

Prodotti nematocidi di origine vegetale in orticoltura

Sebastiano Laquale^{1,2}, Vincenzo Candido^{1,2} e Trifone D'Addabbo^{2*}

¹Scuola di Scienze Agrarie, Forestali, Alimentari ed Ambientali, Università della Basilicata, Potenza

²Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante (IPSP), Consiglio Nazionale delle Ricerche, Bari

Ricezione: 18 novembre 2016; Accettazione: 11 maggio 2017

Plant-derived nematicidal products for horticultural crops

Abstract. Phytoparasitic nematodes cause heavy annual yield losses and thus can be considered among the most dangerous pests for a number of vegetable crops. Management of these parasites has been traditionally based on synthetic pesticides, but because of their high environmental impact we need to find more sustainable products to control nematodes. Biocidal compounds, naturally occurring as products of plant secondary metabolism, may represent a large source of biocompatible nematicides. This review briefly reports the main botanical groups and plant secondary metabolites with a nematicidal potential, as well as the most effective techniques for their exploitation. Nematotoxic volatile products, such as isothiocyanates and nitriles released from the degradation of glucosinolates present in tissues of *Brassicaceae* plants or cyanide deriving from the cyanogenic glucosides of some *Sorghum* species can be exploited for nematode control through the incorporation of fresh or dry plant material into the soil. Commercial liquid formulations based on seed oils from neem (*Azadirachta indica* Juss.) or sesame (*Sesamum indicum* L.) or water extracts from quillay (*Quillaja saponaria* Molina) bark or tagetes (*Tagetes erecta* L.) are already available for soil treatments over the crop cycle and/or seedling root dipping before transplant. Many plant species from Asteraceae family, such as *Calendula* spp., *Chrysanthemum* spp. and *Artemisia* spp., have been also demonstrated to be a potential source of nematicidal products for the control of root-knot and cyst phytonematodes economically relevant to vegetable crops. Green manures or crop rotations with indiginous (*Medicago* spp., *Trifolium* spp., *Vicia* spp., *Lupinus albus*) and tropical (*Mucuna* spp., *Crotalaria* spp) *Leguminosae* species, as well as soil amendments with their formulated plant biomass, have been reported to achieve a satisfactory nematode suppression, due to the high content of bioactive metabolites (phenols, alkaloids, alcohols and mainly saponins) of

these plants. Essential oils from a wide range of aromatic and medicinal plants and their volatile bioactive components (terpenes, aldehydes, ketones and more) have been largely acknowledged for a high nematicidal activity, both *in vitro* studies and as soil treatments in water solution or by fumigation. Full exploitation of the high nematicidal potential of these products is strictly related to the development of technical formulations suitable to delay the release and degradation of active components into the soil. Phenolic compounds, such as terpenoids, flavonoids, tannins and coumarins, can also play a relevant role in the formulation of innovative nematicidal products. Commercial formulations of chestnut tannins demonstrated to be highly suppressive to root-knot nematode infestation. Nematicidal effect were reported also for soils amendments with tannin-rich plant materials. Coumarins are among the main agents of the strong nematicidal activity reported for plants from genus *Ruta*, such as *R. graveolens* and *R. chalepensis*. Susceptible of exploitation could be also the nematicidal properties reported for the pyrrolizidine and steroidal alkaloids from many *Asteraceae*, *Leguminosae* and *Solanaceae* species. Review of literature data confirmed the effectiveness of plant products for a sustainable phytonematode management, also due to the low environmental persistence and toxicity to humans, animal and plants of their active compounds. Multicomponent activity of most plant products also avoids the raising of nematode resistance, as frequently reported for repeated treatments with synthetic nematicides.

Key words: Phytoparasitic nematodes, control, sustainability, biocidal plants.

Introduzione

I nematodi sono considerati tra i più pericolosi parassiti delle colture orticole sia in pieno campo che in coltura protetta, a causa dei forti danni subiti dalla pianta (figg. 1-2) e delle conseguenti pesanti perdite di produzione (Perry e Moens, 2006). Sebbene tali perdite siano generalmente sottostimate, si calcola che

* trifone.daddabbo@ipsp.cnr.it



Fig. 1 - Radice di pomodoro fortemente attaccata dal nematode galligeno *Meloidogyne incognita*.

Fig. 1 - Tomato root heavily infested by the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*.



Fig. 2 - Attacco di nematodi galligeni su pomodoro in serra.

Fig. 2 - Attack of root-knot nematodes in greenhouse-grown tomato plants.

annualmente ammontino al 9 - 15% della produzione agricola mondiale, con le percentuali più elevate registrate in aree tropicali e subtropicali (Nicol *et al.*, 2011).

La lotta contro tali parassiti è stata a lungo basata su trattamenti al terreno con prodotti di sintesi, ma la drastica revisione dei pesticidi operata in anni recenti dalla Comunità Europea ha aperto ampi spazi alla ricerca di strategie di lotta più sostenibili per l'uomo e l'ambiente (Tilman *et al.*, 2002).

In particolare, poichè il metabolismo secondario di un gran numero di piante è in grado di produrre sostanze ad attività biocida nei confronti di patogeni e

parassiti, un crescente interesse è stato rivolto allo studio ed allo sviluppo industriale di prodotti nematocidi di origine vegetale (Ntalli e Caboni, 2012; Chitwood, 2002). L'attività nematocida dei composti fitochimici può risultare da meccanismi di varia natura e spesso concomitanti, quali la tossicità diretta, che porta ad immobilizzazione o morte del nematode, oppure effetti di disorientamento, repellenza o interruzione dell'alimentazione o della riproduzione del nematode (Valdes *et al.*, 2011; Chitwood, 2002). Altrettanto diversificate possono essere le modalità di sfruttamento delle proprietà nematocide di una specie vegetale, dalla formulazione industriale di derivati di estratti, oli o biomasse, sino all'utilizzo di pratiche agronomiche quali sovesci, rotazioni o colture intercalari.

Nel corso degli ultimi decenni si è resa disponibile una vasta letteratura sull'attività nematocida di un gran numero di specie vegetali di varia provenienza botanica, o su specifici gruppi di componenti attivi di diversa struttura chimica (Ntalli e Caboni, 2012; Chitwood, 2002). Peraltro, molti di questi studi presentano una valenza prevalentemente scientifica, in quanto la provenienza esotica o la scarsa disponibilità delle risorse vegetali oggetto di studio rende difficile un loro sfruttamento economico. Pertanto, questo lavoro vuole presentare una sintetica rassegna delle specie vegetali già attualmente impiegate o che presentano, sulla base degli studi condotti dagli Autori e da altri gruppi di ricerca, un concreto potenziale di utilizzo in strategie di difesa sostenibile di colture orticole da nematodi fitoparassiti.

