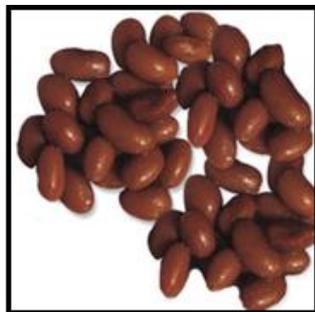


# Principi attivi di origine naturale per la concia delle sementi

Luca Riccioni, Laura Orzali

*Consiglio per la ricerca e la sperimentazione in agricoltura, Centro di ricerca per la patologia vegetale (CRA-PAV), Roma*



# IL SEME NELLA PRODUZIONE AGRICOLA

Una **BUONA QUALITÀ** del seme rappresenta un prerequisito essenziale per una produzione di successo.

Principali caratteristiche qualitative delle sementi :

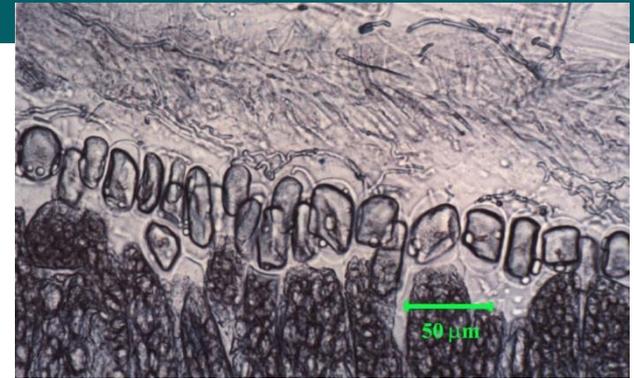
- **CARATTERI AGRONOMICI:**

- Valore genetico
- Germinabilità
- Umidità
- Integrità dei semi
- Purezza
- Vigore germinativo
- Peso specifico

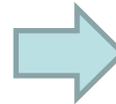
- **STATO SANITARIO:** la sanità del seme è in funzione dell'assenza di agenti patogeni (funghi, batteri, virus, fitoplasmi, ..)

# PATOGENI TRASMISSIBILI PER SEME

Alcuni patogeni possono essere localizzati sulla superficie (**contaminazione**) o all'interno dei tessuti del seme (**infezione**).



Il seme rappresenta quindi uno dei **principali veicoli** per la diffusione dei patogeni vegetali.

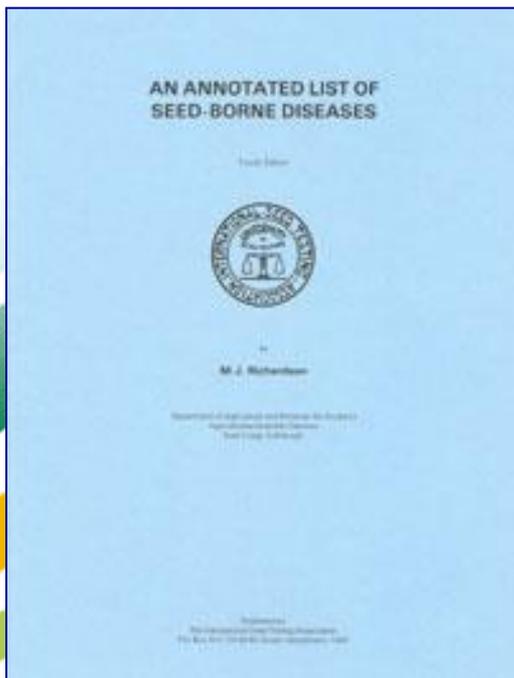


'Blotter test'



# LE MALATTIE TRASMISSIBILI PER SEME

## AN ANNOTATED LIST OF SEED-BORNE DISEASES: DAUCUS CAROTA



<i>ALTERNARIA DAUCI</i>	Fungo
<i>ALTERNARIA RADICINA</i>	Fungo
<i>CERCOSPORA CAROTAE</i>	Fungo
<i>DOTHIORELLA DAUCI</i>	Fungo
<i>ERYSIPHE HERACLEI</i>	Fungo
<i>GIBBERELLA AVENACEA</i>	Fungo
<i>PHOMA EXIGUA</i>	Fungo
<i>PHOMA ROSTRUPHII</i>	Fungo
<i>PHOMOPSIS DAUCI</i>	Fungo
<i>SCLEROTINIA SCLEROTIORUM</i>	Fungo
<i>SEPTORIA DAUCINA</i>	Fungo

<i>CARROT MOTLEY DWARF</i>	Virus
----------------------------	-------

<i>XANTOMONAS CAMPESTRIS</i>	Batterio
------------------------------	----------

<i>DITYLENCHUS DIPSACI</i>	Nematode
----------------------------	----------

# LE MALATTIE TRASMISSIBILI PER SEME

Le **MALATTIE TRASMISSIBILI PER SEME** rappresentano un pericolo per una produzione di successo, sia dal punto di vista **quantitativo** che **qualitativo**.

**Rischi** connessi alla presenza dei patogeni sulle sementi:

- ✧ Riduzione di germinabilità
- ✧ Danni alle giovani plantule
- ✧ Comparsa di focolai di infezione primaria
- ✧ Diffusione nel territorio di specie o varianti del patogeno
- ✧ Diffusione del patogeno anche a grande distanza



# LA CONCIA DEL SEME IN AGRICOLTURA

Il trattamento di **CONCIA AL SEME** rappresenta una procedura essenziale per la prevenzione e la gestione delle malattie, in particolare per le malattie fungine trasmissibili per seme .

