

## **Effetti allelopatici di *Ruta graveolens* L. sulla germinazione delle piante infestanti e sulla microflora di un suolo agrario**

GIOVANNI ALIOTTA<sup>1</sup>, GENNARO CAFIERO<sup>2</sup>, VINCENZO DE FEO<sup>3</sup>, LUCIANA DE VERO<sup>4</sup>, PAOLA IOVIENO<sup>4</sup>, ANGELO DOMENICO PALUMBO<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze della Vita, Seconda Università di Napoli, Via Vivaldi, 81100 Caserta; <sup>2</sup>Centro Interdipartimentale di Ricerca sulle Ultrastrutture Biologiche, Università di Napoli "Federico II"; <sup>3</sup>Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università degli Studi di Salerno; <sup>4</sup>Istituto Sperimentale per l'Orticoltura, Pontecagnano (Salerno).

**Abstract.** An infusion of rue (*Ruta graveolens* L.), an abortive plant, was tested for its allelopathic effects upon seed germination and microbial biomass of an agricultural soil. It was found that rue infusion delays the onset and decrease germination of all weeds, but *Poa pratensis* L., whereas stimulates soil respiration and increases soil microbial biomass.

**Riassunto.** Un infuso di *Ruta graveolens* L., una antica pianta medicinale, è stato saggiato su un suolo agrario al fine di valutarne gli effetti allelopatici sulla germinazione dei semi e sulla microflora. Due trattamenti dell'infuso al 10 % (p/V) ritardano e riducono la germinazione delle infestanti, eccetto *Poa pratensis* L.; viceversa essi stimolano la respirazione ed incrementano la biomassa microbica del suolo.

**Key words:** Allelopathy, Microbial biomass, Natural pesticides, *Ruta graveolens*, Weeds.

### INTRODUZIONE

Alle soglie del terzo millennio la sfida per l'agricoltura è quella di potenziarsi, attrarre l'interesse dei giovani e produrre gli alimenti necessari senza danneggiare suolo, acqua e biodiversità. Di conseguenza, l'interesse di molti ricercatori è volto alle pratiche agricole capaci di ridurre l'impatto ambientale dell'agricoltura convenzionale (es. pesticidi ed erosione del suolo) e rendere il sistema più "sostenibile" (ALIOTTA et al., 1996a; REGANOLD et al., 1990). I progressi nel campo dell'allelopatia, un settore dell'ecologia chimica che studia l'interazione chimica fra

le piante, inclusi i microrganismi, possono fornire un contributo decisivo allo sviluppo dell'agricoltura sostenibile. Infatti, determinando l'attività biologica degli allelochimici liberati dalle piante, si possono individuare le rotazioni colturali più appropriate ed i pesticidi naturali biodegradabili (NARWAL, 1994).

Il nostro gruppo di ricerca è da anni impegnato nello studio delle piante infestanti e medicinali come fonte di potenziali sostanze allelochimiche che inibiscono la crescita e lo sviluppo delle infestanti (AIELLO et al., 1992; ALIOTTA et al., 1989, 1991, 1992). Una specie rivelatasi materiale di elezione per questo tipo di indagine è *Ruta graveolens* L. (Fam. Rutaceae), una antica pianta medicinale, considerata abortiva già da Plinio il Vecchio (26-79 d. C.) nella sua *Naturalis Historia* (CONTE et al., 1981) e responsabile di fotodermatiti per la presenza di furanocumarine sulle sue foglie (ZOBEL & BROWN, 1988, 1995). Attualmente, in Italia la ruta è coltivata per aromatizzare la grappa e per ornamento; talvolta inselvaticata, essa è spontanea sul Carso triestino (PIGNATTI, 1982). La pianta è riportata nella Farmacopea di ventotto paesi (PENSO, 1983) come stimolante, diuretica ed emmenagoga (DUKE, 1985).

