CONTROLLO DEI NEMATODI GALLIGENI SU LATTUGA MEDIANTE VAPORE E SOSTANZE A REAZIONE ESOTERMICA: RISULTATI DI UN BIENNIO DI SPERIMENTAZIONE

Giovanna Curto*, Elisabetta Moscheni**, Roberto Santi*,
Marco Mainardi**, Elisabetta Dallavalle***

Introduzione

I nematodi galligeni del genere *Meloidogyne* sono parassiti animali molto dannosi a diverse: ortive, fra le quali pomodoro (Neal, 1899), peperone (Neal, 1899), melanzana (Atkinsons, 1889), carota (Licopoli, 1877), radicchio (Licopoli, 1877), insalata (Minz, 1956a), sedano (Hunt, 1959), bietola da orto (Frank, 1885), asparago (Bessey, 1911); industriali come tabacco (Janse, 1892) e barbabietola (Sasser, 1954); da frutto: fragola (Trotter, 1905), vite (Vega, 1952; Scognamiglio, 1960), alcune pomacee (Frank, 1882; Minz, 1958) e drupacee (Neal, 1889; Buhrer *et al.*, 1933). Le piante attaccate manifestano ritardo nello sviluppo vegetativo, scarsa produzione quali-quantitativa, maggiore suscettibilità all'azione di altri patogeni, apparato radicale poco sviluppato (Lamberti, 1979). Sintomo caratteristico dell'infestazione è rappresentato da iperplasie (galle) sulle radici, quale reazione della pianta alla puntura dello stiletto e alle sostanze secrete dal nematode (Huang, 1985).

Le infestazioni da *Meloidogyne spp*. rappresentano un grave problema soprattutto per le colture ortive e nelle zone litoranee, su terreni tendenzialmente sabbiosi (Lamberti, 1979). Il controllo viene attualmente realizzato attraverso l'impiego di prodotti chimici ad alto impatto ambientale; tuttavia la prossima eliminazione dal mercato del bromuro di metile e la necessità di attuare forme di difesa più rispettose della salute e dell'ambiente (Gullino, 1997), giustificano il ricorso a tecniche alternative per il controllo delle infestazioni di questo nematode (Whitehead, 1998; D'Errico *et al.*, 1979).

Il sistema "Alce-Garden", sviluppato dalla ditta Celli, prevede l'impiego di macchine in grado di effettuare la disinfezione/disinfestazione del terreno con vapore, associando a quest'ultimo la distribuzione ed incorporazione nel substrato di una sostanza a basso impatto ambientale (idrossido di potassio - KOH, ossido di calcio - CaO) in grado di innescare una reazione esotermica con il vapor d'acqua, liberando una quantità addizionale di energia utile per il riscaldamento del terreno, con possibili effetti diretti sui parassiti tellurici (Peruzzi *et al*., 2000; Peruzzi *et al*., 2002).

Al fine di valutare la possibilità di applicare tale tecnica al controllo dei nematodi, nel biennio 2001-2002 sono state condotte prove in serra-tunnel per verificare la possibilità di controllo di *Meloidogyne incognita* (Kofoid *et* White) Chitw. mediante il sistema "Alce-Garden". E' stata valutata l'efficacia del vapore acqueo, da solo o associato con sostanze a reazione esotermica, su lattuga coltivata in terreno prevalentemente sabbioso.

Materiali e Metodi

La sperimentazione è stata condotta in colture protette (fig.1) di lattuga tipo Trocadero (cv. Manita), presso due aziende agricole nel comune di Bellaria (RM): nel 2001 la prova è stata svolta nel periodo autunnale (settembre-dicembre), nel 2002 in una coltivazione estiva (luglio-agosto); in entrambi i casi la serra era stata coltivata senza interruzione con colture ospiti del nematode (pomodoro e insalata).

* Servizio Fitosanitario - Regione Emilia-Romagna
** Centro Interdipartimentale di Ricerche Agro-Ambientali "E. Avanzi" - Università degli Studi di Pisa
*** Dottore Agronomo

Sono state poste a confronto quattro tesi (tab.1) secondo uno schema sperimentale a blocco randomizzato con quattro replicazioni, ciascuna delle dimensioni di 3,6 m^2. Contemporaneamente all'intervento di sterilizzazione è stata effettuata la pacciamatura delle parcelle con film plastico, rimosso dopo 24 ore.