In **AGRICOLTURA TRADIZIONALE** vengono principalmente utilizzati prodotti di sintesi a finalità:

- ✦ **PREVENTIVA:** contro attacchi del patogeno presenti nel terreno
- 
- ✦ **‘CURATIVA’:** contro patogeni presenti sul seme o insediati negli strati dei tegumenti



# LA CONCIA DEL SEME IN AGRICOLTURA BIOLOGICA

In **AGRICOLTURA BIOLOGICA**: impossibilità di impiegare prodotti chimici per la concia del seme (eccezione: formulati a base rameica)

➔ Necessità di trovare soluzioni alle problematiche connesse alla produzione del seme biologico.

## **RUOLO DELLA RICERCA:**

Sviluppo di nuovi e validi **metodi di trattamento delle sementi alternativi ai fungicidi attualmente utilizzati**

Tali trattamenti devono risultare efficaci:

- 1) Nel contenere il patogeno
- 2) Nel non alterare la vitalità del seme



# STRATEGIE DI LOTTA ALLE MALATTIE TRASMISSIBILI PER SEME

METODI FISICI	Acqua calda, Aria calda
	Lavaggio, spazzolatura, pellicolatura
CONTROLLO BIOLOGICO	Agenti di biocontrollo (BCA) (Cerall)
SOSTANZE NATURALI DI ORIGINE VEGETALE	Oli essenziali
	Farine vegetali (semi di senape, buccia di melograno, ecc)
SOSTANZE NATURALI DI ORIGINE ANIMALE	Latte in polvere
INDUTTORI DI RESISTENZA	Elicitori (chitosano, perossido di idrogeno, etilene, acido jasmonico...)
MINERALI	Ossicloruri e idrossidi di rame
SOSTANZE ORGANICHE	Acido acetico, acido lattico
COMBINAZIONI	varie



## OLI ESSENZIALI

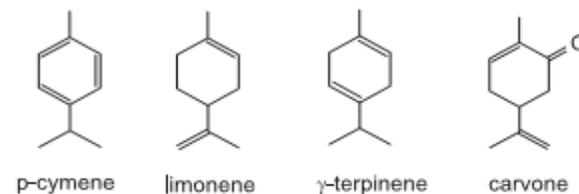
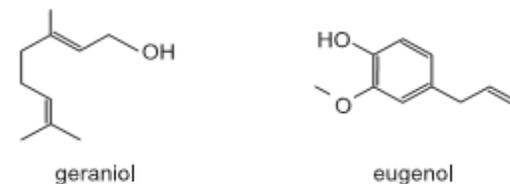
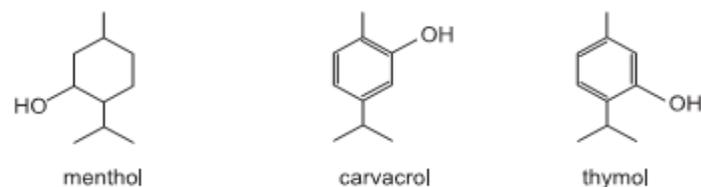
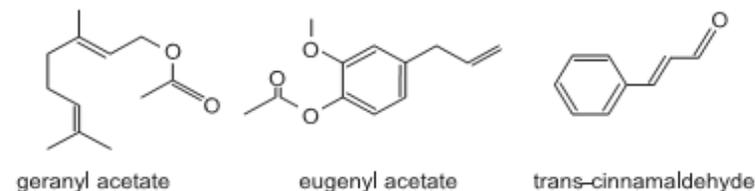
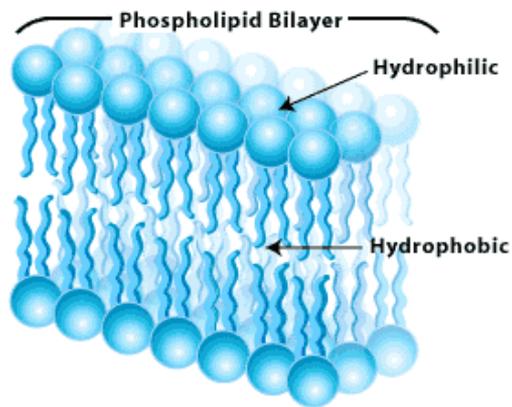
- Gli oli essenziali sono prodotti metabolici accumulati dalle piante ed estratti da foglie, fiori, radici e corteccia.
- Sono stati ampiamente studiati in diversi campi per le loro proprietà antimicrobiche (antifungine e antibatteriche).

Oli saggiati: olio di chiodi di garofano; olio di menta; olio di melaleuca; olio di rosmarino; olio di timo (...)