Le proprietà tossiche della ruta ci suggerirono di verificarne *in vitro* l'attività allelopatica sulla germinazione di semi (*Raphanus sativus* L. 'Saxa' e *Portulaca oleracea* L.) (ALIOTTA et al., 1994, 1996b) e sullo sviluppo di insetti (*Ceratitis capitata* Weld. e *Culex pipiens* L.) (ALIOTTA et al., 1996a). Sulla base dei risultati ottenuti *in vitro* si è ritenuto opportuno valutare nel presente lavoro gli effetti di un infuso di ruta sulla germinazione delle piante infestanti e sulla microflora di un suolo agrario.

## MATERIALI E METODI

### *Preparazione dell'infuso di ruta*

Foglie fresche di ruta furono raccolte nel mese di luglio 1996 da piante coltivate presso l'azienda dell'Istituto Sperimentale per l'Orticoltura di Pontecagnano (SA). Per evitare il rischio di fotodermatiti si utilizzarono guanti di lattice e la raccolta fu effettuata in assenza di forte irraggiamento solare. Infusi al 10 % ed al 20 % (p/V) furono preparati immergendo le foglie fresche per

10 minuti in acqua a 95 °C secondo il metodo proposto da ZOBEL & BROWN (1988), modificato da ALIOTTA et al. (1996b).

### *Saggio biologico*

Gli infusi di ruta furono saggiati per i loro effetti allelopatici valutando la germinazione dei semi e la microflora di un suolo agrario, trattato e non. Il suolo era prelevato nei primi 10 cm della superficie da parcelle di pieno campo precedentemente lavorato per ospitare varie coltivazioni ortive. Le caratteristiche pedologiche del suolo erano: 47 % di sabbia, 36 % di limo e 17 % di argilla; pH 8,1; conducibilità elettrica 350 mSiemens cm<sup>-1</sup>; capacità idrica di campo pari all' 85 % del peso secco di terreno.

Dopo mescolamento ed essiccamento all'aria dei campioni, il terreno fu distribuito in 20 vaschette (2 Kg di terreno/vaschetta) di plastica bianca rigida, 23 x 30 x 6 cm, aventi cinque fori sul fondo per consentire il drenaggio. Le vaschette furono disposte su bancali di legno all'interno di un tunnel con copertura di rete nera. I valori della temperatura e dell'umidità relativa dell'aria, registrati da un termoigrografo, variarono rispettivamente tra 16,8 - 32,8 °C ed il 30 - 100 %.

Il suolo fu sottoposto a trattamenti con infuso di ruta al 10 % od al 20 % (p/V), una o due volte. Ciascun trattamento fu realizzato saturando il terreno con 500 ml di infuso di ruta alle concentrazioni indicate. Parallelamente, nel controllo si aggiunsero 500 ml di H<sub>2</sub>O.

Il secondo trattamento fu effettuato a distanza di sette giorni dal primo, somministrando la stessa quantità di acqua nelle vaschette che non prevedevano un ulteriore trattamento. L'intervallo di sette giorni fra i trattamenti fu suggerito dal fatto che in precedenti esperimenti in capsule petri, dopo una settimana si osservava una contaminazione fungina della carta da filtro imbibita di infuso di ruta. Nel corso dell'esperimento, il terreno fu irrigato ogni tre giorni, evitando la percolazione dal fondo delle vaschette. Ogni prova fu ripetuta quattro volte.

Il rilievo delle plantule germinate, distinte per specie, iniziò dopo una settimana dal primo trattamento e si protrasse, con cadenza settimanale, per quarantadue giorni. I dati, espressi come numero medio di piante per m<sup>2</sup>, furono elaborati statisticamente con il modello lineare delle risposte basato sulla rimozione progressiva delle mediane, utile per analisi a due

variabili (TUKEY, 1977) secondo il polinomio  $y = m + m_t + m_c + e$  ( $y$  = risposta al trattamento;  $m$  = mediana generale;  $m_t$  = mediana degli scarti riferiti al tempo;  $m_c$  = mediana degli scarti riferiti alla concentrazione dell'infuso;  $e$  = residuo).