Le sostanze a reazione esotermica sono state utilizzate in quantità diverse nel periodo di sperimentazione (tab.1), poiché nel primo anno sono state adottate dosi di impiego giudicate ottimali secondo parametri di tipo agronomico, mentre nel secondo anno si è di CaO e KOH, che meglio evidenziasse le e stesse condizioni di applicazione e fornisse inoltre ındicazioni sull'efficacia di diverse dosi della stessa sostanza nel tempo, su una popolazione quantitativamente nota del nematode.

Figura 1 – Serra-tunnel in località Bellaria (RM), ospitante la sperimentazione nel 2001

Per misurare l'efficacia delle tesi a confronto, sono stati effettuati rilievi sia sul terreno sia sulle piante. Per ciascuna replicazione sono stati prelevati campioni rappresentativi di terreno lungo il profilo, fino a 25 cm di profondità.

Tabella 1 – Trattamenti applicati alle parcelle sperimentali

TESI	Dosi di impiego sostanza a reazione esotermica	
	Anno 2001	Anno 2002
Testimone	----------	----------
Vapor d'acqua	----------	----------
Vapore + CaO	8000 kg * ha^{-1}	4000 kg * ha^{-1}
Vapore + KOH	1000 kg * ha^{-1}	4000 kg * ha^{-1}

Le larve infestanti sono state rilevate prima del trattamento (T0) per stimare l'entità della popolazione iniziale di *M. incognita*; dopo 24 ore dal trattamento (T1) per verificare la popolazione larvale residua; alla raccolta (TR) per valutare l'efficacia dell'applicazione nel tempo. L'estrazione delle larve di *M. incognita* è stata effettuata mediante filtro di cartalana, secondo la metodologia descritta in Tacconi e Ambrogioni (1995).

Al momento della raccolta (TR) sono state prelevate 5 piante di lattuga nella parte centrale di ciascuna parcella; in corrispondenza di ciascuna pianta è stato effettuato anche il campionamento del terreno. Per ciascuna parcella è stata rilevata la percentuale di cespi infestati, l'intensità di attacco di *M. incognita* sulle radici, secondo la scala di gravità proposta da Lamberti (1971) ed il peso del prodotto commerciale.

I dati così organizzati sono stati sottoposti ad analisi della varianza (ANOVA) e al test di separazione delle medie LSD per $P \leq 0.05$.

Risultati

Nel 2001, la popolazione media di larve di *M. incognita* della serra risultava quantitativamente molto superiore rispetto al 2002, con un carico medio di infestazione pari a 138 larve/100 g di terreno, contro una media di 8 larve/100 g terreno nel secondo anno.

Nel primo anno soltanto l'aggiunta di CaO al vapor d'acqua ha permesso un abbattimento statisticamente significativo delle larve nei primi 25 cm di terreno a 24 ore dal trattamento (tab.2); tale effetto si è protratto fino alla raccolta allorché l'impiego di CaO ha efficacemente contenuto sia l'infestazione del nematode nel terreno sia l'intensità di attacco alle radici (tab.3, figg. 2-5). Nel secondo anno tutti gli interventi hanno significativamente ridotto la popolazione di partenza a 24 ore dal trattamento (tab.2); al momento della raccolta,

l'impiego di CaO e di KOH (fig.6) ha evidenziato significative riduzioni dell'infestazione nel terreno e nell'intensità di attacco sulle radici (tab.3).
L'impiego del solo vapor d'acqua non è stato sufficiente a controllare le infestazioni più pesanti e, in ogni caso, non ha mantenuto nel tempo persistenza dell'effetto.

