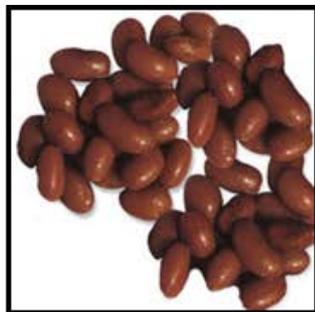


Concia delle sementi biologiche: novità e prospettive.

Luca Riccioni, Laura Orzali

luca.riccioni@crea.gov.it

Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'analisi dell'Economia agraria,
Centro di ricerca Difesa e Certificazione (CREA-DC)
Via C.G. Bertero, 22, 00156 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 :

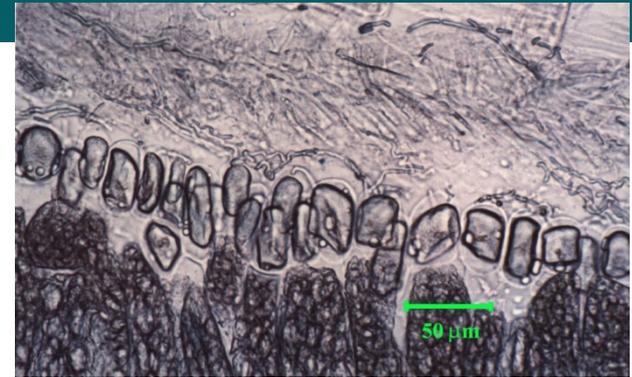
- **CARATTERI AGRONOMICI:**

- 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.



Analisi
sanitaria

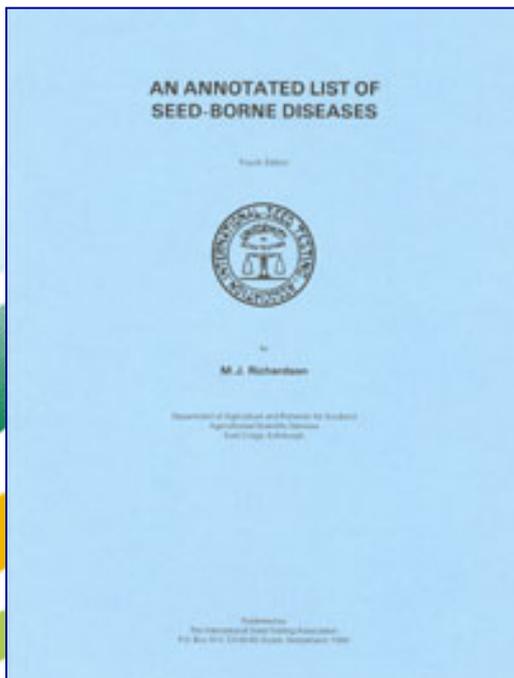


'Blotter test'



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 ROSTRUPII</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 nuovi focolai di infezione primaria
- ✧ Diffusione nel territorio di nuove 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

1) PREVENTIVI :

➤ Uso di semente sana

- Scelta di idonee zone di produzione
- Impiego di corrette pratiche colturali
- Utilizzo di varietà resistenti

2) TRATTAMENTI per abbassare il potenziale di inoculo primario presente:

- Metodi fisici (vapore, acqua calda, ecc)
- Lotta biologica (BCAs)
- Induzione di resistenza (es. Chitosano)
- **Impiego di sostanze naturali**



STRATEGIE DI LOTTA ALLE MALATTIE TRASMISSIBILI PER SEME

METODI FISICI	Acqua calda, Aria calda
	Lavaggio, spazzolatura, pellicolatura
CONTROLLO BIOLOGICO	Agenti di biocontrollo (BCA)
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

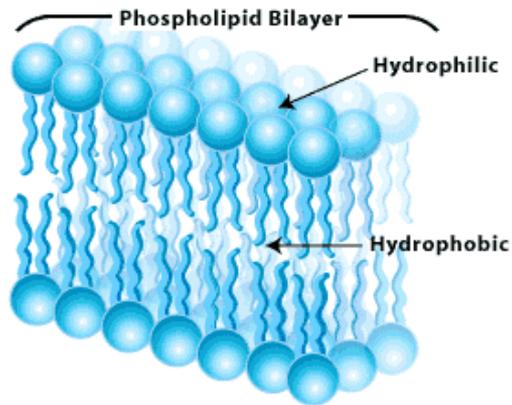
- Gli oli essenziali sono prodotti metabolici accumulati dalle piante ed estratti da foglie, fiori, radici e corteccia.
- Sono stati ampiamente studiati in diversi campi per le loro proprietà antimicrobiche (antifungine e antibatteriche).

