematologia Brasileira», 11, pp. 260-269.
- CATALANO L., SAVINO V., LAMBERTI, F. (1992): *Presence of grapevine fanleaf nepovirus in populations of Longidorid nematodes and their vectoring capacity*, «Nematologia mediterranea», 20, pp. 67-70.
- CAYROL J. C. (1983): *Lutte biologique contre le Meloidogyne au moyen d'Arthrobotrys irregularis*, «Revue de Nématologie», 6, pp. 265-273.
- CETINTAS R., LIMA R.D., MENDES M. L., BRITO J.A., DICKSON, D.W. (2003): *Meloidogyne javanica on Peanut in Florida*, «Journal of Nematology», 35, pp. 433-436.
- CHEN J., ABAWI G. S., ZUCKERMAN B. M. (1999): *Suppression of Meloidogyne hapla and its damage to lettuce grown in a mineral soil amended with chitin and biocontrol organisms*, «Journal of Nematology (Suppl.)», 31, pp. 719-725
- CHITWOOD D.J. (2002): *Phytochemical based strategies for nematode control*, «Annual Review of Phytopathology», 40, pp. 221-249.
- CIANCIO A., LOGRIECO A., LAMBERTI F. (1986): *Parasitism of Xiphinema diversicaudatum by the fungus Hirsutella rhossiliensis*, «Nematologia mediterranea», 14, pp. 187-192.
- CIANCIO A. (1995a): *Phenotypic adaptations in Pasteuria spp. nematode parasites*, «Journal of Nematology», 27, pp. 328-338.
- CIANCIO A. (1995b): *Density dependent parasitism of Xiphinema diversicaudatum by Pasteuria penetrans in naturally infested soil*, «Phytopathology», 85, pp. 144-149.
- CIANCIO A. (1996): *Osservazioni sulle potenzialità di Pasteuria penetrans nella lotta biologica contro i nematodi*, «Nematologia mediterranea», 24, pp. 143-147.
- CIANCIO A. (2000): *Nematodi, lotta biologica e caos*, «Nematologia mediterranea (Suppl.)», 28, pp. 99-106.
- CIANCIO A., QUENEHERVÉ P. (2000): *Population dynamics of Meloidogyne incognita and infestation levels by Pasteuria penetrans in a naturally infested field in Martinique*, «Nematologica», 30, pp. 77-86.
- CIANCIO A., LOFFREDO A., PARADIES F., TURTURO C., FINETTI SIALER M. (2005): *Detection of Meloidogyne incognita and Pochonia chlamydosporia by fluorogenic molecular probes*, «EPPO Bulletin», 35, pp. 157-164.
- D'ADDABBO T., SASANELLI N. (2005): *Suppressive effect of different plant formulations on populations of the Southern root-knot nematode Meloidogyne incognita*, «Nematologia mediterranea (Suppl.)», 33, pp. 47-50.
- D'ADDABBO T., CURTO G., GRECO P., DI SILVESTRO D., COIRO M.I., LAMBERTI F., FERRARI V., SANTI R., CARELLA A. (2005): *Prove preliminari di lotta contro nematodi galligeni mediante estratti di Quillaja saponaria Molina*, «Nematologia mediterranea», 33, pp. 29-34.
- DE LEIJ F.A.A.M., KERRY B.R., DENNEHY J.A. (1993): *Verticillium chlamydosporium as a biological control agent for Meloidogyne incognita and M. hapla in pot and micro-plot tests*, «Nematologica», 39, pp. 115-126.
- DECRAEMER W., ROBBINS R.T. (2007): *The who, what and where of Longidoridae and Trichodoridae*, «Journal of Nematology», 39, pp. 296-297.
- DEN OUDEN H. (1956): *The influence of hosts and non-susceptible hatching plants on populations of Heterodera schachtii*, «Nematologica», 1, pp. 138-144.
- DURRANT W.E., DONG X. (2004): *Systemic acquired resistance*, «Annual Review of Phytopathology», 42, pp. 185-209.