Realtà e prospettive delle piante nematocide

Alla luce dei dati in letteratura, tra le piante a più elevata attività nematocida rientrano numerose specie di *Brassicaceae*, grazie al loro elevato contenuto in glucosinolati, composti tioglucosidici la cui degradazione idrolitica in presenza dell'enzima mirosinasi, genera composti volatili ad elevata attività biocida, tra cui isotiocianati e nitrili (Oliveira *et al.*, 2011; Lazzeri *et al.*, 1993). Numerosi studi di laboratorio hanno dimostrato la tossicità di una serie di glucosinolati e dei loro prodotti di degradazione prevalentemente su nematodi galligeni del genere *Meloidogyne* e sul nematode cisticolo *Globodera rostochiensis* Wollenweber, ma anche nei confronti di altre specie di interesse economico quali il vettore di virus della vite *Xiphinema index* Thorne et Allen ed il nematode cisticolo della carota *Heterodera carotae* Jones (fig. 3) (Lazzeri *et al.*, 2004; Avato *et al.*, 2013).

L'elevata attività dei prodotti di degradazione dei glucosinolati nei confronti di nematodi ed altri paras-

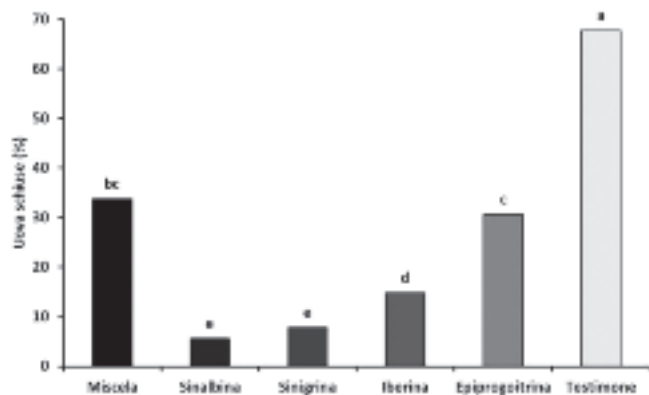


Fig. 3 - Effetto di differenti glucosinolati attivati con l'enzima mirosinasi sulla schiusura delle uova del nematode cisticolo della carota *Heterodera carotae*.

Fig. 3 - Effect of different myrosinase-activated glucosinolates on the hatch of eggs of the carrot cyst nematode *Heterodera carotae*.

siti e patogeni terricoli, ha trovato applicazione nella tecnica della biofumigazione. Con tale termine viene definita l'azione fumigante dei prodotti volatili generati dalla degradazione dei glucosinolati a seguito dell'interramento di biomasse fresche o essiccate o di farine di semi di *Brassicaceae* (Matthiessen e Kirkegaard, 2006). Già agli inizi degli anni '90 dello scorso secolo, Mojtahedi *et al.* (1991) riportavano una forte riduzione della popolazione del nematode galligeno *M. chitwoodi* Golden, O'Bannon, Santo *et al.* a seguito della incorporazione nel terreno della biomassa verde di *Brassica napus* L. e *B. campestris* L. L'effetto nematocida della biofumigazione varia in relazione al contenuto ed al profilo chimico dei glucosinolati presenti nelle biomasse interrate (Zasada e Ferris, 2004), come dimostrato da prove comparative di biofumigazione con differenti specie e/o varietà di *Brassicaceae* (Monfort *et al.*, 2007). In una prova su pomodoro in vaso in terreno fortemente infestato da *M. incognita* Kofoid *et al.* White biofumigato con sette differenti specie di *Brassicaceae*, D'Addabbo *et al.* (2004) hanno riportato un'azione nematocida significativamente più elevata per specie quali *B. napus*, *B. rapa* L. e *Raphanus sativus* L. rispetto a *Sinapis alba* L. e *B. carinata* A. Braun. (fig. 4). Pur se gran parte dell'attività di ricerca sulla biofumigazione è riferita ai nematodi galligeni del genere *Meloidogyne*, l'efficacia di tale tecnica è stata documentata anche su altre specie, quali il nematode delle lesioni *Pratylenchus vulnus* Allen e Jensen (Potter *et al.*, 1998) o il nematode cisticolo della patata *G. rostochiensis* e *G. pallida* Stone (Lord *et al.*, 2011; Valdes *et al.*, 2011).

Poiché l'inserimento di una coltura da sovescio è difficilmente conciliabile con i cicli colturali molto stretti dei sistemi orticoli più intensivi, in particolare quelli in serra, già da alcuni anni sono disponibili formulati commerciali granulari o sfarinati a base di bio-

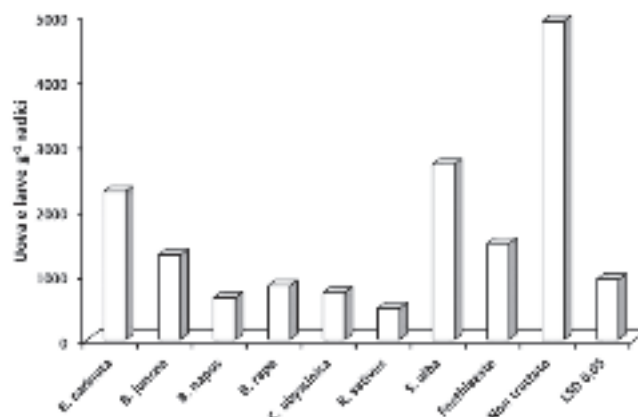


Fig. 4 - Effetto, rispetto al trattamento chimico con Fosthiazate, del sovescio (3,5% w/w) di biomasse essiccate di sette differenti specie di *Brassicaceae* sulla moltiplicazione del nematode galligeno *Meloidogyne incognita* su radici di pomodoro.

Fig. 4 - The effect of soil amendments with 3.5% w/w dry biomass from seven different species of *Brassicaceae* on the multiplication of root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomato roots. The results are compared against chemical treatments with Fosthiazate.

masse di *Brassicaceae*, che consentono di eseguire una biofumigazione con gli stessi accorgimenti tecnici di un trattamento con un prodotto di sintesi. Trattamenti al terreno con formulati di farine disoleate di semi di *B. carinata*, *Eruca sativa* Mill., *Barbarea verna* (Mill.) Asch. e *B. nigra* L. hanno dimostrato di poter significativamente ridurre l'infestazione di *M. incognita* su zuccino o pomodoro, incrementando la produzione della coltura (Curto *et al.*, 2016; Lazzeri *et al.*, 2009).

