

NEMATODI FITOPARASSITI E OLI ESSENZIALI: NUOVE STRATEGIE DI CONTROLLO BIOSOSTENIBILE

Paola Leonetti, Sebastiano Laquale, Nicola Sasanelli, Vincenzo Radicci, Trifone D'Addabbo

Istituto per la Protezione delle Piante, UOS Bari, CNR
Email p.leonetti@ba.ipp.cnr.it

I nematodi fitoparassiti, a causa della vasta diffusione e della difficoltà del loro controllo, rappresentano a livello mondiale una delle più pericolose avversità delle colture agrarie e arrecano annualmente ingenti perdite di produzione. Negli scorsi decenni il controllo dei nematodi è stato basato prevalentemente su trattamenti con nematocidi di sintesi, soprattutto fumiganti, il cui impiego è stato però quasi completamente messo al bando a causa della loro pericolosità per la salute umana e per l'ambiente. Le sostanze biocide di origine vegetale offrono un elevato potenziale di impiego per il controllo dei nematodi, in quanto utilizzabili direttamente per la preparazione di formulati nematocidi o fungere da modello per lo sviluppo di derivati ad attività potenziata. In particolare, gli oli essenziali provenienti da specie di piante di numerose famiglie botaniche, quali Lamiaceae, Asteraceae, Myrtaceae, Rutaceae, Lauraceae e Poaceae, hanno già dimostrato di svolgere un'attività biocida nei confronti di differenti specie di nematodi fitoparassiti. L'Istituto per la Protezione delle Piante svolge già da alcuni anni studi con tecniche di biologia molecolare sul meccanismo di interazione fra piante pretrattate e patogeni infestanti oltre che studi *in vitro* e *in vivo* sull'attività nematocida degli stessi oli essenziali e loro componenti di numerose specie vegetali di diversa provenienza geografica nei confronti di nematodi galligeni (*Meloidogyne* spp) e cisticoli (*Globodera* spp.). In particolare sono stati condotti studi sugli oli essenziali di specie aromatiche autoctone del Marocco, su quelli di differenti specie del genere *Cinnamomum* (*C. camphora*, *C. cassia*, *C. zeylanicum*), nonché delle specie *Citrus aurantium*, *Eugenia caryophyllata* e *Schinus molle*. Gran parte degli oli hanno mostrato a tutte le dosi e le modalità applicative saggiate una elevata attività biocida sulle specie target, dimostrando dunque un notevole potenziale applicativo per la produzione di nuovi formulati commerciali.

ATTIVITÀ ANTIOSSIDANTE E ANTIBATTERICA DELL'OLIO ESSENZIALE DI *OCIMUM BASILICUM* IN SPIGOLE NEL CORSO DI INFEZIONE DA *VIBRIO ALGINOLYTICUS*

Greco G¹, Casalino E¹, Tarsitano E¹, Moscato M², Centoducati G¹, Merra E¹, Buonavoglia D¹, A Botto³

¹ Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Dipartimento di Medicina Veterinaria.

² Panittica Pugliese Azienda Agricola S.p.A. – Torrecanne di Fasano (BR)

³ Exenia Group S.r.l. Albignasego (PD)

Le proprietà antiossidanti, antibatteriche e antimicotiche degli oli essenziali di piante aromatiche e medicinali sono note da tempo.

Obiettivo di questo studio è stato investigare *in vivo* il potenziale antiossidante ed antimicrobico dell'olio essenziale di basilico (*Ocimum basilicum* L.) su esemplari di spigola (*Dicentrarchus labrax*), sperimentalmente infettati con *Vibrio alginolyticus*, un emergente patogeno opportunista per l'uomo e per gli animali marini.

L'olio essenziale di basilico estratto con la tecnologia supercritica è stato addizionato, in misura dello 0.685%, a un mangime convenzionale, al fine di produrre un mangime medicato. Lo studio è stato condotto su avannotti di spigola per un periodo complessivo di 60 giorni. I pesci erano suddivisi in 3 gruppi denominati rispettivamente A, B, e C. I pesci del gruppo A, alimentati solo con mangime convenzionale per l'intera durata dell'esperimento hanno rappresentato il gruppo di controllo. I pesci del gruppo B hanno ricevuto mangime convenzionale per i primi 30 giorni mentre per i successivi 30 giorni hanno ricevuto il mangime medicato. I pesci del gruppo C sono stati alimentati per l'intera durata dello studio con il mangime medicato. Il 30° giorno successivo all'inizio dello studio i pesci dei gruppi A, B e C sono stati sottoposti ad infezione sperimentale con *V. alginolyticus*. Per ciascun gruppo è stato monitorato lo stato di infezione e lo stato ossidativo, stimato mediante misura dei prodotti della perossidazione lipidica e l'analisi dell'attività degli enzimi antiossidanti.