Tabella 2 - Numero di larve di* Meloidogyne incognita *presenti nel terreno prima della disinfestazione (T0) e dopo 24 ore (T1) dai trattamenti*

TESI	Anno di prova	n°larve/100 g terreno			variazione rispetto al testimone
		T0	T1		(%)
Testimone	2001	138	138	a	
Vapore		138	141	a	+2%
Vapore + CaO 8000 kg*ha^{-1}		138	67	b	-51%
Vapore + KOH 1000 kg*ha^{-1}		138	134	a	-3%
Testimone	2002	8	8	a	
Vapore		8	0	b	-100%
Vapore + CaO 4000 kg*ha^{-1}		8	0	b	-100%
Vapore + KOH 4000 kg*ha^{-1}		8	0	b	-100%

*media generale di larve del testimone.
Per ciascun anno valori in colonna seguiti da lettere diverse sono significativamente diversi (P≤0.05). Test di separazione fra le medie: LSD

Tabella 3 – Valutazione dell'efficacia del trattamento con vapore e sostanze a reazione esotermica nei confronti di Meloidogyne incognita *alla raccolta della lattuga (TR)*

TESI	Anno di prova	TERRENO			RADICI		
		n°larve/100 g terreno		variazione rispetto al testimone	Infestazione	Intensità di attacco**	
		TR*		(%)	(%)		
Testimone	2001	20	a		100	4	a
Vapore		22	a	+10	100	4	a
Vapore + CaO 8000 kg*ha^{-1}		5	b	-75	100	2	b
Vapore + KOH 1000 kg*ha^{-1}		18	a	-10	100	4	a
Testimone	2002	17	a		100	3	a
Vapore		30	a	+76	100	3	a
Vapore + CaO 4000 kg*ha^{-1}		3	b	-82	100	2	b
Vapore + KOH 4000 kg*ha^{-1}		1	b	-94	100	2	b

* TR = rilievo al momento della raccolta (dopo 70 e 30 gg. dal trattamento rispettivamente nel 2001 e nel 2002).
Per ciascun anno valori in colonna seguiti da lettere diverse sono significativamente diversi (P≤0.05). Test di separazione fra le medie: LSD

** Classificazione: 0 = piante sane; 1 = 1-5 galle sulle radici (lieve); 2 = 6-20 galle (moderato); 3 = oltre 20 galle (fortemente attaccate); 4 = apparato radicale ridotto e deformato da alcune grosse galle; 5 = apparato radicale completamente deformato e alterato dalla presenza di grosse galle e dalla mancanza di radici laterali.
Indice di attacco = (n° piante della classe * valore della classe) / n° totale di piante del campione

Figura 2 – Testimone 2001. Indice di infestazione classe 4: apparato radicale ridotto e deformato da grosse galle

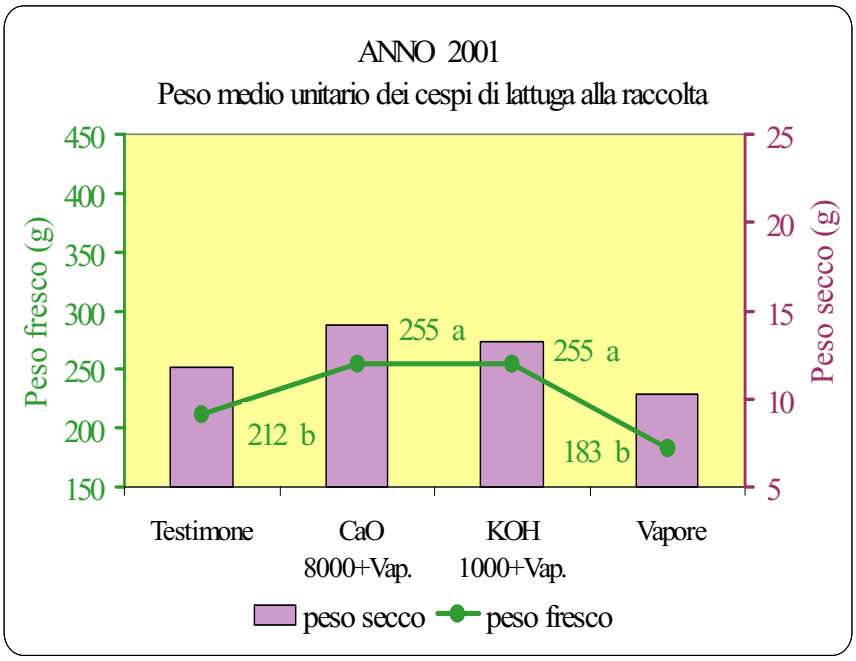
Figura 3 – Vapore 2001. Indice di infestazione classe 4: apparato radicale ridotto e deformato da grosse galle