- ELLENBY C. (1945): *The influence of crucifers and mustard oil on the emergence of larvae of the potato-root eelworm, Heterodera rostochiensis*, «Annals of Applied Biology», 32, pp. 67-70.
- ESMENJAUD D., WALTER B., MINOT J.C., VOISIN R., CORNUET P. (1993): *Biotin-avidin ELISA detection of Grapevine fanleaf virus in the vector nematode Xiphinema index*, «Journal of Nematology», 25, pp. 401-405.
- ESMENJAUD D., ABAD P., PINCK L., WALTER, B. (1994): *Detection of a region of the coat protein gene of Grapevine fanleaf virus by RT-PCR in the nematode vector Xiphinema index*, «Plant Disease», 78, pp. 1087-1090.
- ESMENJAUD D., BOUQUET A. (2008): *Selection and application of resistant germplasm for grapevine nematodes management*, in *Integrated Management of Fruit Crops and Forest Nematodes*, a cura di A. Ciancio e K. G. Mukerji, eds., Springer, NL: in press.
- GALEANO M., VERDEJO-LUCAS S., CIANCIO A. (2003): *Morphology and ultrastructure of a Pasteuria form parasitic in Tylenchorhynchus cylindricus (Nematoda)*, «Journal of Invertebrate Pathology», 83, pp. 83-85.
- GASPARD J.T., MANKAU R. (1987): *Density-dependence and host-specificity of the nematode-trapping fungus Monacrosporium ellipsosporum*, «Revue de Nématologie», 10, pp. 241-246.
- GIBLIN-DAVIS R.M., WILLIAMS D.S., BEKAL S., DICKSON D.W., BRITO J.A., BECKER J.O., PRESTON J.F. (2003): *Candidatus 'Pasteuria usgae' sp. nov., an obligate endoparasite of the phytoparasitic nematode Belonolaimus longicaudatus*, «International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology», 53, pp. 197-200.
- GOWEN S. R., TZORTZAKAKIS E. (1992): *Biological control of Meloidogyne spp. with Pasteuria penetrans*, «EPP0 Bulletin», 24, pp. 495-500.
- GOWEN S., DAVIES K.G., PEMBROKE B. (2008): *Potential use of Pasteuria spp. in the management of plant parasitic nematodes*, in *Integrated management and biocontrol of vegetable and grain crops nematodes*, a cura di A. Ciancio e K. G. Mukerji, Springer, NL, pp. 205-219.
- HAROON S., SMART G.C. JR. (1983): *Root extracts of Pangola digitgrass affect egg hatch and larval survival of Meloidogyne incognita*, «Journal of Nematology», 15, pp. 646-649.
- HARRIS, A. R. (1988): *Xiphinema index-resistant Vitis rootstocks screened for comparative field performance in a Chasselas vineyard replant site*, «Vitis», 27, pp. 243-251.
- HARVEY A. (2000): *Strategies for discovery drugs from previously unexplored natural products*, «Drug Discovery Today», 5, pp. 294-300.
- HASEEB A., BUTOOL F. (1996): *Evaluation of nematicidal properties of some members of the family Solanaceae*, «Bioresource Technology», 57, pp. 95-97.
- HASSEL M. P. (1978): *The dynamics of arthropod predator-prey systems*, Princeton University Press, USA, 237 pp.
- HIJINK M.J., WINOTO SUATMADJI R. (1967): *Influence of different compositae on population density of Pratylenchus penetrans and some other root-infesting nematodes*, «Netherlands Journal of Plant Pathology», 73, pp. 71-82.
- HIRSCH P.R., ATKINS S.D., MAUCLINE T.H., MORTON O.C., DAVIES K.G., KERRY B.R. (2001): *Methods for studying the nematophagous fungus Verticillium chlamydosporium in the root environment*, «Plant and Soil», 232, pp. 21-30.
- JAFFEE B.A., MULDOON A.E., PHILLIPS R., MANGEL M. (1990): *Rates of spore transmission, mortality, and production for the nematophagous fungus Hirsutella rhossiliensis*, «Phytopathology», 80, pp. 1083-1088
- JAFFEE B.A., MCINNIS T.M. (1991): *Sampling strategies for detection of density-dependent*