Lo studio ha evidenziato un buon controllo dell'infezione nei gruppi di pesci B e C alimentati con il mangime medicato. Inoltre, negli stessi gruppi B e C, contrariamente al gruppo A, non si è osservato danno ossidativo da infezione ma, al contrario, sono state stimulate le attività degli enzimi antiossidanti catalasi e glutatione perossidasi.

Condizioni ambientali sfavorevoli o cattive pratiche di gestione possono stressare i pesci di allevamento causandone riduzione del tasso di crescita e soppressione delle difese immunitarie, rendendoli nel frattempo più recettivi alle infezioni batteriche, spesso associate a uno stato di stress ossidativo. Poiché l'uso di antibiotici in ambiente acquatico ha conseguenze negative per l'impatto ambientale e per la salute dei consumatori, l'impiego di preparati fitochimici con doppia funzionalità, antimicrobica e antiossidante, potrebbe rappresentare una valida alternativa.

Progetto finanziato da: Programma POR-PUGLIA 2000-2006.

COMPOSIZIONE E BIOATTIVITÀ DELL'OLIO ESSENZIALE DI *CRYPTOCARYA MASSOIA* (LAURACEAE)

Gianni Sacchetti¹, Silvia Maietti¹, Damiano Rossi¹, Antonella Spagnoletti¹, Alessandro Grandini¹, Massimo Tacchini¹, Renato Bruni², Alessandra Guerrini¹

¹Dip. Scienze della Vita e Biotecnologie (SVeB), Università degli Studi di Ferrara, C.so Ercole I d'Este 32, 44121 Ferrara, Italy; gianni.sacchetti@unife.it

²Dip. Scienze degli Alimenti, Università degli Studi di Parma, Via G.P. Usberti 95/a, 43124 Parma, Italy; renato.bruni@unipr.it

L'analisi GC-FID e GC-MS dell'olio essenziale (oe) di *Cryptocarya massoia* (Lauraceae) ha evidenziato la presenza di diversi lattoni tipici della specie (82%; C8=3,39±0,08%, C10=56,06±0,42%, C12=16,51±0,11%, C14=0,56±0,01%) alcuni dei quali identificati per la prima volta, e di composti benzilici (15%; benzil benzoato 12,73±0,10%, benzoil salicilato 1,78±0,01%). I saggi di bioattività *in vitro* (DPPH ed ABTS test) hanno evidenziato una modesta capacità antiossidante dell'oe, con IC₅₀, 20 volte superiore rispetto all'oe di timo commerciale preso come riferimento (Sacchetti *et al.*, 2005). Rispetto all'attività antimicrobica su 12 ceppi batterici e lieviti, l'oe di massoia evidenziava MIC omogenee tra i diversi ceppi, con il valore più basso (9,8±1.1µg/µl) per *Klebsiella oxytoca* e con dati invece confrontabili con l'oe di timo per i ceppi *Bacillus brevis* e *Pseudomonas aeruginosa* (18,6±1,4µg/µl). Più interessante l'attività verso *Candida albicans* (MIC=4,9±0,8µg/µl) con valori circa 4 volte inferiori rispetto al riferimento (oe di timo). Infine, l'(HP)TLC-bioautografica ha consentito di identificare i componenti maggiormente attivi del fitocomplesso per attività antiossidante e antimicrobica, successivamente isolati tramite frazionamento cromatografico (Rossi *et al.*, 2011). Indagini di genotossicità con test di Ames (TA98 e TA100) e SOS-Chromotest

(*E. coli*, PQ37) hanno dato esito negativo fino alle concentrazioni rispettive di 0,5 e 2 µg/ml. Infine, l'attività citotossica (MTT test) dell'oe e dei suoi componenti principali sulla linea cellulare di carcinoma intestinale (CaCo-2) ha evidenziato un'importante riduzione della vitalità cellulare (IC₅₀=0,0005%). Particolarmente efficaci sono risultati nell'ordine i massoia lattoni C12 e C10, i cui composti insaturi risultavano generalmente e comunque più attivi rispetto ai corrispondenti saturi. Le frazioni identificate come benzil benzoato e benzil salicilato hanno dimostrato attività circa 100 volte inferiori rispetto all'oe e ai massoia lattoni.