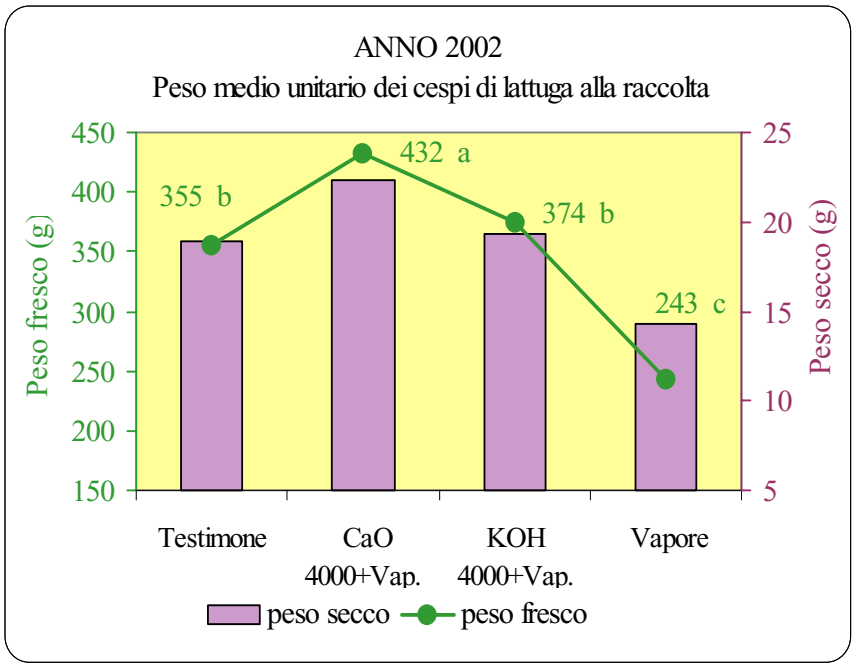
Figura 4 – Vapore + KOH 2001. Indice di infestazione classe 4: apparato radicale ridotto e deformato da grosse galle

Figura 5 – Vapore + CaO 2001 e 2002. Indice di infestazione classe 2: 6-20 galle (moderato)

Figura 6 – Vapore + KOH 2002. Indice di infestazione classe 2: 6-20 galle (moderato)

Fig. 7 – Effetto dei trattamenti con vapore associato a sostanze a reazione esotermica, sulla produzione in peso fresco e in peso secco dei cespi di lattuga





I riflessi sulla produzione commerciale sono apparsi molto evidenti, poiché il peso fresco e il peso secco dei cespi sono risultati costantemente maggiori nelle parcelle trattate con vapore associato a CaO o a KOH; sembra lecito ipotizzare, inoltre, un possibile effetto del potassio, quale elemento della fertilità, sull'incremento della produzione in cespi nel periodo autunnale, in quanto nel 2001 nonostante la scarsa dose di KOH distribuita e l'elevato danno alle radici, la produzione è risultata pari a quella delle parcelle trattate con CaO (fig.7).

Il controllo delle popolazioni del nematode si è tradotto, in definitiva, in incrementi della produzione commerciale di lattuga soprattutto di fronte alla grave infestazione del 2001 che, nel testimone non trattato, ha compromesso la funzionalità degli apparati radicali con ripercussioni sullo sviluppo delle piante.

Discussione

In condizioni nelle quali il ciclo di accrescimento e di sviluppo della coltura si preannuncia abbastanza lungo, dunque in grado di ospitare più generazioni del nematode, nonché in un periodo stagionale favorevole allo sviluppo del parassita, è verosimile che il livello di infestazione nel terreno raggiunga soglie elevate. Questa è la situazione in cui è stata condotta la prova nel 2001, quando la lattuga è stata trapiantata in serra a settembre dopo la raccolta di pomodoro da mensa, ospite a sua volta del nematode; il tempo di permanenza della lattuga in serra è stato di circa 70 giorni, nelle condizioni di temperatura ed umidità relativa

ottimali per lo sviluppo del parassita. In questo caso l'impiego del solo vapore e del vapore associato a KOH in dose di 1000 kg*ha^{-1} non è risultato efficace, mentre l'applicazione associata di vapore e CaO in dose elevata (8000 kg*ha^{-1}) ha permesso il controllo del nematode nel terreno fino al momento della raccolta. In quest'ultima fase, a causa dell'elevato grado di attacco, le radici sono risultate funzionali solo nelle parcelle trattate con vapore + CaO; negli altri casi è stata registrata forte compromissione delle radici, ridotte e deformate dalla presenza di grosse galle.