# INTRODUZIONE – Trattamenti al seme in agricoltura biologica

## Meccanismi di azione studiati:

✧ **Perdita di integrità di membrana cellulare, dove si accumulano grazie alle proprietà LIPOFILICHE.**



✧ **Inibizione di respirazione cellulare.**

Carson *et al.* Clin. Microbiol. Rev., 19: 50–62 (2006). Cox *et al.* J. Appl. Microbiol. 2000, **88**, 170–175 (2000)

# INTRODUZIONE – Oli essenziali: regolamentazione Europea

11.6.2011

EN

Official Journal of the European Union

L 153/1

COMMISSION IMPLEMENTING REGULATION (EU) No 540/2011

of 25 May 2011

implementing Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council as regards the list of approved active substances

N°	Common name and identification number	Date of approval	Specific provisions
228	Tea tree oil CAS No 68647-73-4	1 Sept 2009	Fungicide
240	Citronella oil CAS No 8000-29-1	1 Sept 2009	Herbicide
241	Clove oil CAS No 94961-50-2	1 Sept 2009	Fungicide and bactericide
242	Rape seed oil CAS No 8002-13-9	1 Sept 2009	Insecticide and acaricide
243	Spear mint oil CAS No 8008-79-5	1 Sept 2009	Plant growth regulator

➤ I PPP (Plant Protection Products) inclusi nella lista delle sostanze attive approvate possono essere distribuiti e utilizzati solo se sono stati autorizzati (REGISTRATI) nei singoli stati membri.

# INTRODUZIONE – Oli essenziali: regolamentazione Europea

2008R0889 — IT — 01.07.2010 — 003.002 — 77

▼B

ALLEGATO II

Antiparassitari — prodotti fitosanitari di cui all'articolo 5, paragrafo 1

## Regolamento di applicazione CE 354/2014

### 1. Sostanze di origine vegetale o animale

Autorizzazione	Denominazione	Descrizione, requisiti di composizione, e per l'uso
A	Azadiractina estratta da <i>Azadirachta indica</i> (albero del neem)	Insetticida
A	Cera d'api	Protezione potatura
A	Gelatina	Insetticida
A	Proteine idrolizzate	Sostanze attrattive, solo in applicazioni a rizzate in combinazione con altri prodotti adeguati del presente elenco
A	Lecitina	Fungicida
A	Oli vegetali (ad es.: olio di menta, olio di pino, olio di carvi)	Insetticida, acaricida, fungicida e inibitore della germogliazione
A	Piretrine estratte da <i>Chrysanthemum cinerariaefolium</i>	Insetticida
A	Quassia estratta da <i>Quassia amara</i>	Insetticida, repellente
A	Rotenone estratto da <i>Derris</i> spp., <i>Lonchocarpus</i> spp. e <i>Therphrosia</i> spp.	Insetticida

**OLI VEGETALI**  
(e.g. olio di menta, olio di pino, olio di carvi)  
**UTILIZZO: Insetticidi, acaricidi, fungicidi e inibitori della germinazione.**

# INTRODUZIONE – Oli essenziali in Italia

- In Italia sono stati registrati e autorizzati due formulati a base di olio di garofano e di olio di menta.

Formulate	Italian Registration Number	Active substance	Specific provisions
BIOX-M	14853	Spearmint oil	antigermination treatment in potato post-harvest
XEDAGAR	15459	Clove oil	post-harvest fungicide in apple and pear fruits
TIMOREX	Registration in progress	Tea tree oil	generic fungicide

- L'olio di melaleuca è già stato approvato in altri paesi europei (Bulgaria, Polonia, Lituania, Bielorussia) e extraeuropei (Israele e alcuni stati dell'America latina).

## CRA-PAV: Attività di Ricerca (2010-2014)

### Piano Nazionale Sementiero per l'Agricoltura Biologica,

- *In vitro* (su terreno di coltura artificiale): valutazione di **attività fungicida e fungistatica** degli oli essenziali contro patogeni fungini trasmissibili per seme.
- *In vivo* (su seme): **fitotossicità**.
- *In vivo* (su seme): valutazione dell'**attività antifungina** del trattamento di concia al seme con gli oli (immersione, spruzzo, pellicolatura)
- Prove in serra/campo per la conferma dei risultati

# LE COLTURE



## Grano duro

## Soia

## Riso

## Pomodoro

*Fusarium  
graminearum*

*Diaporthe phaseolorum var. calivora*  
*Phomopsis longicolla*

*Fusarium  
fujikuroi*

*Fusarium. oxysporum f.sp. lyc*  
*F. oxysporum f.sp. rad.-lyc*

Mal del piede  
dei cereali

Cancro dello stelo  
Avvizzimento dei semi

Bakane

Tracheofusariosi

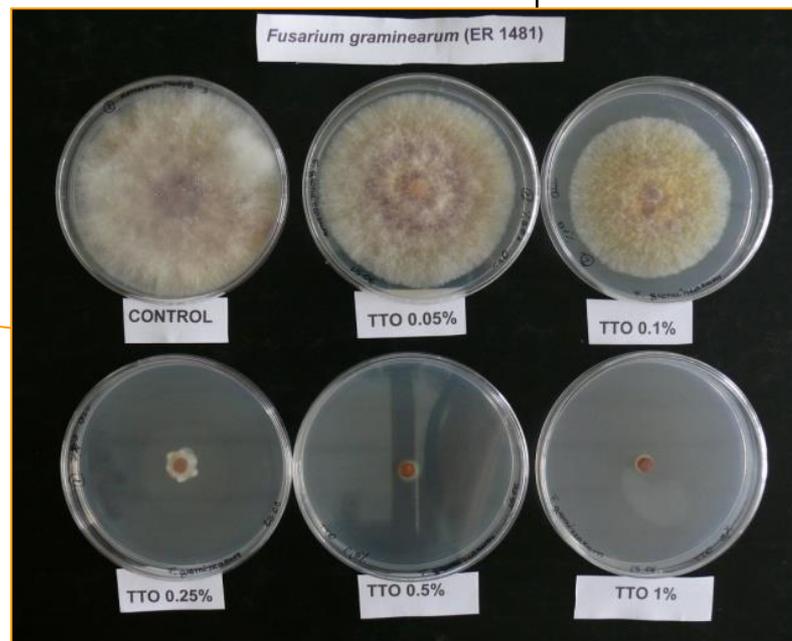
# Valutazione CONCENTRAZIONI EFFICACI: prove *in vitro*