Un trattamento di biofumigazione del terreno può derivare anche dal sovescio di biomasse di sorgo Sudanese (*Sorghum sudanense* (Piper) Stapf, Fam. *Poaceae*) o di ibridi di sorgo (*S. bicolor* L.) x sorgo Sudanese, grazie al loro elevato contenuto in durrina, glucoside cianogenetico la cui degradazione idrolitica rilascia nel terreno prodotti volatili ad attività biocida, in particolare acido cianidrico (De Nicola *et al.*, 2011). L'attività nematocida del sovescio di tale materiale vegetale è stata ripetutamente documentata su nematodi galligeni sia *in vitro* (Curto *et al.*, 2012) che in prove in pieno campo ed in serra su colture orticole quali carota, patata e lattuga (Widmer e Abawi, 2000).

Tra i prodotti nematocidi di origine vegetale più largamente investigati e maggiormente sfruttati a livello commerciale, ci sono i derivati degli oli di neem (*Azadirachta indica* Juss., Fam. *Meliaceae*) e di sesamo (*Sesamum indicum* L., Fam. *Pedaliaceae*) e degli estratti acquosi di quillaja (*Quillaja saponaria* Molina, Fam. *Rosaceae*) e di tagete (*Tagetes erecta* L., Fam. *Asteraceae*). Pur nella diversità botanica delle specie di provenienza e dei principi attivi che

contengono, tali prodotti presentano caratteristiche tecniche simili, ovvero sono formulati liquidi distribuibili in fertirrigazione durante il ciclo colturale, idonei anche per trattamenti preventivi a semenzali in pretrapianto.

Le proprietà biocide degli oli ed estratti di neem, note da tempo sugli insetti e successivamente indagate con successo anche sui nematodi, derivano dalla presenza di composti ad elevata attività biologica quali triterpeni limonoidi, oltre che di steroidi e glucosidi terpenoidi (Schmutterer, 1990). Tra gli oltre 100 limonoidi biologicamente attivi del neem, quello più strettamente connesso all'attività nematocida è l'azadiractina, su cui si basano i formulati liquidi proposti sul mercato. In prove in pieno campo condotte in Puglia e in Toscana (D'Addabbo *et al.*, 2008; Caroppo *et al.*, 2005), trattamenti al terreno in post-trapianto con formulati commerciali di azadiractina, da soli o combinati con un trattamento dei semenzali prima del trapianto, hanno significativamente ridotto la popolazione di *M. incognita* nel terreno e la formazione di galle sulle radici di pomodoro, oltre a determinare un significativo incremento delle produzioni della coltura (tab. 1). Sul mercato sono inoltre disponibili formulati granulari o sfarinati di semi disoleati di neem che, pur commercializzati come ammendanti del suolo, riescono a svolgere anche una buona attività soppressiva sulle infestazioni di nematodi galligeni (Abbasi *et al.*, 2005).

Suscettibile di impiego nella formulazione di prodotti nematocidi è anche un'altra specie delle *Meliaceae*, *Melia azedarach* L., largamente investigata per la presenza di numerosi componenti attivi (tri-

terpenoidi, aldeidi, acidi carbossilici) ad attività nematocida. In particolare, trattamenti al terreno con biomasse polverizzate o estratti dei frutti di *M. azedarach*, hanno mostrato di poter contenere l'infestazione di *M. incognita* su pomodoro secondo una relazione dose - attività (Ntalli *et al.*, 2010).

Le proprietà nematocide dell'olio di sesamo sembrano essere correlate alla presenza di lignani (sesamina, sesamolina) biologicamente attivi (Bedigian *et al.*, 1985). I dati disponibili sull'attività nematocida di formulati di olio di sesamo sono contrastanti: trattamenti con un formulato commerciale hanno controllato adeguatamente gli attacchi di *M. incognita* su pomodoro in una serra con una elevata infestazione iniziale, fornendo una prestazione superiore a quella di formulati di azadiractina ed estratto di quillaja (D'Addabbo *et al.*, 2010) (tab. 2), mentre un analogo formulato non ha dato significativi risultati in prove condotte negli Stati Uniti (Crow, 2005).

Gli estratti acquosi della corteccia di *Q. saponaria*, per il loro elevato contenuto in sostanze ad attività nematocida quali saponine e tannini, sono stati largamente utilizzati nella produzione di formulati commerciali che uniscono all'azione soppressiva sui nematodi anche un effetto biostimolante sulla coltura (San Martin e Magunacelaya, 2005). La sperimentazione condotta in diversi areali orticoli del bacino del Mediterraneo ha dato risultati variabili in relazione al contenuto in estratto del formulato e al grado di infestazione iniziale del terreno. Trattamenti con l'estratto puro hanno determinato un significativo contenimento delle infestazioni di *M. incognita* in prove su pomodoro coltivato in serra e in pieno campo (D'Addabbo

Tab. 1 - Effetto dei trattamenti con un formulato di azadiractina sulla infestazione del nematode galligeno *Meloidogyne incognita* e sulla produzione di pomodoro cv. Diaz in pieno campo a Monteroni (Lecce).

Tab. 1 - Effect of treatments with an azadiractin formulate on the infestation of root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and yield of field-grown tomato plants cv. Diaz in at Monteroni (Lecce, Italy).

Prodotto	Trattamenti		Produzione (T ha ⁻¹)	Indice di infestazione (0-5)	Uova e larve mL ⁻¹ terreno
	Semenzali	Terreno			
Azadiractina	2 mL 10 L ⁻¹	-	30.2 c	4.2 a	23.3 a
Azadiractina	2 mL 10 L ⁻¹	2 L ha ⁻¹ ogni 15 gg	38.2 ef	2.7 e	15.9 d
Azadiractina	-	2 L ha ⁻¹ 5 gg post-trapianto + 2 L ha ⁻¹ ogni 15 gg	36.8 e	3.4 bc	19.5 bc
Azadiractina	-	1,5 L ha ⁻¹ 5 gg post-trapianto + 1,5 L ha ⁻¹ ogni 7 gg	37.3 e	3.2 bcd	18.9 bc
Fenamiphos	-	36 L ha ⁻¹ 7 gg pre-trapianto	42.2 g	2 f	11.9 e
Non trattato	-	-	23.9 a	4.5 a	24.2 a

I dati seguiti da lettere uguali sulla stessa colonna non sono significativamente differenti tra loro in base al test della Minima Differenza Significativa (P = 0,05).

Tabella 2. Effetto di trattamenti alle radici dei semenzali ed al terreno con formulati commerciali di olio di sesamo sulla infestazione di *Meloidogyne incognita* e sulla produzione di pomodoro cv. Naxos in una serra commerciale a Leverano (LE).

Table 2. Effect of different treatments with commercial formulates of sesame oil on the infestation of *Meloidogyne incognita* and on the yield of tomato plants cv. Naxos in a commercial greenhouse at Leverano (Lecce, Italy).