In coltura condotta in ciclo breve, con raccolta entro un mese dal trapianto in piena estate, il danno alla pianta può dipendere dall'infestazione iniziale di larve nel terreno. Se la carica nematica è modesta, potrà essere possibile rilevare, al momento della raccolta, produzioni soddisfacenti e radici non compromesse nella loro funzionalità. Presumibilmente in questi casi il nematode può compiere soltanto una generazione. Quelle descritte sembrano essere le condizioni della prova nel 2002, nella quale la lattuga è stata trapiantata in serra in luglio, dopo la raccolta di insalata; il tempo di permanenza della lattuga in serra è stato di circa 30 giorni. In questo caso tutti i trattamenti saggiati sono stati efficaci nella riduzione immediata della popolazione di *M. incognita* nel terreno, ma solo l'impiego delle sostanze a reazione esotermica associate al vapore (entrambe applicate in dose pari a 4000 kg*ha^{-1}) ha fatto registrare efficacia protratta fino al momento della raccolta. In tale fase è stato possibile rilevare un modesto grado di attacco alle radici e buone produzioni.

Conclusioni

In generale, il sistema vapore associato a sostanze a reazione esotermica ha mostrato efficacia e persistenza dell'effetto nel controllo di *M. incognita*; in particolare, buoni risultati sembrano essere raggiungibili sia in coltura a ciclo breve e con l'impiego delle sostanze a dosi inferiori, sia in coltura a ciclo più lungo o in presenza di forte infestazione larvale nel terreno, utilizzando dosi più elevate di ossido di calcio o idrossido di potassio.

Resta inoltre da considerare la possibilità, in coltura protetta, di far seguire alla disinfezione/disinfestazione superficiale del terreno mediante il sistema "Alce-Garden", anche la distribuzione di prodotti ad azione nematocida di origine naturale, quali quelli a base di Azadiractina (Whitehead, 1998), oppure la coltivazione di piante ad azione biocida appartenenti soprattutto alla famiglia delle *Brassicaceae* (Angelini *et al.*, 1998; Curto *et al.*, 2002) nell'ottica di una gestione biologica dell'azienda orticola, più rispettosa della salute e dell'ambiente.

Bibliografia

ANGELINI L., LAZZERI L., GALLETTI S., COZZANI A., MACCHIA M., PALMIERI S., 1998 - Antigerminative activity of three glucosinolate-derived products generated by myrosinase hydrolysis. Seed Science and Technology, *26: n°3, 771-779.*

ATKINSONS G.F., 1889 - A preliminary report upon the life-history and metamorphoses of a root-gall nematode Heterodera radicicola *(Greef) Müll., and the injures caused by it to the roots of various plants.* Bull. Ala polytech. Inst. n.s. *19.*

BESSEY E.A., 1911 - Root-knot and its control. Bull. Bur. Pl. Ind. U.S. Dept. Agric. *217: 89 pp.*

*BUHRER E.M., COOPER C., STEINER G., 1933 - A list of plants attacked by the root-knot nematode (*Heterodera marioni*) Pl. Dis. Reptr* 17 (7) 64-96.

CURTO G., DALLAVALLE E., SANTI R., MALAGUTI L., LAZZERI L., 2002 - Prove preliminari sull'attività in vitro dei prodotti di degradazione di alcuni glucosinolati verso una popolazione del nematode Meloidogyne incognita *(Kofoid* et *White) Chitw..* Supplemento a Nematologia Mediterranea *(in stampa).*

D'ERRICO F.P., SANNINO L., AVIGLIANO M., 1979 - Contributo alla lotta guidata contro i nematodi galligeni del tabacco nel salernitano. Annali Ist. Sper. per il tabacco, Scafati (Sa). *6:111-116.*