Fungi	Essential oil MIC <sub>90</sub>						
	Thyme	Tea tree	Clove	Laur el	Rosemary	Mint	Oregano
<i>Peyronellaea pinodella</i> strain 1	0.05	0.30	0.04	0.68	0.77	0.09	0.07
<i>Peyronellaea pinodella</i> strain 2	0.05	0.28	0.04	0.67	0.65	0.09	0.07
<i>Peyronellaea pinodes</i>	0.06	0.31	0.05	0.71	0.72	0.09	0.07
<i>Fusarium fujikuroi</i>	0.05	0.33	0.06	0.92	0.75	0.11	0.07
<i>Diaporthe p. var. caulivora</i>	0.03	0.46	0.04	0.98	0.87	0.09	0.06
<i>Phomopsis longicolla</i> strain 1	0.04	0.40	0.07	1.25	1.02	0.09	0.06
<i>Phomopsis longicolla</i> strain 2	0.04	0.34	0.05				
<i>Ascochyta lentis</i>	0.04	0.28	0.07				
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	0.07	0.46	0.06				
<b><i>Fusarium graminearum</i></b>	<b>0.07</b>	<b>0.35</b>					
<i>Fusarium culmorum</i>	0.07	0.37					
<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	<0.05	0.20					
<i>Ascochyta rabiei</i>	0.05	0.22					
<i>Alternaria dauci</i>	0.07	0.38					
<i>Alternaria radicina</i>	0.16	0.38					
<i>Drechslera avenae</i>	0.05	0.19					

Prove *in vitro* di accrescimento miceliale in presenza degli oli

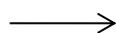


Scelta delle CONCENTRAZIONI EFFICACI



# Valutazione in vivo della SOGLIA DI FITOTOSSICITA' degli oli

Prove *in vivo* di fitotossicità e degli oli tramite valutazione di germinabilità



Scelta della concentrazione efficace NON FITOTOSSICA degli oli di: **timo**, **melaleuca**, **menta**, **chiodi di garofano**



	SOGLIA DI FITOTOSSICITA'				TEMPI DI IMMERSIONE
	Olio di garofano	Olio di menta	Olio di melaleuca	Olio di timo	
Soia	0.2%	0.2%	>2%	0.2%	20'
Pomodoro	0.1%	0.1%	-	-	30'
Riso	0.2%	0.2%	>2%	0.2%	30'
Grano duro	0.2%	0.2%	>2%	0.2%	30'

Trattamento al seme : **IMMERSIONE** in soluzione H<sub>2</sub>O

# Prove *in vivo* efficacia antifungina – GRANO DURO

Prove *in vivo* (su seme) tramite 'blotter test': rilievo % semi infetti

Verifica su seme dell'efficacia antifungina degli oli di: timo, melaleuca, (menta e garofano in corso)



Semi inoculati con *F. graminearum*  
NT



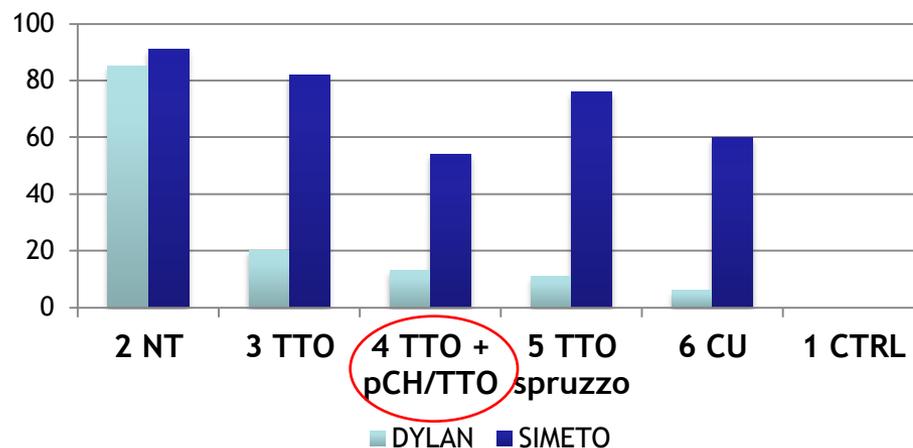
Semi inoculati con *F. graminearum*  
TTO 2%