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

Proprietà antimicrobiche

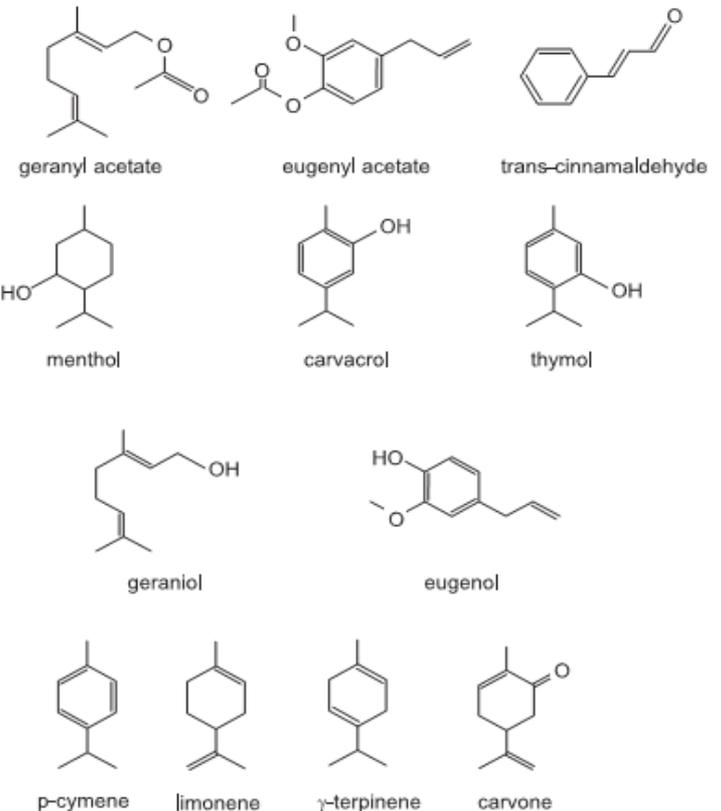
Meccanismi di azione studiati:

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



✧ **Inibizione di respirazione cellulare.**

Ricchi di sostanze aromatiche



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

Oli essenziali: regolamentazione Europea

Regolamento di esecuzione (UE) n. 141/2014 della Commissione del 13 febbraio 2014 che modifica n. 540/2011

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.

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

1. Sostanze di origine vegetale o animale

Autorizzazione	Denominazione	Descrizione, requisiti di composizione, condizioni 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 a rizzate in combinazione con a guati del presente elenco
A	Lecitina	Fungicida
A	Oli vegetali (ad es.: olio di menta, olio di pino, olio di carvi)	Insetticida, acaricida, fungicida e inibi 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

**Regolamento di
applicazione CE 889/08**
(modificato con regolamento
n. 354/2014 dell'8 aprile
2014)

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

Oli essenziali in Italia

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

3LOGY 2016 eugenol, geraniol and timol fungicida su vite

Prev-Am® Plus 2017 olio di arancio insetticida e fungicida

➤ **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).**

CREA-DC: Attività di Ricerca (2010-2018)

PRO.VI.SE.BIO, Piano sementiero nazionale, COBRA (EU), FISER, DICOPRONAL

- *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
- Prove in serra/campo per la conferma dei risultati