Trattamenti	Dosi			Infestazione di <i>M. incognita</i>		Produzione
	Ai semenzali	Al terreno (L ha ⁻¹)		Uova e larve mL ⁻¹ terreno	Indice di galle (0-5)	5° palco (g)
	(ml L ⁻¹ acqua)	Al trapianto	Post-trapianto ¹			
Olio di sesamo	5	10	2.5 x 4	51.3 b ²	3.2 c	229 bc
Olio di sesamo	5	15	2.5 x 4	46.0 b	3.0 c	406 e
Olio di sesamo	5	20	2.5 x 4	54.7 b	3.7 bc	270 c
Estratto di quillaja	5	20	2.5 x 4	262.3 a	5.0 a	145 ab
Olio di neem	5	6	2.5 x 4	84.5 b	4.5 ab	135 ab
Fenamiphos	-	43	-	82.7 b	3.5 c	298 cd
Non trattato	-	-	-	295.0 a	5.0 a	95 a

¹Ogni 15 giorni a partire dal trapianto; ²I dati seguiti da lettere uguali sulla stessa colonna non sono significativamente diversi (P = 0,05) in base al test della Minima Differenza Significativa.

et al., 2005). Prove su pomodoro in serre infestate da *M. incognita* hanno invece fornito risultati variabili per le formulazioni commerciali dell'estratto, visto che Giannakou (2011) ha riportato positivi effetti in prove condotte in Grecia, mentre i trattamenti con un formulato di quillaja non hanno avuto alcun effetto sulle elevate infestazioni di *M. incognita* presenti in una serra in provincia di Lecce (D'Addabbo *et al.*, 2009).

In letteratura è ampiamente documentata l'attività nematocida che diverse specie del genere *Tagetes* sono in grado di svolgere grazie alla presenza di un gran numero di composti bioattivi, in particolare l' α -thertienile, un tiofene ad elevata tossicità sui nematodi. Formulati liquidi a base di estratti acquosi di tagete sono comparsi sul mercato solo in anni recenti, visto che tradizionalmente le proprietà nematocide del tagete sono state sfruttate attraverso il ricorso a tecniche agronomiche quali colture intercalari, rotazioni e sovesci di biomasse verdi (Hooks *et al.*, 2010). Per tali formulati, utilizzati preferibilmente in trattamenti

combinati in pre- e post-trapianto, sono stati osservati effetti significativi sull'infestazione di *M. incognita* e sulla produzione di pomodoro sia in serra (Curto *et al.*, 2006) che in pieno campo (D'Addabbo *et al.*, 2008) (tab. 3).

Alla famiglia delle Asteraceae appartengono numerosi generi che, per il loro elevato contenuto in componenti bioattivi, possono costituire una fonte di prodotti nematocidi. Prove *in vitro* e *in vivo* con estratti e biomasse di specie di *Calendula* spp. e *Chrysanthemum* spp. hanno dimostrato una elevata attività di tali piante nei confronti di nematodi galligeni (Pérez *et al.*, 2003). Un potenziale impiego nella formulazione di prodotti nematocidi è stato evidenziato anche da prove di laboratorio su varie specie del genere *Artemisia* (Ferris e Zheng, 1999). Come evidenziato da uno studio sull'azione di estratti acquosi di *A. annua* L. e dei suoi principali componenti attivi (acido caffeico e clorogenico ed artemisinina) sui nematodi *M. incognita*, *G. rostochiensis* e *X. index*, l'attività nematocida di tali prodotti può variare consi-

Tab. 3 - Effetto di trattamenti con formulati commerciali di *Quillaja saponaria* e *Tagetes* spp. sulla produzione di pomodoro cv. Faino e sulla infestazione di *Meloidogyne incognita* in pieno campo a Monteroni (LE).

Tab. 3 - Effect of soil treatments with commercial formulates of *Quillaja saponaria* and *Tagetes* spp. on the yield of field-grown tomato plants cv. Faino and on the infestation of *Meloidogyne incognita* at Monteroni (LE).

Trattamenti	Dosi (L ha ⁻¹)		Produzione (T ha ⁻¹)	Indice di galle (0 - 5)	Uova e larve (mL ⁻¹ terreno)
	Al trapianto	Post-trapianto ¹			
Formulato di tagete	40	-	61,9 d	3,7 ab	4,7 a
Formulato di tagete	30	10	59,9 c	3,3 b	3,5 b
Formulato di tagete	20	10 + 10	53,7 b	3,4 b	3,8 b
Fenamiphos	36	-	58,3 c	1,8 c	2,3 c
Testimone	-	-	46,0 a	4,0 a	5,2 a

¹Ogni 15 giorni a partire dal trapianto

²I dati seguiti da lettere uguali sulla stessa colonna non sono significativamente diversi (P = 0,05) in base al test della Minima Differenza Significativa.

derevolmente in relazione in relazione alla specie target (D'Addabbo *et al.*, 2013) (tab. 4).

Molte specie di *Leguminosaeae* potrebbero costituire una potenziale risorsa per nuovi prodotti ad attività nematocida, grazie alla presenza di componenti bioattivi quali fenoli, alcaloidi, alcoli e soprattutto saponine, glucosidi terpenici con un ampio spettro di attività biologiche (Tava e Avato, 2006). Studi di laboratorio hanno documentato l'attività delle saponine di *Medicago sativa* su nematodi galligeni (Ibrahim e Srour, 2014), mentre Argentieri *et al.* (2008) hanno riscontrato un'attività biocida su *X. index* significativamente più elevata per le saponine di *M. sativa* L., *M. arabica* L. Huds. e *M. arborea* L. rispetto a quella delle saponine di *Q. saponaria* (fig. 5). Prove in vaso e/o in pieno campo hanno inoltre dimostrato che anche trattamenti al terreno con farine o pellets da biomasse di *M. sativa* possono determinare un significativo contenimento delle infestazioni di nematodi galligeni su pomodoro o di specie cisticole, quali *H. carotae* su carota e *G. rostochiensis* su patata (D'Addabbo *et al.*, 2011) (tab. 5). Un efficace controllo degli attacchi di nematode fitoparassiti viene riportato anche per altre specie di *Leguminosae*, sia di zone a clima temperato (*Trifolium* spp., *Vicia* spp.,

Tab. 4 - Mortalità (%) delle larve di *Meloidogyne incognita* e *Globodera rostochiensis* e delle femmine adulte di *Xiphinema index* esposte a differenti concentrazioni di un estratto acquoso di *Artemisia annua*

Tab. 4 - Mortality of *Meloidogyne incognita* and *Globodera rostochiensis* juveniles and of adult females of *Xiphinema index* after exposure to an aqueous extract of *Artemisia annua* over time.