## Risultati anni precedenti TO e TTO per immersione

Specie	NT	TO 0.2%	TTO 2%	CU
GRANO DURO	100	60	34	64

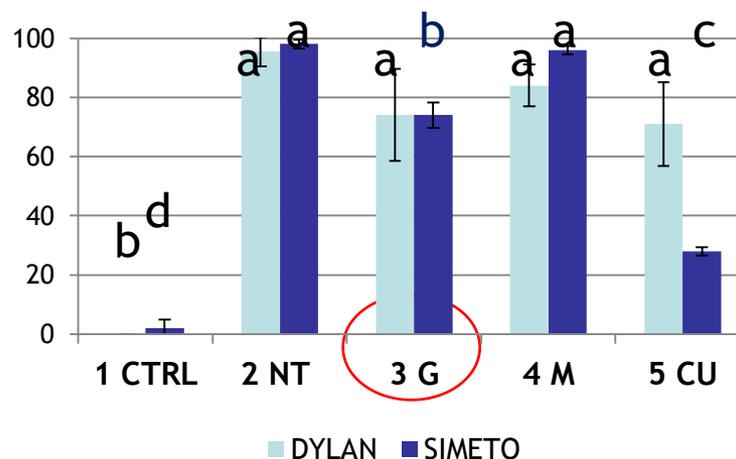
# Prove *in vivo* efficacia antifungina – GRANO DURO II° anno

- Olio di melaleuca (TTO) a spruzzo con e senza pellicolatura (pCH/TTO)
- Rame (CU)



- Olio di menta (M)
- Olio di garofano (G)
- Rame (CU)

% semi infetti da *F. graminearum*



# Prove in campo – GRANO DURO I anno

CONCIA PER IMMERSIONE



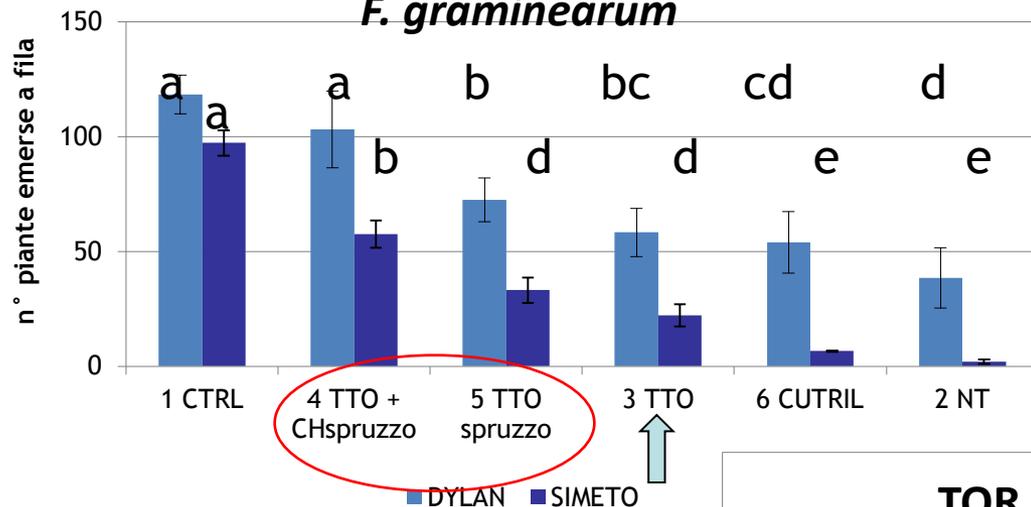
Verifica in campo dell'efficacia del trattamento di concia con gli [oli di timo \(TO\)](#) e [melaleuca \(TTO\)](#) tramite rilievi di:

- ✓ Emergenza
- ✓ Sintomi (indice di McKinney)

# Prove in campo – GRANO DURO II anno

## INVIOLATELLA – inoculo artificiale

*F. graminearum*



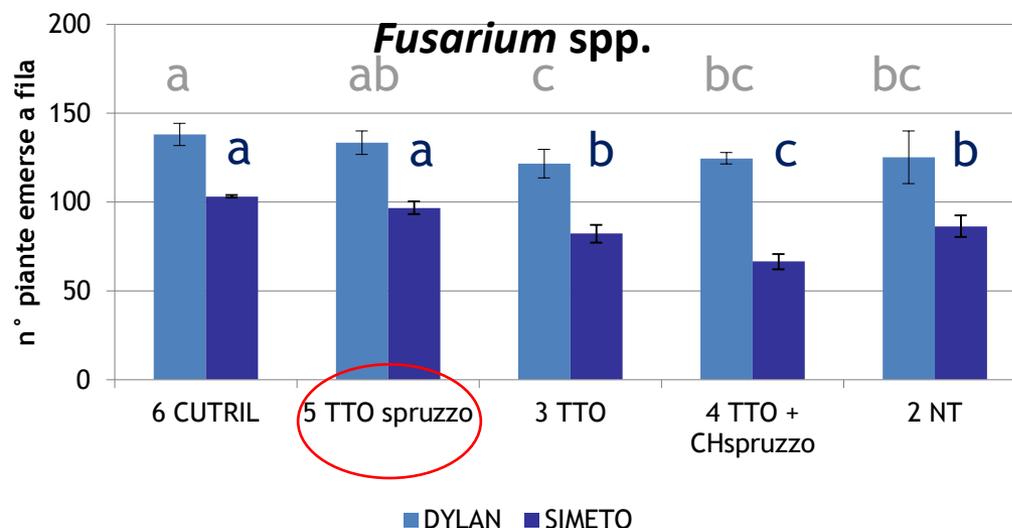
TRATTAMENTI:

olio di melaleuca (TTO) per  
IMMERSIONE e a SPRUZZO.