- parasitism of soil-borne nematodes by nematophagous fungi*, «Revue de Nematologie», 14, pp. 147-150.
- JAFFEE B.A. (1992): *Population biology and biological control of nematodes*, «Canadian Journal of Microbiology», 38, pp. 359-364.
- JAFFEE B., PHILLIPS R., MULDOON A., MANGEL M. (1992): *Density-dependence host-pathogen dynamics in soil microcosms*, «Ecology», 73, pp. 495-506.
- JAFFEE B.A., MULDOON A.E. (1994): *Susceptibility of root-knot and cyst nematodes to the nematode-trapping fungi Monacrosporium ellipsosporum and M. cionopagum*, «Soil Biology and Biochemistry», 27, 1083-1090.
- JAFFEE B. A. (2000): *Augmentation of soil with the nematophagous fungi Hirsutella rhossiliensis and Arthrobotrys haptotyla*, «Phytopathology», 90, pp. 498-504.
- JAFFEE B.A. (2003): *Correlations between most probable number and activity of nematode-trapping fungi*, «Phytopathology», 93, pp. 1599-1605.
- JARQUIN-BARBERENA H., DALMASSO A., DE GUIRAN G., CARDIN M. (1991): *Acquired virulence in the plant parasitic nematode Meloidogyne incognita. 1. Biological analysis of the phenomenon*, «Revue de Nematologie», 14, pp. 261-275.
- JOHNSON L.F., SHAMIYEH N.B. (1975): *Effect of soil amendments on hatching of Meloidogyne incognita eggs*, «Phytopathology», 65, pp. 1178-1181.
- KERRY B.R., KIRKWOOD I.A., DE LEIJ F.A.A.M., BARBA J., LEIDJENS M.N., BROOKES P.C. (1993): *Growth and survival of Verticillium chlamydosporium Goddard, a parasite of nematodes in soil*, «Biocontrol Science and Technology», 3, pp. 355-365.
- KERRY B.R., BOURNE J. M. (1996): *The importance of the rhizosphere interactions in the biological control of plant parasitic nematodes - a case study using Verticillium chlamydosporium*, «Pesticide Science», 47, pp. 69-75.
- KLOEPPER J.W., RODRÍGUEZ-KÁBANA R., MCINROY J.A., COLLINS D.J. (1991): *Analysis of populations and physiological characterization of microorganisms in rhizospheres of plants with antagonistic properties to phytopathogenic nematodes*, «Plant and Soil», 136, pp. 95-102.
- KUNDE R. M., LIDER L. A., SCHMITT R. V. (1968): *A test of Vitis resistance to Xiphinema index*, «American Journal of Enology and Viticulture», 19, pp. 30-36.
- KUSHIDA A., SUWA N., UEDA Y., MOMOTA Y. (2003): *Effects of Crotonalaria juncea and C. spectabilis on hatching and population density of the soybean cyst nematode, Heterodera glycines (Tylenchida: Heteroderidae)*. «Applied Entomology and Zoology», 38, pp. 393-399.
- LAMBERTI F., ROCA F. (1987): *Present status of nematodes as vectors of plant viruses*, in: Vistas on Nematology. Eds. J. A.Veech e D. W.Dickson. «Journal of Nematology», 25, pp. 321-328.
- LAMBERTI F. (1991): *Nematodi parassiti della vite e relativa lotta*, «Vignevini», 11, 43-46.
- MALIK M.S., SANGWAN N.K., DHINDSA K.S., VERMA K.K., BHATTI D.S. (1987): *Nematicidal efficacy of some monoterpenes and related derivatives*, «Pesticides», 21, pp. 30-32.
- MANKAU R. (1975): *Bacillus penetrans n. comb. causing a virulent disease of plant parasitic nematodes*, «Journal of Invertebrate Pathology», 26, pp. 333-339.
- MARTELLI G. P. (2002): *Le principali virosi della vite oggi*, «Informatore fitopatologico», 52, pp. 18-27.
- MASHELA P.W., MPHOSI M.S., SHIMELIS H., MOKGALONG N.M. (2007): *Interactions of Cucumis myriocarpus, Lippia javanica and Ricinus communis organic amendments on suppression of Meloidogyne incognita*, «Journal of Phytopathology», 155, pp. 690-693.