LA RICERCA – Attività del CREA-DC (RM): le colture



Grano duro

Soia

Riso

*Fusarium
graminearum*

Diaporthe phaseolorum var. calivora
Phomopsis longicolla

*Fusarium
fujikuroi*

Mal del piede dei cereali

Cancro dello stelo
Avvizzimento dei semi

Bakane

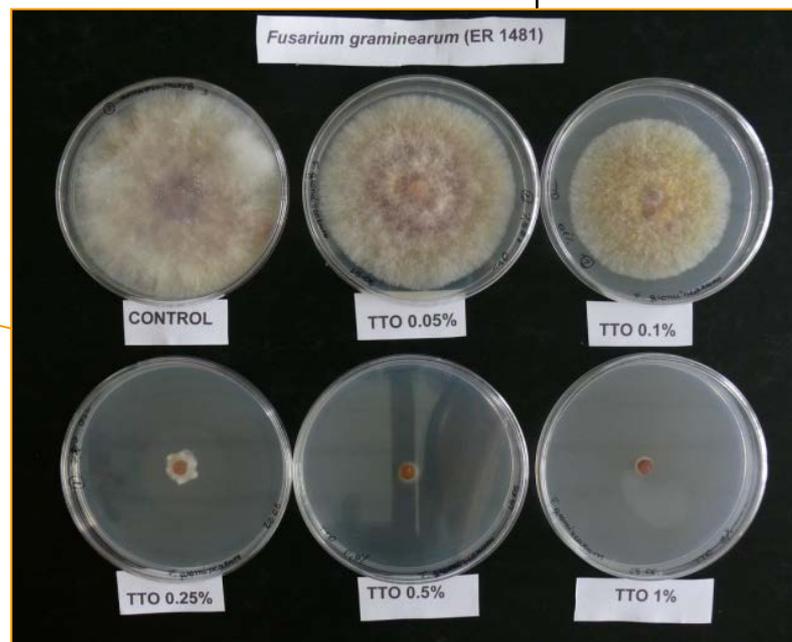
RICERCA TRIENNALE: dal laboratorio al campo – GRANO DURO

Fungi	Essential oil MIC ₉₀						
	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				
<i>Fusarium graminearum</i>	0.07	0.35					
<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

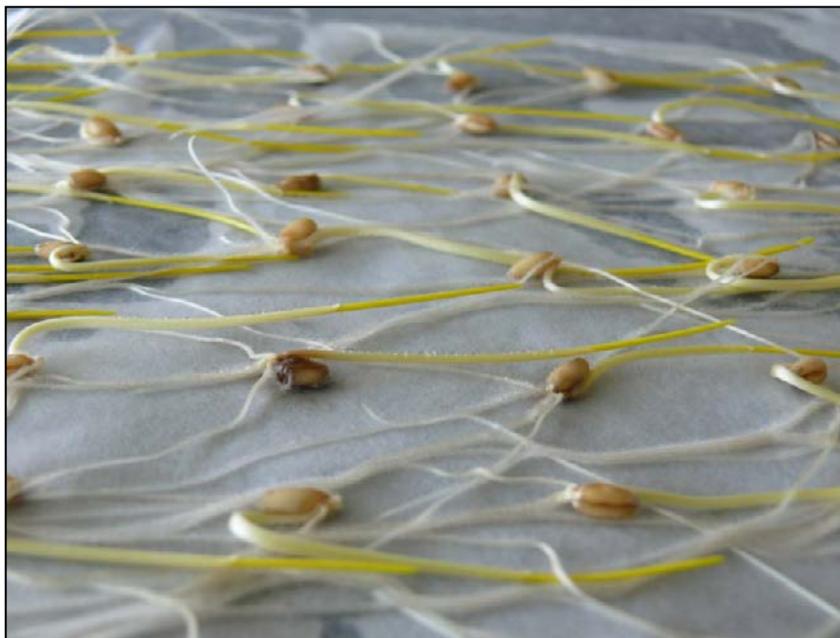


RICERCA TRIENNALE: dal laboratorio al campo – GRANO DURO

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



Trattamento al seme : **IMMERSIONE** in soluzione H₂O

RICERCA TRIENNALE: dal laboratorio al campo – 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.



Semi inoculati con *F. graminearum*
Non trattati (NT)