RILIEVI: numero di piante emerse

## TOR MANCINA – inoculo naturale

*Fusarium spp.*



Macchina  
conciante  
ROTOSTAT



# Prove *in vivo* efficacia antifungina – RISO 2 anno



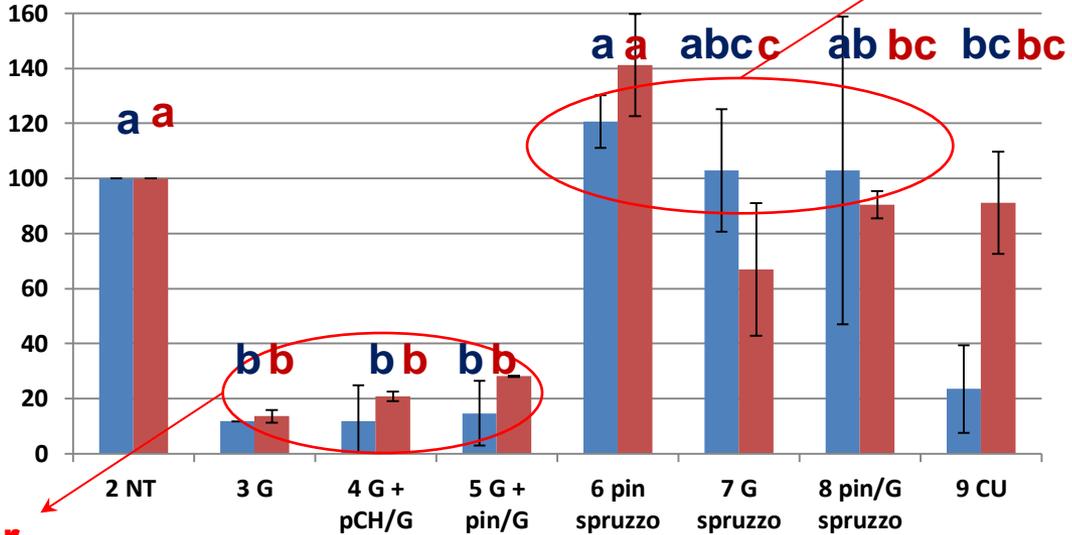
## BLOTTER TEST

➤ TRATTAMENTI: **olio di garofano (G)** per IMMERSIONE e a SPRUZZO con pellicolante

CH: chitosano  
 Pin: pinolene  
 G: olio di garofano  
 CU: rame

RISO % di SEMENTE INFETTA da *F. fujikuroi*

**Trattamenti a spruzzo**



**Trattamenti per immersione**

■ GALILEO artificialmente infetto  
 ■ CARNISE naturalmente infetto

# Prove in serra – RISO cv. Galileo



INOCULO  
OLIO DI GAROFANO

INOCULO  
NESSUN TRATTAMENTO

NESSUN INOCULO  
NESSUN TRATTAMENTO

- TRATTAMENTI: **olio di garofano (G)** per IMMERSIONE

# Prove *in vivo* efficacia antifungina – SOIA



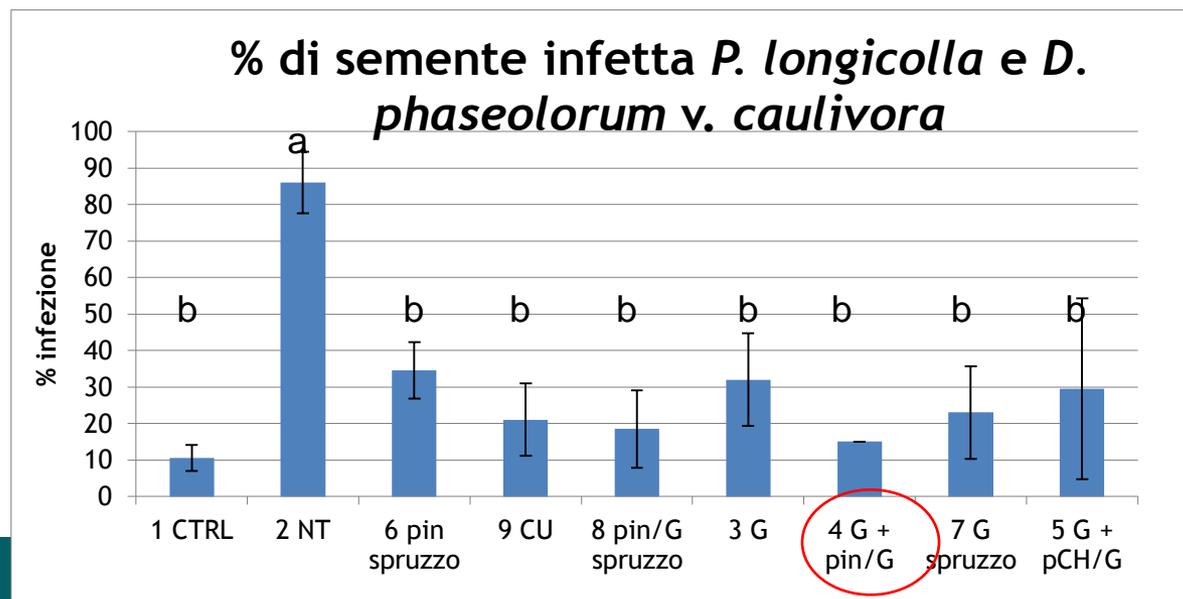
% semi infetti da <i>Phomopsis</i> spp. ( su seme con inoculo naturale)					
1) NT	3) TTO	4) TO	5) TTO+s	6) TO+s	7) CU
15	6	9	3	6	4