- MAUCHLINE T.H., KERRY B.R., HIRSCH P.R. (2002): *Quantification in soil and the rhizosphere of the nematophagous fungus Verticillium chlamyosporium by competitive PCR and comparison with selective plating*, «Applied and Environmental Microbiology», 68, pp. 1846-1853.
- MERWIN I.A., STYLES W.C. (1989): *Root-lesion nematode, potassium deficiency and prior cover crops as factors in apple plant disease*, «Journal of the American Society of Horticultural Science», 114, pp. 724-728.
- MILLER P.M., TURNER N.C., TOMLINSON H. (1973): *Toxicity of leaf and stem extracts to Tylenchorhynchus dubius*, «Journal of Nematology», 5, pp. 173-177.
- MOJTAHEDI H., SANTO G.S., HANG A.N., WILSON. J.H. (1991): *Suppression of root-knot nematode populations with selected rapeseed cultivars as green manure*, «Journal of Nematology», 23, pp. 170-174.
- MOLINARI S., MIACOLA C. (1997): *Catalase induction in galls by Meloidogyne-tomato root interactions in vitro*, «Nematologia mediterranea», 25, pp. 299-303.
- MOLINARI S. (2007): *New developments in understanding the role of salicylic acid in plant defence*, «CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources», 2, 067.
- MOLINARI S. (2008a): *Salicylic acid as an elicitor of resistance to root-knot nematodes in tomato*, «Acta Horticulturæ», 789, pp. 119-126.
- MOLINARI S. (2008b): *Salicylic acid acts as a resistance elicitor on tomato seedlings attacked by root-knot nematodes: effect of plant age*, «Redia», 91, in press
- MORTON C. O., HIRSCH P. R., PEBERDY J. P., KERRY B. R. (2003a): *Cloning and genetic variation in protease VCP1 from the nematophagous fungus Pochonia chlamyosporia*, «Mycological Research», 107, pp. 38-46.
- NOEL G. R., ATIBALENTJA N., DOMIER L.L. (2005): *Emended description of Pasteuria nishizawae*, «International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology», 55, pp. 1681-1685.
- NOLING J.W. (2000): *Effects of continuous culture of a resistant tomato cultivar on Meloidogyne incognita soil population density and pathogenicity*, «Journal of Nematology», 32, pp. 452.
- NOUR S.M., LAWRENCE J.R., ZHU H., SWERHONE G.D.W., WELSH M., WELACKY T.W., TOPP E. (2003): *Bacteria associated with cysts of the soybean cyst nematode (Heterodera glycines)*, «Applied and Environmental Microbiology», 69, pp. 607-615.
- OKA Y., NACAR S., PUTIEVSKY E., RAVID U., YANIV Z., SPIEGEL Y. (2000): *Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematode*, «Phytopathology», 90, pp. 710-715.
- PLOEG A.T. (1999): *Greenhouse studies on the effect of marigolds (Tagetes spp.) on four Meloidogyne species*, «Journal of Nematology», 31, pp. 62-69.
- QUARLES W. (1992): *Botanical pesticides from Chenopodium*, «IPM Practitioner», 14, pp. 1-11.
- RASKI D.J., HEWITT W.B., GOHEEN A.C., TAYLOR C.E., TAYLOR R. H. (1965): *Survival of Xiphinema index and reservoirs of fanleaf virus in fallowed vineyard soil*, «Nematologica», 11, pp. 349-352.
- REDDY K.C., SOFFES A.R., PRINE G.M., DUNN R.A (1986): *Tropical legumes for green manure. II Nematode populations and their effects on succeeding crop yields*, «Agronomy Journal», 78, pp. 5-10.
- REINA Y., CROZZOLI R., GRECO N. (2002): *Nematicidal effect of aqueous extracts from leaves of rubber tree (Calotropis procera) on different species of plant parasitic nematodes*, «Fitopatologia Venezolana», 15, pp. 44-49.