#### *Determinazione della respirazione e della biomassa microbica*

L'influenza degli infusi di ruta sulla microflora del suolo fu valutata nelle stesse condizioni descritte in precedenza, effettuando prelievi di terreno da ciascuna vaschetta dopo 3, 7, 10 e 14 giorni dal primo trattamento. Al settimo giorno il prelievo fu eseguito prima di effettuare il secondo trattamento.

Campioni di terreno furono prelevati utilizzando dei cilindretti di plastica ( $\varnothing$  3 cm) inseriti in maniera casuale nell'intero spessore del terreno, pari a circa 4 cm, ed utilizzati per la determinazione della respirazione, secondo il metodo di FROMENT (1972), e della biomassa microbica, secondo il metodo della fumigazione-incubazione (JENKINSON & POWLSON, 1976). La respirazione è stata espressa come mg  $\text{CO}_2$ /g di peso secco di terreno, mentre la biomassa microbica come mg C/g peso secco di terreno.

Le analisi furono eseguite su quattro repliche ed i risultati espressi come media dei valori.

## RISULTATI E DISCUSSIONE

### *Influenza dell'infuso di ruta sulla germinazione dei semi presenti nel suolo agrario*

La Tab. 1 riporta il numero di plantule germinate per  $\text{m}^2$ , in presenza ed assenza di uno o due trattamenti del suolo, con infusi di ruta al 10 % o 20 % (p/V) e l'analisi statistica secondo il modello lineare della rimozione delle mediane. Dopo una settimana dall'inizio dell'esperimento, i rilievi floristici nelle vaschette di controllo hanno evidenziato un numero di plantule/ $\text{m}^2$  delle seguenti specie: *Portulaca oleracea* L. (131), *Poa pratensis* L. (115), *Lamium purpureum* L. (31) e poche plantule di *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medicus, *Chenopodium album* L., *Matricaria chamomilla* L., *Mercurialis annua* L., *Setaria italica* L., *Solanum nigrum* L. e *Stellaria media* L. (considerate globalmente, 99).

Tab. 1 - **a.** Numero di plantule germinate per m<sup>2</sup> di un suolo agrario trattato con infusi di ruta.  
**b.** Analisi dei dati riportati in **a** mediante modello lineare basato su rimozione progressiva delle mediane.

**C** = Controllo; **T1** = unico trattamento con infuso al 10%; **T2** = due trattamenti con infuso al 10%; **T3** = unico trattamento con infuso al 20%; **T4** = due trattamenti con infuso al 20%.

**a**

Giorni	<i>Portulaca oleracea</i>					<i>Poa pratensis</i>					<i>Lamium purpureum</i>				
	<b>C</b>	T1	T2	T3	T4	<b>C</b>	T1	T2	T3	T4	<b>C</b>	T1	T2	T3	T4
7	<b>131</b>	0	0	0	0	<b>115</b>	101	99	60	56	<b>31</b>	0	0	0	0
14	<b>196</b>	43	0	83	0	<b>170</b>	207	109	134	61	<b>47</b>	7	0	0	0
21	<b>214</b>	51	11	149	0	<b>199</b>	232	138	221	87	<b>127</b>	62	18	36	0
28	<b>221</b>	62	22	159	33	<b>228</b>	297	181	279	178	<b>123</b>	76	40	43	0
35	<b>272</b>	91	65	163	80	<b>250</b>	308	188	297	225	<b>116</b>	94	65	51	7
42	<b>272</b>	91	80	149	87	<b>250</b>	315	185	304	225	<b>120</b>	91	54	54	7