**BLOTTER TEST**  
**I ANNO TRATTAMENTI:**  
**olio di melaleuca (TTO) e timo (TO)**  
**per IMMERSIONE**  
**e IMMERSIONE+ SPRUZZO Ch+olio**

% semi infetti da <i>P. longicolla</i> e <i>D. phaseolorum</i> var. <i>caulivora</i> (inoculo artificiale)						
2) NT	3) TTO	4) TO	5) TTO+s	6) TO+s	7) CU	1) CTRL
99	16	22	10	10	31	4

CH: chitosano  
 Pin: pinolene  
 G: olio di garofano  
 CU: rame

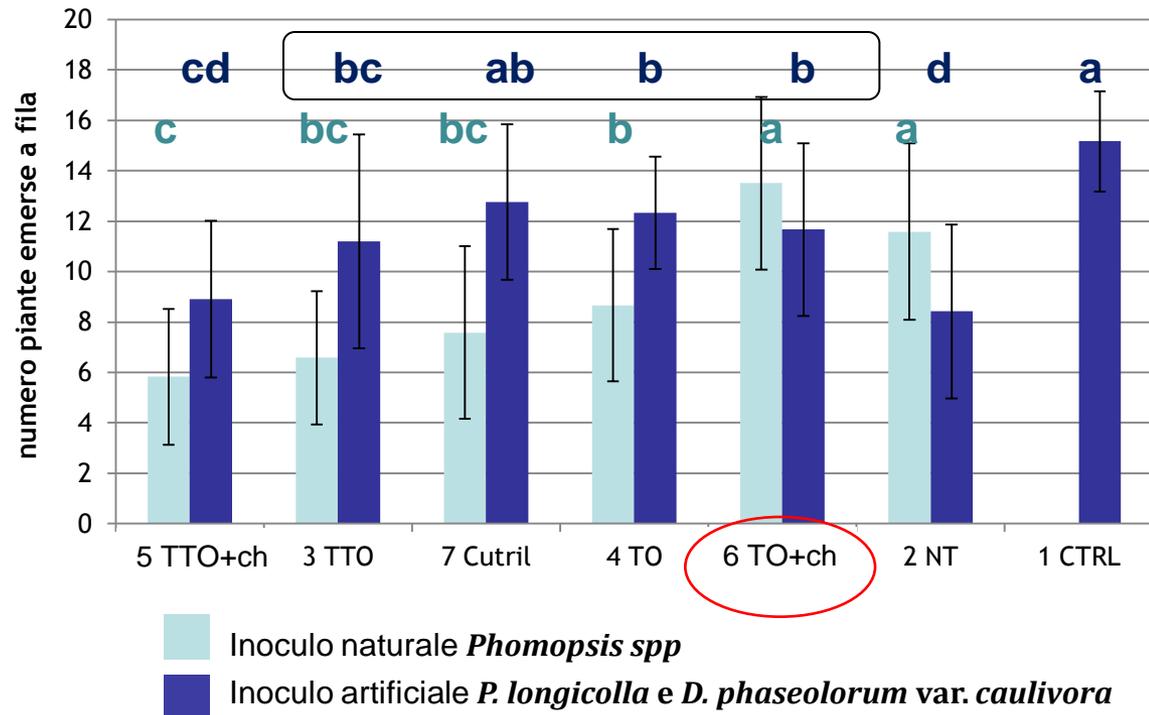
**BLOTTER TEST**  
**II ANNO TRATTAMENTI:**  
**olio di garofano (G)**  
**per IMMERSIONE e a SPRUZZO**



# Prove in campo – SOIA I° ANNO



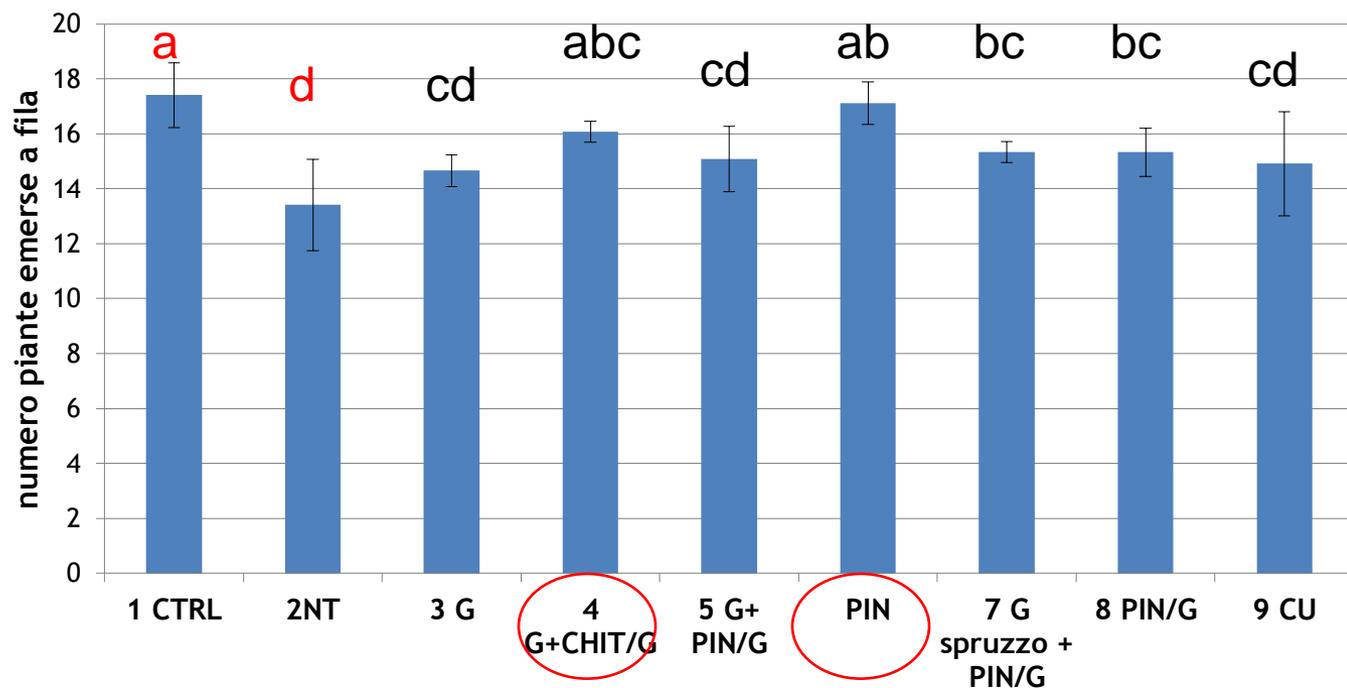
- TRATTAMENTI: IMMERSIONE **olio di melaleuca** (TTO) e **timo** (TO) e IMMERSIONE+SPRUZZO (TTO+ch e TO+ch)
- RILIEVI: numero piante emerse