Concentrazione ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Tempo di esposizione (ore)	Mortalità (%)		
		<i>M. incognita</i>	<i>G. rostochiensis</i>	<i>X. index</i>
125	2	1.5 a	36.2 a	0 a
	4	2.0 a	55.0 bc	0 a
	8	2.1 a	51.2 bc	5 bc
	24	91.2 b	70.7 d	0 a
250	2	1.5 a	46.1 ab	0 a
	4	1.4 a	51.0 bc	0 a
	8	2.7 a	48.7 ab	0 a
	24	92.6 b	97.2 e	2.5 ab
500	2	1.7 a	45.0 ab	0 a
	4	2.1 a	63.3 cd	0 a
	8	2.4 a	63.9 cd	0 a
	24	96.8 c	93.7 e	100 d

I dati seguiti da lettere uguali sulla stessa colonna non sono significativamente diversi ($P = 0,05$) in base al test della Minima Differenza Significativa.

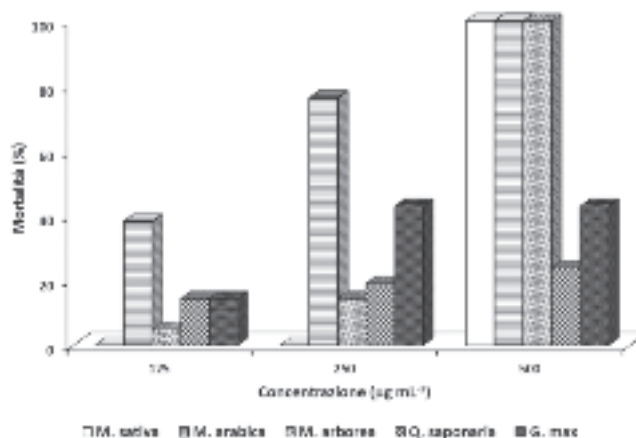


Fig. 5 - Mortalità delle femmine adulte di *Xiphinema index* dopo una esposizione di 24 ore a differenti concentrazioni di saponine da *Medicago arabica*, *M. arborea*, *M. sativa*, *Glycyne max* e *Quillaja saponaria*.

Fig. 5 - Percentage mortality of adult females of *Xiphinema index* after a 24-hour exposure to different concentrations of saponins from *Medicago arabica*, *M. arborea*, *M. sativa*, *Glycyne max* and *Quillaja saponaria*.

Lupinus albus L.) che di aree tropicali o subtropicali (*Mucuna* spp., *Crotalaria* spp), utilizzate mediante sovescio di biomasse verdi o inserimento in rotazioni colturali (Curto *et al.*, 2015; Frederick *et al.*, 2015; Yildiz, 2013).

Ampie prospettive di sviluppo di formulati nematocidi esistono anche per gli oli essenziali, miscele di composti volatili biologicamente attivi di varia natura chimica (terpeni, alcoli, aldeidi, ecc.) derivanti da piante aromatiche e medicinali appartenenti a varie famiglie botaniche, in prevalenza *Lamiaceae*, ma anche *Myrtaceae*, *Lauraceae* ed altre (Bakkali *et al.*, 2008). In letteratura è presente un'ampia serie di studi di laboratorio che documentano prevalentemente su nematodi galligeni l'attività biocida di oli essenziali di svariate specie erbacee ed arboree o dei loro singoli componenti attivi (Andrés *et al.*, 2013). In prove comparative *in vitro* ed *in vivo* sugli oli essenziali provenienti da 27 differenti specie, Oka *et al.* (2000) hanno riportato la più elevata attività su *M. javanica* Treub per gli oli di *Carum carvi* L., *Foeniculum vulgare* Mill., *Mentha rotundifolia* L. Huds. e *M. spicata* L. ed i loro componenti principali carvacrolo, timolo, *t*-anetolo e (+)-carvone.

In un recente lavoro di Avato *et al.* (2016), trattamenti al terreno con emulsioni acquose degli oli essenziali di *A. herba-alba* Asso, *Citrus sinensis* L. Osbeck, *Rosmarinus officinalis* L. e *Thymus saturoioides* Cass. hanno determinato una significativa riduzione della moltiplicazione di *M. incognita* su radici di pomodoro (fig. 6). Inoltre, Laquale *et al.* (2013) hanno riportato un efficace controllo dello stesso nematode anche mediante trattamenti di fumi-

Tab. 5 - Effetto di trattamenti al terreno in pieno campo con pellet di erba medica (*Medicago sativa* L.) sulla popolazione del nematode galligeno *Meloidogyne incognita* su pomodoro cv. Faino e del nematode cisticolo *Heterodera carotae* su carota cv. Presta ed effetti sulla produzione delle due colture.

Tab. 5 - Effect of soil treatments in open field with pelleted alfalfa meal on soil population density of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomato cv. Faino and on the cyst nematode *Heterodera carotae* on carrot cv. Presta and effects on the yield of the two crops

Trattamenti	Dose	Popolazione finale (Uova e larve)		Produzione (T ha ⁻¹)	
		<i>M. incognita</i> (ml ⁻¹ terreno)	<i>H. carotae</i> (g ⁻¹ terreno)	Pomodoro	Carota
Pellet di medica	20 T ha ⁻¹	3.2 c	11.6 bc	68.6 c	75.6 b
Pellet di medica	40 T ha ⁻¹	1.5 d	7.5 c	71.6 c	76.0 bc
Estratto di quillaja	30 L ha ⁻¹	3.8 bc	22.3 ab	55.5 b	59.6 a
Fenamiphos	30 L ha ⁻¹	2.7 cd	8.6 c	58.3 b	107.2 d
Non trattato	-	5.2 a	32.0 a	46.0 a	58.2 a

I dati seguiti da lettere uguali sulla stessa colonna non sono significativamente diversi (P = 0,05) in base al test della Minima Differenza Significativa.

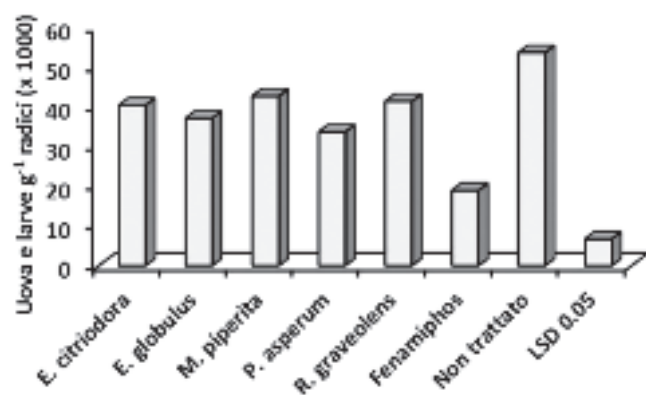


Fig. 6 - Effetto aggregato, rispetto al trattamento chimico con Fenamiphos, di trattamenti di fumigazione del terreno con differenti dosaggi degli oli essenziali di *Eucalyptus citriodora*, *E. globulus*, *Mentha piperita*, *Pelargonium asperum* e *Ruta graveolens* sulla moltiplicazione del nematode galligeno *Meloidogyne incognita* su pomodoro in vaso.