Semi inoculati con *F. graminearum*
Trattati con TTO 2%

Specie	NT	TO 0.2%	TTO 2%	Rame
n. semi germinati	100	60	34	64



RICERCA TRIENNALE: dal laboratorio al campo – GRANO DURO

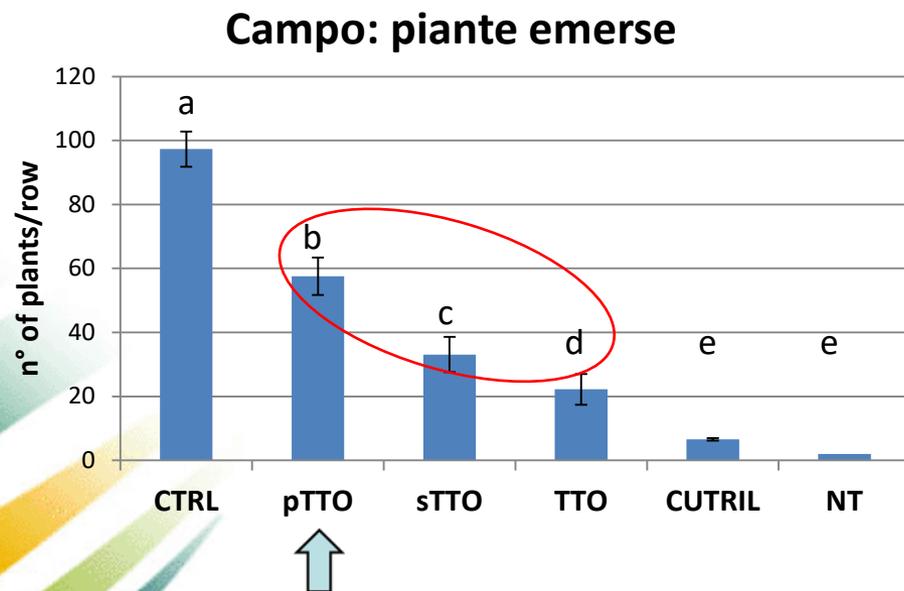
CONCIA PER IMMERSIONE



Verifica in campo dell'efficacia del trattamento di concia con gli oli di timo e melaleuca tramite rilievi di:

- ✓ Emergenza
- ✓ Sintomi (indice di McKinney)

RICERCA TRIENNALE: dal laboratorio al campo – GRANO DURO



- TTO trattamento per **IMMERSIONE**
- pTTO trattamento per **IMMERSIONE + SPRAY**
- sTTO trattamento per **SPRAY**

CONCIA con TRATTAMENTO SPRAY



RICERCA TRIENNALE: dal laboratorio al campo – RISO



INOCULO
OLIO DI GAROFANO

INOCULO
NESSUN TRATTAMENTO

NESSUN INOCULO
NESSUN TRATTAMENTO

TRATTAMENTO: immersione in olio di garofano

INOCULO: *F. fujikuroi* agente causale di Bakane

Prog. Reg. Lazio 2017 DICOPRONAL - linea di ricerca «Controllo con sostanze naturali di patogeni fungini trasmissibili per seme.»



Semente inoculato artificialmente con il patogeno fungino e trattato con olio essenziale di chiodi garofano

COLTURA	PATOGENO
MELONE var. Rugoso di Cosenza giallo	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>melonis</i>
ZUCCHINO var. romanesco selezione Tullio	
POMODORO var. San Marzano nano	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>

TRATTAMENTI PER IMMERSIONE				
INOCULATO CON F. OXYSPORUM	1.	CONTROLLO NON TRATTATO		IMMERSIONE 10 minuti
	2.	ACQUA		
	3.	OLIO puro + pinolene	0,3%	
	4.	BIOXEDA 1	2%	
	5.	BIOXEDA 2	2%	

TRATTAMENT SPRAY				
INOCULATO CON F. OXYSPORUM	2.	CONTROLLO NON TRATTATO		SPRAY CON INCUBAZIONE 0 - 6 - 24 ore
	3.	OLIO puro + pinolene	0,5%	
	4.	BIOXEDA 1	2,5%	
	5.	BIOXEDA 2	2,5%	

BIOXEDA 1 e 2: formulati a base di olio essenziale di chiodi di garofano al 20%, in Italia registrato come XEDAGAR

Risultati Prog. Dicopronal

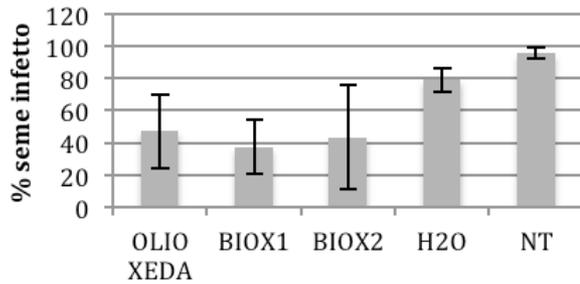
Valutazione fitotossicità - analisi germinabilità

		% di germinazione	dev. St	Duncan p=0,05
POMODORO	TQ	94	2,52	a
	0%	95,5	1,73	a
	0,1%	97	3,05	a
	0,2%	98	3,46	a
	0,3%	96,5	2,08	a
	0,4%	85	0,92	b
ZUCCHINO	TQ	96,0	2	a
	0%	93	3,05	a
	0,1%	93	5,03	a
	0,2%	91	7,02	a
	0,3%	95	3,43	a
	0,4%	89	18,5	a
MELONE	TQ	97	1,00	a
	0%	96	2,08	a
	0,1%	97	1,15	a
	0,2%	93	5,03	ab
	0,3%	92	1,00	b
	0,4%	95	1,00	ab