**b**

Giorni	<i>Portulaca oleracea</i>						<i>Poa pratensis</i>						<i>Lamium purpureum</i>					
	<b>C</b>	T1	T2	T3	T4		<b>C</b>	T1	T2	T3	T4		<b>C</b>	T1	T2	T3	T4	
7	<b>131</b>	0	0	0	0	-80	16	2	0	-39	-43	-95	31	0	0	0	0	-38
14	<b>153</b>	0	-43	40	-43	-37	36	73	-25	0	-73	-60	47	7	0	0	0	-38
21	<b>163</b>	0	-40	98	-51	-29	0	33	-61	22	-112	5	91	26	-18	0	-36	-2
28	<b>159</b>	0	-40	97	-29	-18	0	69	-47	51	-50	34	80	33	-3	0	-43	5
35	<b>181</b>	0	-26	72	-11	11	0	58	-62	47	-25	56	51	29	0	-14	-58	27
42	<b>181</b>	0	-11	58	-4	11	0	65	-65	54	-25	56	66	37	0	0	-47	16
	161	0	-33	65	-20	<b>80</b>	0	62	-54	35	-47	<b>194</b>	59	28	0	0	-40	<b>38</b>

Per le specie più numerose l'analisi statistica delle plantule presenti nelle vaschette trattate con infuso di ruta ha fornito le seguenti indicazioni:

*Portulaca oleracea*

Nei terreni sottoposti ad un solo trattamento, l'emergenza delle plantule è stata ritardata di sette giorni, prescindendo dalla concentrazione dell'infuso, mentre la germinazione è stata inibita del 77 % e del 50 % con un solo trattamento al 10 % o al 20 %, rispettivamente.

Nel terreno sottoposto a due trattamenti con infuso di ruta al 10 %, l'emergenza delle plantule è stata ritardata di 14 giorni e l'inibizione della germinazione è risultata in media dell'88 %. Con due trattamenti con infuso al 20 %, invece, l'emergenza delle plantule ha subito un ritardo di 21 giorni e l'inibizione della germinazione è stata in media dell'87 %.

Tali dati evidenziano un maggiore effetto della ripetizione dei trattamenti, a distanza di una settimana, prescindendo dalla concentrazione dell'infuso di ruta.

*Lamium purpureum*

L'attività allelopatica della ruta sulla germinazione di *Lamium purpureum* è risultata proporzionale sia all'aumento della concentrazione dell'infuso che al numero dei trattamenti.

Nel terreno trattato un sola volta con infuso al 10 %, l'emergenza è stata ritardata di 7 giorni e l'inibizione della germinazione è risultata complessivamente del 53 %, mentre un solo trattamento con infuso al 20 % causa un ritardo di 14 giorni nell'emergenza delle plantule e una inibizione media della germinazione del 75 %.

Nel terreno sottoposto a due trattamenti con infuso al 10 % sono stati osservati un ritardo di 14 giorni nell'emergenza ed una inibizione media della germinazione del 73 %. Con infuso al 20 %, il ritardo nell'emergenza è stato di 28 giorni e l'inibizione della germinazione è risultata del 98 %.

*Poa pratensis*

L'influenza dell'infuso di ruta sulla germinazione della *Poa pratensis* è risultata differente rispetto a quella riscontrata sulle altre specie. E' stato infatti evidenziato un effetto stimo-

lante sul numero di piante nei terreni trattati una sola volta con infuso al 10 %. La ripetizione dei trattamenti ha determinato un effetto inibente, prescindendo dalle concentrazioni.

Nei terreni trattati una sola volta, l'incremento del numero delle plantule è risultato in media del 18 % con infuso al 10 % e praticamente nullo con infuso al 20 %; in quelli sottoposti a due trattamenti si sono invece riscontrate inibizioni medie della germinazione del 25 % e del 35 %, rispettivamente per i trattamenti con infuso al 10 % ed al 20 %.