Fig. 6 - The aggregate effect of soil fumigation with different rates of essential oils from *Eucalyptus citriodora*, *E. globulus*, *Mentha piperita*, *Pelargonium asperum* and *Ruta graveolens* on the multiplication of root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on potted tomato. The results are compared against chemical treatment with *Fenamiphos*.

gazione del terreno con oli essenziali di *Eucalyptus citriodora* Hook., *E. globulus* Labill., *M. piperita* L., *Pelargonium asperum* L'Hér. e *Ruta graveolens* L. Ai fini della produzione di nuovi prodotti nematocidi basati su oli essenziali, sarà comunque necessario un preliminare studio di formulazioni innovative, quali micro o nanocapsule di biopolimeri, che ne consentano una distribuzione più semplice ed un rilascio controllato nel terreno (Martín *et al.*, 2010).

Una classe di sostanze vegetali di grande interesse per la formulazione di prodotti nematocidi è quella dei composti fenolici, che raggruppano metaboliti secondari coinvolti nei meccanismi di difesa di numerose piante da predatori e parassiti, strutturalmente diversi e di varia provenienza botanica, quali terpenoidi, cumarine, flavonoidi e tannini, (Ohri e Pannu, 2010).

Mian e Rodriguez-Kabana (1982) avevano già da tempo riportato l'effetto nematocida di trattamenti al terreno con ammendanti organici ad elevato contenuto in tannini od altri composti fenolici sul nematode galligeno *M. arenaria* (Neal) Chitwood. Inoltre, sono recentemente apparsi sul mercato formulati di tannini del castagno (*Castanea sativa* Mill.), che sono risultati in grado di ridurre l'infestazione di *M. incognita* su pomodoro agli stessi livelli conseguiti con il nematocida di sintesi fenamiphos (Maistrello *et al.*, 2010).

La presenza di cumarine, assieme ad altri composti altamente bioattivi quali terpenoidi e chetoni, conferisce proprietà nematocide alle specie del genere *Ruta* (*Rutaceae*) visto che, in prove di laboratorio sulle specie galligene *M. incognita* e *M. javanica*, è stata riportata un'attività ovidica per gli estratti acquosi di *R. graveolens* (Sasanelli *et al.*, 2007) e larvicida per quelli di *R. chalepensis* L. (Ntalli *et al.*, 2011).

Infine, sarebbero suscettibili di sfruttamento anche le proprietà nematocide riportate per gli alcaloidi, in particolare quelle degli alcaloidi pirrolizidinici presenti in molte specie di *Asteraceae* e *Leguminosae* (Thoden *et al.*, 2009) e degli alcaloidi steroidei di specie di *Solanaceae* (Chitwood, 2002).

Conclusioni

L'efficacia dell'impiego di piante biocide in strategie di lotta contro nematodi fitoparassiti sembra trovare ampi riscontri nei dati in letteratura, sia pure in relazione alle specie utilizzate e alle modalità di utilizzo. Alla soddisfacente attività sui nematodi fitoparassiti, i prodotti di origine vegetale uniscono una serie di ulteriori aspetti positivi, in primo luogo la elevata sostenibilità ambientale derivante dalla ridotta persistenza dei componenti attivi e dalla conseguente assenza di rischi di accumulo nell'ambiente. Inoltre, tali prodotti non presentano, fatta eccezione per alcu-

ne specie vegetali e classi di componenti attivi, rischi di tossicità per l'uomo e per gli animali, così come fenomeni di fitotossicità.

Poichè quella dei prodotti vegetali è generalmente un'azione multicomponente, non vi sono rischi di insorgenza di fenomeni di resistenza nei nematodi, frequenti con un uso continuato di prodotti di sintesi.

L'ampia scelta di modalità di sfruttamento delle piante nematocide, da quelle più propriamente industriali quali formulati liquidi, granulari o farine, sino a quelle agronomiche (sovescio di biomasse fresche od essiccate, rotazioni, colture intercalari) garantisce una ampia flessibilità di impiego, con la possibilità di adattare l'utilizzo alle specifiche colture e sistemi colturali, così come una piena integrazione con altre tecniche di lotta, quali trattamenti con nematocidi di sintesi o bioformulati e/o tecniche agronomiche (solarizzazione del terreno, micorrizzazione delle piante).

Non sono infine da trascurare gli effetti positivi sulla crescita della pianta e sulle proprietà chimico-fisiche del terreno, frequentemente documentati come effetti collaterali dei trattamenti con prodotti nematocidi non di origine vegetale.

A fronte di tali aspetti positivi, la diffusione dei prodotti di origine vegetale è ostacolata da una serie di criticità, prima fra tutte la pressochè impossibile protezione di brevetti su tali prodotti, facilmente aggirabili vista l'origine naturale dei prodotti stessi. Questo ovviamente riduce fortemente l'interesse verso tali prodotti da parte delle imprese di fitofarmaci di maggiori dimensioni e peso commerciale, confinandone la produzione e commercializzazione ad aziende medio-piccole con una limitata capacità di penetrazione sul mercato. Tali prodotti scontano, inoltre, la persistente mancanza di una specifica e chiara normativa che ne disciplini la registrazione e l'utilizzo e che non lasci spazio a formulati di non chiara composizione ed efficacia che, in assenza di un processo registrativo, riescono ad arrivare sul mercato con altre denominazioni (ammendanti, coadiuvanti di crescita) creando fenomeni di concorrenza non corretta con formulati che abbiano seguito un regolare e più costoso processo di registrazione, come avviene per i nematocidi.

Vi sono inoltre limiti di carattere essenzialmente tecnico, quale la difficoltà di garantire, a causa dell'origine naturale delle materie prime, un'elevata standardizzazione della composizione e della qualità di tali prodotti che, invece, sono fondamentali al fine di garantire una costanza dell'efficacia nematocida. Tali aspetti potrebbero essere migliorati attraverso un più stretto controllo dell'origine e delle tecniche di coltivazione delle specie vegetali di provenienza e di formulazione dei prodotti.

Per prodotti quali estratti acquosi ed oli, sussistono anche limiti legati alla necessità di formulazioni che limitino una rapida degradazione o dispersione dei principi attivi nel terreno, pur consentendo una agevole distribuzione del prodotto. A tal fine di grande interesse sembrano essere formulazioni innovative già utilizzate in campo farmaceutico, come il micro o nanoincapsulamento in materiali quali polimeri naturali, lipidi o destrine, che consentono un rilascio controllato dei principi attivi.

Riassunto

Il lavoro è una rassegna di prodotti nematocidi derivati da piante attualmente o potenzialmente disponibili in orticoltura, per strategie di difesa sostenibile contro nematodi fitoparassiti. Sostanze volatili ad elevata attività nematocida e con ridotta persistenza nell'ambiente possono derivare dalla degradazione di glucosinolati o glucosidi cianogenici presenti in specie di *Brassicaceae* e di *Sorghum* spp., così come da oli essenziali di specie aromatiche e medicinali. Composti nematocidi sono presenti anche in altri gruppi botanici, quali *Leguminosae* e *Pedaliaceae*. Vengono anche discusse le principali criticità che limitano una più ampia diffusione di nematocidi di origine vegetale.