- RICH J.R., OLSON S.M. (1999): *Utility of Mi gene resistance in tomato to manage Meloidogyne javanica in North Florida*, «Journal of Nematology», 31, pp. 715-718.
- ROBERTS P.A. (1995): *Conceptual and practical aspects of variability in root-knot nematodes related to host plant resistance*, «Annual Review of Phytopathology», 33, pp. 199-221.
- ROSSO L.C., CIANCIO A., FINETTI SIALER M.M. (2007): *Application of molecular methods for detection of Pochonia chlamydosporia from soil*, «Nematropica», 37, pp. 1-8.
- ROWHANI A., CHAY C., GOLINO D.A., FALK B.W. (1993): *Development of a polymerase chain reaction technique for the detection of Grapevine fanleaf virus in grapevine tissues*, «Phytopathology», 83, pp. 749-753.
- SANTOS M.A., FERRAZ S., MUCHOVEJ J.J. (1992): *Evaluation of 20 species of fungi from Brazil for biocontrol of Meloidogyne incognita race 3*, «Nematropica», 22, pp. 183-192.
- SAXENA R., SHARMA R. (2005): *Efficacy of aqueous extracts of wild medicinal plants on J2 mortality of root knot nematode, Meloidogyne incognita*, «Environmental Ecology», 23, pp. 164-167.
- SAYRE R.M., STARR M.P. (1988): *Bacterial diseases and antagonism of nematodes*, in *Diseases of nematodes*, a cura di G. O. Poinar e H. B. Jansson, CRC Press, Vol. I, pp. 69-101.
- SHERIF A., HALL R.G., EL AMAMY M. (1987): *Drugs, insecticides and other agents from Artemisia*, «Medical Hypotheses», 23, 187-193.
- SIKORA R.A., BRIDGE J., STARR J.L. (2005): *Management practices: an overview of integrated nematode management technologies*, in: *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*, 2ª Edizione, a cura di M. Luc, R.A. Sikora e J. Bridge, CABI Publishing, Wallingford, UK, pp. 793-825.
- STARR J.L., BRIDGE J., COOK R. (2002): *Resistance to plant-parasitic nematodes: history, current use and future potentials*, in: *Plant Resistance to Parasitic Nematodes*, a cura di Starr J. L., Cook R. e Bridge J., CAB International, Wallingford, UK, pp. 1-22.
- STARR J.L., ROBERTS P.A. (2004): *Resistance to plant-parasitic nematodes*, in: *Nematology, Advances and Perspective*, Vol. 2, a cura di Z. X. Chen, S. Y.Chen e D.W. Dickson, CAB International, UK, pp. 879-907.
- STARR M.P., SAYRE R.M. (1988): *Pasteuria thornei sp. nov. and Pasteuria penetrans sensu stricto emend., mycelial and endospore-forming bacteria parasitic, respectively, on plant parasitic nematodes of the genera Pratylenchus and Meloidogyne*, «Annales de l'Institut Pasteur/Microbiologie», 139, pp. 11-31.
- STIRLING G. R. (1991): *Biological control of plant parasitic nematodes: progress, problems and prospects*, CAB International, Wallingford, UK, 282 pp.
- STURHAN D., WINKELHEIDE R., SAYRE R.M., WERGIN W.P. (1994): *Light and electron microscopical studies of the life-cycle and developmental stages of a Pasteuria isolate parasitizing the pea cyst nematode, Heterodera goettingiana*, «Fundamental and Applied Nematology», 17, pp. 29-42.
- TAYLOR C.E., RASKI D.J. (1964): *On the transmission of grape fanleaf by Xiphinema index*, «Nematologica», 10, pp. 489-495.
- TAYLOR C. E., ROBERTSON W.M. (1970): *Sites of virus retention in the alimentary tract of the nematode vectors, Xiphinema diversicaudatum (Micol.) and X. index (Thorne and Allen)*, «Annals of Applied Biology», 66, pp. 375-380.
- TORSVIK V., GOKSØYR J., DAAE F.L. (1990): *High diversity in DNA of soil bacteria*, «Applied and Environmental Microbiology», 56, 782-787.
- TZORTZAKAKIS E.A., GOWEN S.R. (1994): *Evaluation of Pasteuria penetrans alone and in*

- combinatin with oxamyl, plant resistance and solarization for control of Meloidogyne spp. on vegetables grown in greenhouses in Crete*, «Crop Protection», 13, pp. 455-462.
- UHLNBROEK J.H., BIJLOO J.D. (1958): *Investigations on nematocides I. Isolation and structure of a nematocidal principle occurring in Tagetes roots*, «Rec. Trav. Chim. Pays-Bas», 77, pp. 1004-1009.
- VERDEJO-LUCAS S. (1992): *Seasonal population fluctuations of Meloidogyne spp. and the Pasteuria penetrans group in kiwi orchards*, «Plant Disease», 76, pp. 1275-1279.
- VERPOORTE R., MEMELINK J. (2002): *Engineering secondary metabolite production in plants*, «Current opinion in biotechnology», 13, pp. 181-187.
- VIAENE N.M.M., ABAWI G.S. (2000): *Hirsutella rhossiliensis and Verticillium chlamydosporium as Biocontrol agents of the root-knot nematode Meloidogyne hapla on lettuce*, «Journal of Nematology», 32, pp. 85-100.
- WALKER J.T., MELIN J.B. (1996): *Mentha piperita, Mentha spicata and their effects of their essential oils on Meloidogyne in soil*, «Journal of Nematology (Suppl.)», 28, pp. 629-635.
- WALKER M.A., WOLPERT J.A., & WEBER E. (1994): *Field screening of grape rootstock selections for resistance to fanleaf degeneration*, «Plant Disease», 78, pp. 134-136.
- WIDMER T.L., ABAWI G.S. (2000): *Mechanism of suppression of Meloidogyne hapla and its damage by a green manure of Sudan grass*, «Plant Disease», 84, pp. 562-568.
- WILLIAMS A.B., STIRLING G.R., HAYWARD A.C., PERRY J. (1989): *Properties and attempted culture of Pasteuria penetrans, a bacterial parasite of root-knot nematodes (Meloidogyne javanica)*, «Journal of Applied Bacteriology» 67, pp. 145-156.
- WILLIAMSON V.M. (1998): *Root-knot nematode resistance genes in tomato and their potential for future use*, «Annual Reviews of Phytopathology», 36, pp. 277-291.
- WILLIAMSON V.M., KUMAR A., (2006): *Nematode resistance in plants: the battle underground*, «Trends in Genetics», 22, pp. 396-403.
- YOUNG N.D., MUDGE J., (2002): *Marker-assisted selection for soybean cyst nematode resistance*, in: *Plant Resistance to Parasitic Nematodes*, a cura di J.L. Starr, R. Cook e J. Bridge, CAB International, Wallingford, UK, pp. 241-252.