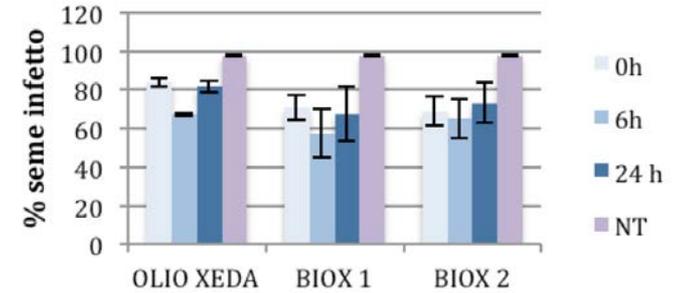
TQ: controllo seme non inoculato non trattato;
0% controllo seme inoculato trattato con acqua;
0,1-0,4% soluzione a diverse concentrazioni di olio di garofano
utilizzata per il trattamento ad immersione per 10 min

Valutazione efficacia – analisi sanitaria (BLOTTER TEST) del seme inoculato artificialmente e trattato con **olio essenziale di garofano**

Melone - immersione

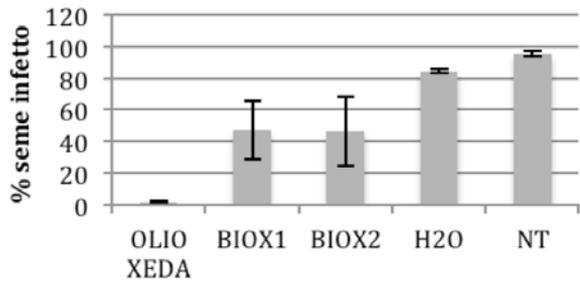


Melone - spray

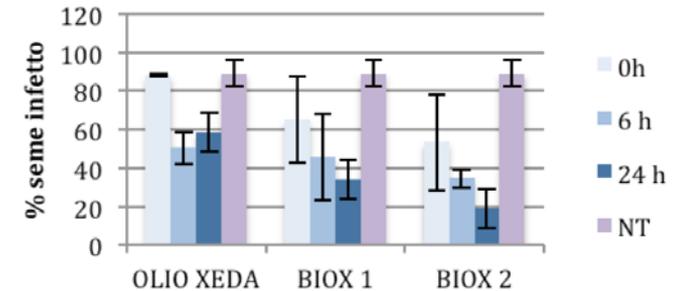


NT: controllo seme inoculato con il patogeno e non trattato con gli oli

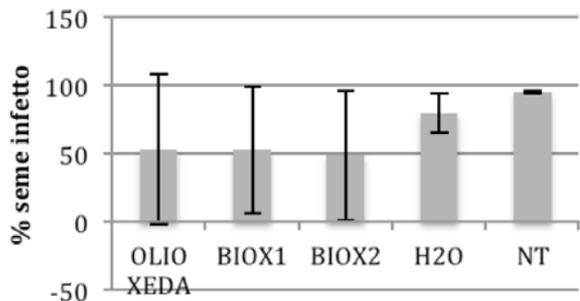
Pomodoro - immersione



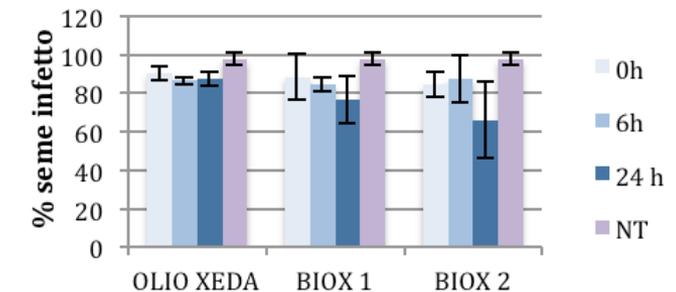
Pomodoro - spray



Zucchini - immersione



Zucchini- spray



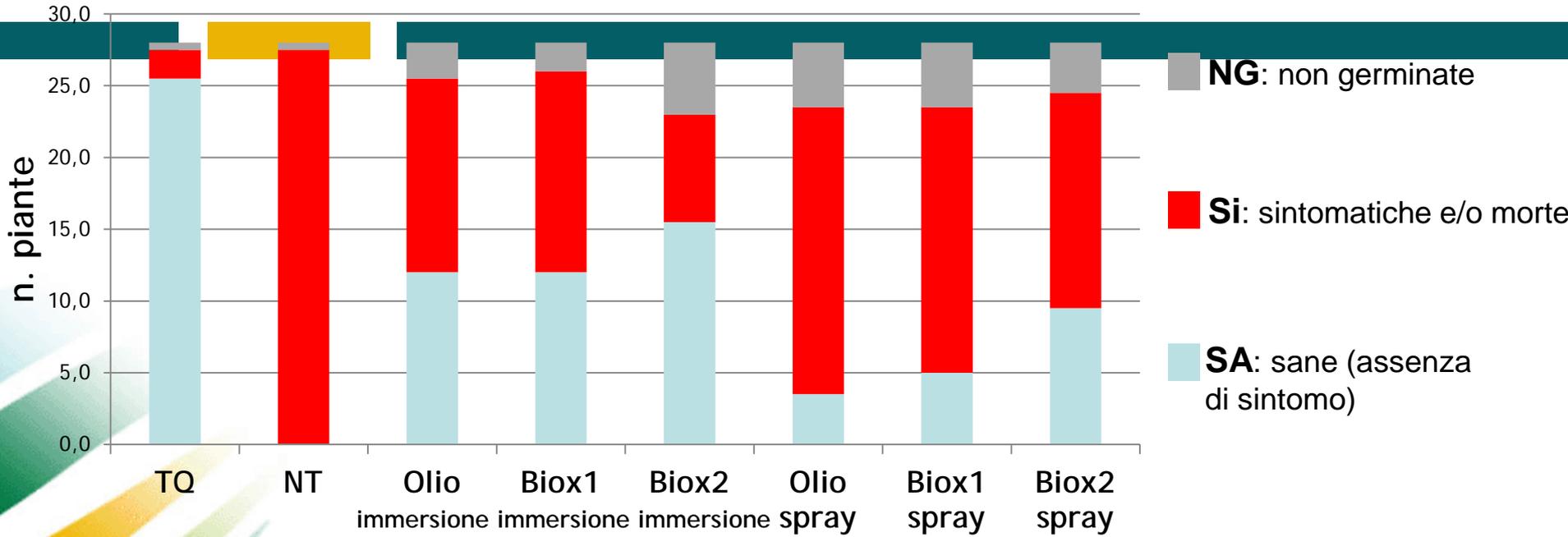
Olio Xeda=olio di garofano puro diluito al 0,3%

PROVE IN SERRA di concia con **olio di garofano**

COLTURA	PATOGENO
MELONE var. Rugoso di Cosenza giallo	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>melonis</i>

T R A T T A M E N T I	1.	CONTROLLO TAL QUALE NON INOCULATO		
	2.	CONTROLLO NON TRATTATO		
	3.	OLIO puro + pinolene	0,3%	IMMERSIONE 10 minuti
	4.	BIOXEDA 1	2%	
	5.	BIOXEDA 2	2%	
	6.	OLIO puro + pinolene	0,5%	SPRAY + 6 ore di incubazione