Parole chiave: nematodi, difesa, sostenibilità, piante nematocide

Bibliografia

- ABBASI P.A., RIGA E., CONN K.L., LAZAROVITS G., 2005. *Effect of neem cake soil amendment on reduction of damping-off severity and population densities of plant-parasitic nematodes and soilborne plant pathogens*. Canadian Journal of Plant Pathology 27 (1): 38-45.
- ANDRÉS M.F., GONZÁLEZ-COLOMA A., SANZ J., BURILLO J., SAINZ P., 2012. *Nematicidal activity of essential oils: a review*. Phytochemistry Reviews 11 (84): 371-390.
- ARGENTIERI M.P., D'ADDABBO T., TAVA A., AGOSTINELLI A., JURZYSTA M., AVATO P., 2008. *Evaluation of nematicidal properties of saponins from Medicago spp.* European Journal of Plant Pathology 120 (2): 189-197.
- AVATO P., LAQUALE S., ARGENTIERI M.P., LAMIRI A., RADICCI V., D'ADDABBO T., 2016. *Nematicidal activity of essential oils from aromatic plants of Morocco*. Journal of Pest Science, 1-12. doi:10.1007/s10340-016-0805-0.
- AVATO P., D'ADDABBO T., LEONETTI P., ARGENTIERI M.P., 2013. *Nematicidal potential of Brassicaceae*. Phytochemistry Reviews 12 (4):791-802.
- BEDIGIAN D., SEIGLER D.S., HARLAN J.R., 1985. *Sesamin, sesamol and the origin of sesame*. Biochemical Systematics and Ecology 13 (2): 133-139.
- BAKKALI F., AVERBECK S., AVERBECK D., IDAOMAR M., 2008. *Biological effects of essential oils - a review*. Food and Chemical Toxicology 46 (2): 446-475.
- CAROPPO S., CONIGLIO D., CAPELLA A., AMBROGIONI L., 2005.

- Azione di due diversi formulati di azadiractina nei confronti di *Meloidogyne incognita* su pomodoro in ambiente controllato. *Informatore Fitopatologico* 5: 38-42.
- CHITWOOD D.J., 2002. *Phytochemical based strategies for nematode control*. *Annual Review of Phytopathology* 40(1): 221-249.
- CROW W.T., 2005. *Biologically derived alternatives to Nematicur*. *Golf Course Management*, 73 (1): 147-150.
- CURTO G., DALLAVALLE E., MATTEO R., LAZZERI L., 2016. *Biofumigant effect of new defatted seed meals against the southern root-knot nematode, Meloidogyne incognita*. *Annals of Applied Biology* 169: 1-10.
- CURTO G., DALLAVALLE E., SANTI R., CASADEI N., D'AVINO L., LAZZERI L., 2015. *The potential of Crotalaria juncea L. as a summer green manure crop in comparison to Brassicaceae catch crops for management of Meloidogyne incognita in the Mediterranean area*. *European Journal of Plant Pathology* 42: 829-841.
- CURTO G., DALLAVALLE E., DE NICOLA G.R., LAZZERI L., 2012. *Evaluation of the activity of dhurrin and sorghum towards Meloidogyne incognita (Kofoid et White) Chitw.* *Nematology* 14: 759-769.
- CURTO G., SANTI R., DALLAVALLE E., LAZZERI L., 2006. *Evaluation of alternative strategies for the control of root-knot nematode Meloidogyne incognita (Kofoid et White) Chitw., on tomato crop, in plastic greenhouse*. In: *Atti delle Giornate Fitopatologiche, Università di Bologna*: 225-232.
- D'ADDABBO T., CARBONARA T., ARGENTIERI M.P., RADICCI V., LEONETTI P., VILLANOVA L., AVATO P., 2013. *Nematicidal potential of Artemisia annua and its main metabolites*. *European Journal of Plant Pathology* 137 (2): 295-304.
- D'ADDABBO T., CARBONARA T., LEONETTI P., RADICCI V., TAVA A., AVATO P., 2011. *Control of plant parasitic nematodes with active saponins and biomass from Medicago sativa*. *Phytochemistry Reviews* 10 (4): 503-519.
- D'ADDABBO T., RADICCI V., LUCARELLI G., CARELLA A., BERNAD D., MARTIN E., 2010. *Effectiveness of a formulation from Pedaliaceae plants (Nematon® EC) for the control of the root-knot nematode Meloidogyne incognita on greenhouse tomato*. *Acta Horticulturae (ISHS)* 914: 233-236.
- D'ADDABBO T., GRECO P., RADICCI V., 2008. *Efficacia di formulati commerciali di origine vegetale nella lotta contro i nematodi galligeni*. *Atti Giornate Fitopatologiche* 1: 317-22.
- 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: 29-34.
- D'ADDABBO T., DE MASTRO G., SASANELLI N., DI STEFANO A., OMIDBAIGI R., 2004. *Suppressive action of different cruciferous crops on the root-knot nematode Meloidogyne incognita*. *Agroindustria* 3: 379-380.
- DE NICOLA G.R., LEONI O., MALAGUTI L., BERNARDI R., LAZZERI L., 2011. *A simple analytical method for dhurrin content evaluation in cyanogenic plants for their utilization in fodder and biofumigation*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 8065-8069.
- FERRIS H., ZHENG L., 1999. *Plant sources of chinese herbal remedies: Effects on Pratylenchus vulnus and Meloidogyne javanica*. *Journal of Nematology* 31 (3): 241-263.
- FREDERICK K., SUEN F., ADOMAKO J., 2015. *Nematicidal effect of sunn hemp Crotalaria juncea leaf residues on Meloidogyne incognita attacking tomato Solanum lycopersicum roots*. *Journal of Crop Protection* 4 (2): 241-246.
- GIANNAKOU I.O., 2011. *Efficacy of a formulated product containing Quillaja saponaria plant extracts for the control of root-knot nematodes*. *European Journal of Plant Pathology* 130 (4): 587-596.
- HOOKE C.R., WANG K.H., PLOEG A., MCSORLEY R., 2010. *Using marigold (Tagetes spp.) as a cover crop to protect crops from plant-parasitic nematodes*. *Applied Soil Ecology* 46 (3): 307-320.
- IBRAHIM M.A., SROUR H.A., 2014. *Saponins suppress nematode cholesterol biosynthesis and inhibit root knot nematode development in tomato seedlings*. *Natural Products Chemistry & Research*, 2: 123 doi:10.4172/2329-6836.1000123.
- LAQUALE S., CANDIDO V., AVATO P., ARGENTIERI M.P., D'ADDABBO T., 2015. *Essential oils as soil biofumigants for the control of the root-knot nematode Meloidogyne incognita on tomato*. *Annals of Applied Biology* 167 (2): 217-224.
- LAZZERI L., CURTO G., DALLAVALLE E., D'AVINO L., MALAGUTI L., SANTI R., PATALANO G., 2009. *Nematicidal efficacy of biofumigation by defatted Brassicaceae meal for control of Meloidogyne incognita (Kofoid et White) Chitw. on a full field zucchini crop*. *Journal of Sustainable Agriculture* 33 (3): 349-358.
- LAZZERI L., CURTO G., LEONI O., DALLAVALLE E., 2004. *Effects of glucosinolates and their enzymatic hydrolysis products via myrosinase on the root knot nematode Meloidogyne incognita (Kofoid et White) Chitw.* *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 6703-6707.
- LAZZERI L., TACCONI R., PALMIERI S., 1993. *In vitro activity of some glucosinolates and their reaction products toward a population of the nematode Heterodera schachtii*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41: 825-829.
- LORD J.S., LAZZERI L., ATKINSON H.J., URWIN P.E., 2011. *Biofumigation for control of pale potato cyst nematodes: activity of Brassica leaf extracts and green manures on Globodera pallida in vitro and in soil*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 7882-7890.
- MAISTRELLO L., VACCARI G., SASANELLI N., 2010. *Effect of chestnut tannins on the root-knot nematode Meloidogyne javanica*. *Helminthologia* 47: 48-57.
- MARTIN Á., VARONA S., NAVARRETE A., COCERO M.J., 2010. *Encapsulation and co-precipitation processes with supercritical fluids: applications with essential oils*. *Open Chemical Engineering Journal*, 4 (1): 31-41.
- MATTHIESSEN J.N., KIRKEGAARD J.A., 2006. *Biofumigation and enhanced biodegradation: opportunity and challenge in soil-borne pest and disease management*. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 25 (3): 235-265.
- MIAN I.H., RODRIGUEZ-KABANA R., 1982. *Organic amendments with high tannin and phenolic contents for control of Meloidogyne arenaria in infested soil*. *Nematropica*, 12 (2): 221-234.
- MOJTAHEDI H., SANTO G.S., HANG A.N., WILSON J.H., 1991. *Suppression of root-knot nematode populations with selected rapeseed cultivars as a green manure*. *Journal of Nematology*, 23 (2): 170-174.
- MONFORT W.S., CSINOS A.S., DESAEGER J., SEEBOLD K., WEBSTER T.M., DIAZ-PEREZ J.C., 2007. *Evaluating Brassica species as an alternative control measure for root-knot nematode (M. incognita) in Georgia vegetable plasticulture*. *Crop Protection* 26 (9): 1359-1368.
- NICOL J.M., TURNER S.J., COYNE D.L., DEN NIJS L., HOCKLAND S., MAAFI Z.T., 2011. *Current nematode threats to world agriculture*. In: *Genomics and molecular genetics of plant-nematode interactions*, Springer Netherlands: 21-43.
- NTALLI N.G., CABONI P., 2012. *Botanical nematicides: a review*. *Journal of agricultural and food chemistry* 60 (40): 9929-9940.
- NTALLI N.G., MANCONI F., LEONTI M., MAXIA A., CABONI P., 2011. *Aliphatic ketones from Ruta chalepensis (Rutaceae) induce paralysis on root knot nematodes*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59 (13): 7098-7103.
- NTALLI N.G., MENKISSOGLU-SPIROUDI U., GIANNAKOU I., 2010. *Nematicidal activity of powder and extracts of Melia azedarach fruits against Meloidogyne incognita*. *Annals of Applied Biology*, 156 (2): 309-317.