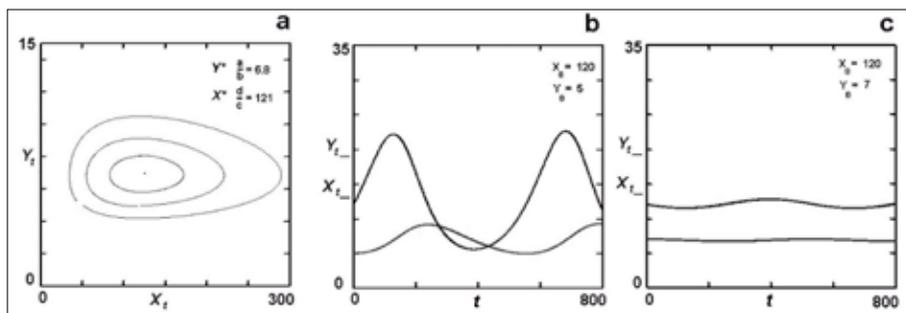


Fig. 1 Applicazione del modello LV alla dinamica di popolazione per un nematode ospite (X) e prevalenza da *Pasteuria* (Y). Rappresentazione della dinamica nello spazio delle fasi, partendo da diversi valori iniziali di densità e prevalenza (a). La sovrapposizione dell'ampiezza del satellite mostra la convergenza verso il punto d'equilibrio di coordinate X^* , Y^* . La stessa simulazione nel tempo t , a partire da diversi valori iniziali, mostra la variazione nelle fluttuazioni temporali (b, c).

Antagonista	Nematode	Efficacia ^a	Autori
<i>Pasteuria penetrans</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	G > 90	Stirling, 1991
<i>Dactylellina ellipsozona</i>	<i>M. incognita</i>	J2 > 90	Gaspard & Mankau, 1987
<i>P. penetrans</i>	<i>M. javanica</i>	E, 49 E, 40- 90 ^a	Gowen & Tzortzakakis, 1992
<i>D. ellipsozona</i>	<i>M. incognita</i>	G, 49 - 61 EM, 25 - 33 J2, 4.9 - 5	Santos et al., 1992
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	<i>M. incognita</i>	J, 30-40 E, 28-66	De Leij et al., 1993
<i>P. chlamydosporia</i>	<i>M. hapla</i>	J, 7-13 E, 42-44	De Leij et al., 1993
<i>P. penetrans</i>	<i>Meloidogyne</i> spp.	G, 57- 67 G, 38-82 ^b E, 0 - 49 E, 99 - 43 ^b	Tzortzakakis & Gowen, 1994
<i>P. chlamydosporia</i>	<i>M. incognita</i>	E, 34 - 40	Kerry & Bourne, 1996
<i>Hirsutella rhossiliensis</i>	<i>M. hapla</i>	G, 74	Chen et al., 1999
<i>P. chlamydosporia</i>	<i>M. hapla</i>	J2, 50	Viaene & Abawi, 2000
<i>P. penetrans</i>	<i>M. arenaria</i>	F, 56	Cetintas et al., 2003

^a Riduzione come % del testimone. E = uova / g radice; EM = masse d'uova / g radice; G = indice di galle; F = femmine / g radice; J2 = larve / 100 cc terreno

^b In combinazione con oxamyl.

Tab. 1 Principali antagonisti di nematodi ed efficacia dei trattamenti sperimentali riportata