	7.	BIOXEDA 1	2,5%	
	8.	BIOXEDA 2	2,5%	

PROVE IN SERRA: risultati



TAL QUALE (TQ)



NON TRATTATO (NT)



OLIO



IMMERS. BIOXEDA 2



SPRAY BIOXEDA 2

CONCLUSIONI

Trattamenti al seme con oli essenziali 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 (rame).
- Evidenziato una fitotossicità dipendente dalla dose e dalla coltura.
- Il trattamento per immersione è generalmente più efficace
- Il trattamento a spruzzo è migliorabile attraverso alcune ore di incubazione e l'uso di un **pellicolante** a base di polimeri biodegradabili

Ringraziamenti



Si ringraziano I collaboratori coinvolti:

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

Si ringrazia il MiPAAF per aver finanziato i progetti:

PRO.VI.SE.BIO, Protezione della vite e delle sementi in agricoltura biologica, 2009-2011.
Piano Sementiero Nazionale biologico – Sviluppo di trattamenti alternativi per la concia biologica. Coordinato dall'EX-ENSE 2010, 2012-2014;

Si ringrazia la Regione Campania per aver finanziato il progetto FISER “Innovazione e Potenziamento della Filiera sementiera della rucola per la IV gamma”

Si ringrazia la Regione Lazio per aver finanziato il progetto DICOPRONAL “Uso di sostanze naturali in agricoltura”

Grazie per l'attenzione