# Prove in campo – SOIA II ANNO solo su inocul. artificiale



- TRATTAMENTI: **olio di garofano (G)** per IMMERSIONE e a SPRUZZO con pellicolante
- RILIEVI: numero piante emerse



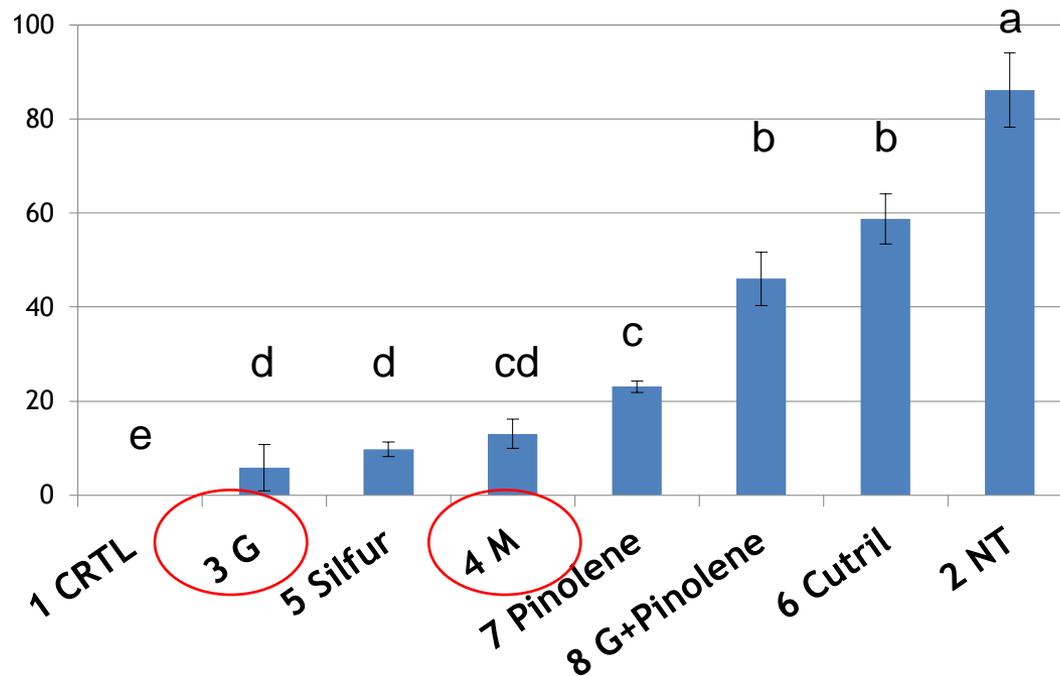
# Prove *in vivo* efficacia antifungina – POMODORO (pera d'Abruzzo)

## BLOTTER TEST



- TRATTAMENTI: **olio di garofano (G)** per IMMERSIONE e a SPRUZZO e **olio di menta (M)** per IMMERSIONE.

% semi infetti da *F. oxysporum* f.sp. lyc razza 1 e  
*F. oxysporum* f.sp. rad.-lyc



# CONCLUSIONI

Trattamenti al seme con oli essenziali (per immersione) hanno:

- ridotto il numero di semi infetti (blotter test);
- migliorato l'emergenza in campo/serra;
- ridotto la severità dei sintomi delle piantine in campo/serra.
- mostrato un'efficacia paragonabile ai controlli con trattamento convenzionale bio (rame).
- Evidenziato una fitotossicità dipendente dalla dose e dalla coltura.

L'uso di un pellicolante a base di polimeri biodegradabili può migliorare l'effetto della concia a spruzzo.

## Ringraziamenti



### Si ringraziano I collaboratori coinvolti:

Laura Orzali,  
Elvira Lotti,  
Enzo Marinelli,  
Stefano Scalercio,  
Vincenzo Di Dio,  
Giuseppe di Giambattista  
CNR, ICTP, Pozzuoli, Naples  
CRA-QCE (Dr. Fabrizio Quaranta)

Grazie per l'attenzione