- OHRI P., PANNU S.K., 2010. *Effect of phenolic compounds on nematodes-A review*. Journal of Applied and Natural Science 2 (2): 344-350.
- 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 (7): 710-715.
- OLIVEIRA R.D., DHINGRA O.D., LIMA A.O., JHAM G.N., BERHOW M.A., HOLLOWAY R.K., VAUGHN S.F., 2011. *Glucosinolate content and nematicidal activity of Brazilian wild mustard tissues against Meloidogyne incognita in tomato*. Plant and Soil, 341 (1-2): 155-164.
- PÉREZ M.P., NAVAS-CORTÉS J.A., PASCUAL-VILLALOBOS M.J., CASTILLO P., 2003. *Nematicidal activity of essential oils and organic amendments from Asteraceae against root-knot nematodes*. Plant Pathology 52 (3): 395-401.
- PERRY R.N., MOENS M., 2013. Plant nematology. CABI, Wallingford, UK.
- POTTER M.J., DAVIES K., RATHJEN A.J., 1998. *Suppressive impact of glucosinolates in Brassica vegetative tissues on root lesion nematode Pratylenchus neglectus*. Journal of Chemical Ecology, 24 (1): 67-80.
- SAN MARTIN R., MAGUNACELAYA J.C., 2005. *Control of plant parasitic nematodes with extracts of Quillaja saponaria*. Nematology 7 (4): 577-585.
- SASANELLI N., ANTON A., D'ADDABBO T., TAKACS T., 2007. *Nematicidal properties of leaf extracts of Ruta graveolens inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi*. Russian Journal of Nematology 15 (1): 65-73.
- SCHMUTTERER H., 1990. *Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, Azadirachta indica*. Annual Review of Entomology 35 (1): 271-297.
- TAVA A., AVATO P., 2006. *Chemical and biological activity of triterpene saponins from Medicago species*. Natural Product Communications 1 (12): 1159-1180.
- THODEN T.C., BOPPRÉ M., HALLMANN J., 2009. *Effects of pyrrolizidine alkaloids on the performance of plant-parasitic and free-living nematodes*. Pest Management Science 65 (7): 823-830.
- TILMAN D., CASSMAN K.G., MATSON P.A., NAYLOR R., POLASKY S., 2002. *Agricultural sustainability and intensive production practices*. Nature 418 (6898): 671-677.
- VALDES Y., VIAENE N., PERRY R.N., MOENS M., 2011. *Effect of the green manures Sinapis alba, Brassica napus and Raphanus sativus on hatching of Globodera rostochiensis*. Nematology 13 (8): 965-975.
- YILDIZ S., 2013. *Rotational and nematicidal effect of lupine (Lupinus albus L.: Leguminosae)*. African Journal of Biotechnology 10 (61): 13252-13255.
- 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 (5): 562-568.
- ZASADA I.A., FERRIS H., 2004. *Nematode suppression with brassicaceous amendments: application based upon glucosinolate profiles*. Soil Biology and Biochemistry 36 (7): 1017-1024.