Bibliografia:

Sacchetti G, Maietti S, Muzzoli M, *et Al.* "Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods". *Food Chem.*, **2005**, 91:621-632.

Rossi D, Guerrini A, Maietti S, *et Al.* "Chemical fingerprinting and bioactivity of Amazonian Ecuador *Croton lechleri* Müll. Arg. (Euphorbiaceae) stem bark essential oil: A new functional food ingredient?". *Food Chem.*, **2011**, 126:837-848.

EFFETTO DELLA TEMPERATURA SULL'ATTIVITÀ ANTIMICROBICA E ANTIBIOFILM DI ALDEIDE CINNAMICA E CARVACROLO INCORPORATI IN FILM POLIMERICI

Antonia Nostro¹, Roberto Scaffaro², Angela Filocamo¹, Luigi Botta², Andreana Marino¹, Giuseppe Bisignano¹

¹Dipartimento di Scienze del Farmaco e Prodotti per la Salute, Università degli Studi di Messina,

²Dipartimento di Ingegneria Civile, Ambientale, Aerospaziale, dei Materiali Università di Palermo

Aldeide cinnamica e carvacrolo possiedono attività antimicrobica ad ampio spettro nei confronti di batteri sia in fase planctonica che sessile [1-3]. Studi recenti documentano la loro attività antibatterica anche dopo incorporazione all'interno di film a base di etilene vinil acetato (EVA) [4]. Scopo di questo lavoro è stato quello di estendere la ricerca e valutare l'effetto della temperatura (4 °C, 22 °C, 37 °C) sull'attività antimicrobica e antibiofilm dei film a base di EVA contenenti aldeide cinnamica e carvacrolo, da soli e in combinazione (50:50; 25:75; 75:25). A tal proposito i principi attivi sono stati inclusi al 7% w/w nella matrice polimerica mediante miscelazione da fuso e i film preparati per pressofusione sono stati caratterizzati dal punto di vista morfostrutturale. I film polimerici sono stati, quindi, saggiati per le loro proprietà inibenti la crescita e la formazione di biofilm di *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

I risultati documentano che l'incorporazione dei principi attivi nei materiali polimerici migliora la deformabilità e determina una riduzione dell'idrofobicità di superficie. Aldeide cinnamica e carvacrolo inclusi, da soli e in combinazione, nei polimeri causano una forte inibizione (80-90%) della crescita e del biofilm di *S. aureus*, indipendentemente dal valore di temperatura. Di contro un effetto della temperatura si rileva a 22 °C nei confronti di *E. coli* con una ridotta attività inibente (30-40%) dei polimeri contenenti aldeide cinnamica sia sulla crescita batterica che sulla biomassa adesa.

I dati di questo studio offrono interessanti prospettive applicative degli oli essenziali nella progettazione di imballaggi alimentari attivi e superfici finalizzate al controllo della crescita microbica.

- 1) Burt S, "Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods." *Int J Food Microbiol.*, **2004**, 94:223-53.
- 2) Nostro A, Blanco AR, Cannatelli MA, *et Al.*, "Susceptibility of methicillin resistant staphylococci to oregano essential oil, carvacrol and thymol. *FEMS Microbiol Letters*, **2004**, 230:191-5.
- 3) Nostro A, Sudano-Roccaro A, Bisignano G, "Effects of oregano, carvacrol and thymol on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms." *J Med Microbiol*, **2007**, 56:519-23.
- 4) Nostro A, Scaffaro R, D'Arrigo M, *et Al.*, "Study on carvacrol and cinnamaldehyde polymeric films: mechanical properties, release kinetics and antibacterial and antibiofilm activities." *Appl Microbiol Biotechnol.*, **2012**, 96:1029-38.