FRANK A. B., 1882 - Gallen der Anguillula radicicola *Greef on* Soja hispida*,* Medicago sativa*,* Lactuca sativa *und* Pirus communis. Verh. bot. Ver. Prov. Brandemb. *54-55.*

FRANK A. B.,1885 - Über das Wurzelälchen und die durch dasselbe verursachten Beschädigungen der Pflanzen. Landw. Fbr *14: 149-176.*

GULLINO M. L., 1997 - Due pesi e due misure per il bromuro di metile. Terra e Vita, *48: 25-27.*

HUANG C. S., 1985 - Formation, anatomy and physiology of giant cells induced by root-knot nematodes. 13: 155-164. In *"An advanced treatise on* Meloidogyne*" Vol. I, Biology and Control.* Ed. J.N. Sasser and C.C. Carter, 422 pp.

HUNT J., 1959 - List of intercepted plant pest, 1958. U.S. Dept. Agric. Res. Service, Pl. Quarant. Div. *85 pp.*

JANSE J. M., 1892 - De aaltjes-riekten van eenige cultuurplanten en de middelen ter harer bestrijding aangewend. Teysmannia *3:475-488, 800-820.*

LAMBERTI F., 1971 - Primi risultati di prove di lotta nematocida su tabacchi levantini in provincia di Lecce. Riv. "Il Tabacco" *738:* gen-mar. *5-10.*

LAMBERTI F., 1979 - Economic importance of Meloidogyne spp. *in subtropical and mediterranean climates, 22:341-357.* In*: "Root-knot nematodes (*Meloidogyne *species) Systematics, Biology and Control",* (Lamberti F. e Taylor C.E., Eds.), Academic Press, London, New-York, S. Francisco, *477 pp.*

LICOPOLI L., 1877 - Le galle nella flora di alcune provincie napolitane. Napoli, 64 pp.

MINZ G., 1956 - The root-knot nematodes, Meloidogyne spp. *in Israel.* Pl. Dis. Reptr *40 (9): 798-801.*

MINZ G., 1958 - Root-knot nematodes , Meloidogyne spp., *in Israel.* Spec. Bull. agric. Res. Stn Rehovot *12: 10 pp.*

NEAL J. C., 1889 - The root-knot disease of the peach, orange and other plants in Florida due to the work of Anguillula. Bull. U.S. Bur. Ent. *20: 31 pp.*

PERUZZI A., RAFFAELLI M., DI CIOLO S., MAZZONCINI M., GINANNI M., MAINARDI M., RISALITI R., TRIOLO E., STRINGARI S., CELLI A., 2000 - Messa a punto e valutazioni preliminari di un prototipo per la disinfezione del terreno per mezzo di vapore e sostanze a reazione esotermica. Riv. di Ing. Agr. *4, 226-242.*

PERUZZI A., RAFFAELLI M., GINANNI M., MAINARDI M., 2002 - Development of innovative machines for soil disinfection by means of steam and substances in exothermic reaction. Proc. 5th EWRS Workshop on physical Weed Control, Pisa, Italy*, 11-13 March 2002.*

SASSER J. N., 1954 - Identification and host-parasite relationships of certain root-knot nematodes Meloidogyne spp. Bull. Md agric. Exp. Stn A-77, (Tech) *31.*

SCOGNAMIGLIO A., 1960 - Infestazioni da nematodi galligeni delle radici al Pesco e alla Vite. Progresso agric. *6 (12): 1-15.*

TACCONI R., AMBROGIONI L., 1995 - Metodi di estrazione in nematologia 8:175-190 In: *"Nematodi da quarantena"* Ed. Lo Scarabeo Edizioni Scientifiche - Bologna

TROTTER A., 1905 - Osservazioni e ricerche sulla malsania del nocciuolo in provincia di Avellino e sui mezzi atti a combatterla. Redia *2: 37-67.*

VEGA J., 1952 - Proteccion viticola contra la "anguillulosia". Idia *5 (53): 35-37.*

WHITEHEAD A.G., 1998 - Sedentary Endoparasites of Roots and Tubers (II. Meloidogyne and Nacobbus) 209-260 . In: *"Plant Nematode Control"* CAB International Ed. Wallingford Oxon OX10 8 DE UK.