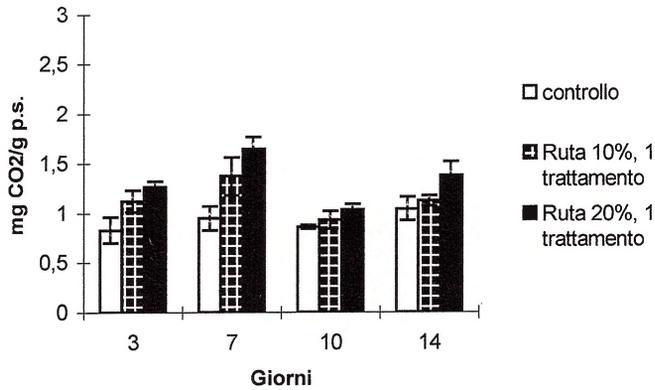
I dati ottenuti sono interessanti perché dimostrano il possibile controllo, mediante l'uso di un semplice infuso di ruta, di alcune specie infestanti, in particolare di *Portulaca oleracea*, la nona pianta più diffusa al mondo, considerata infestante di 45 colture in 81 paesi e resistente ai comuni erbicidi (HOLM et al., 1977). Inoltre, dal confronto delle attività dell'infuso di ruta sulla germinazione delle varie specie si conferma che le sostanze attive dell'infuso risultano stimolanti o inibenti a seconda della loro concentrazione e della specie-bersaglio (RICE, 1984).

#### *Influenza dell'infuso di ruta sulla respirazione e sullo sviluppo della biomassa microbica del suolo*

La Fig. 1 mostra che l'infuso di ruta stimola la respirazione del suolo, in modo proporzionale alla concentrazione ed al numero di trattamenti. In particolare, nei terreni trattati una sola volta con infusi al 10 o 20 % (Fig. 1a), nella prima settimana l'incremento della respirazione rispetto al controllo era del 34 e 52 %, rispettivamente, per poi diminuire nella seconda settimana fin quasi ai valori del controllo. La ripetizione del trattamento determinava nel terreno un nuovo incremento della respirazione sia rispetto al controllo che ai terreni trattati una sola volta (Fig. 1b).

In Fig. 2 sono riportati i valori della biomassa microbica nel tempo in presenza di uno o due trattamenti con infusi di ruta al 10 o 20 % o in assenza di qualsiasi trattamento. La biomassa microbica è più elevata nel suolo trattato con l'infuso di ruta. In particolare, a distanza di 3 giorni dal trattamento, l'incremento della biomassa è direttamente proporzionale alla concentrazione

a



b

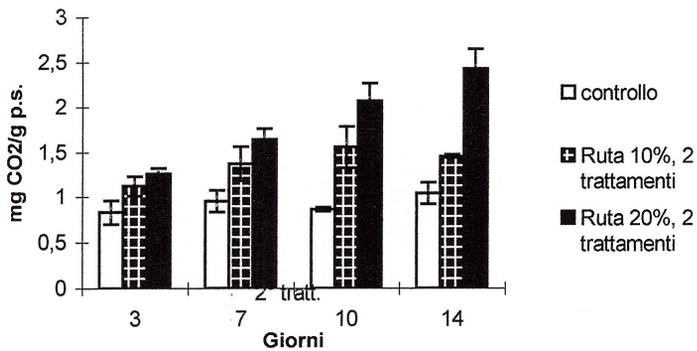
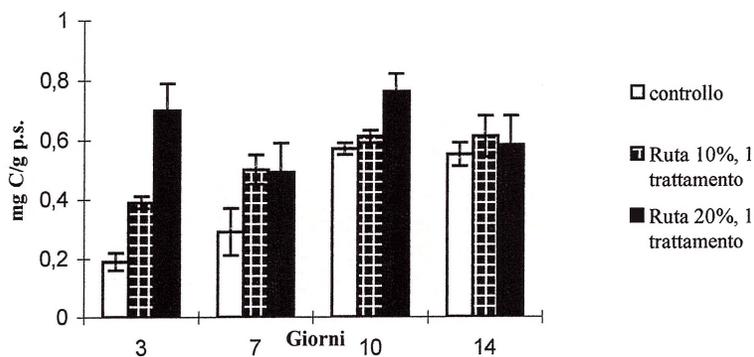


Fig. 1 - Valori della respirazione del suolo trattato una (a) o due volte (b) con infuso di ruta a differente concentrazione.

a



b

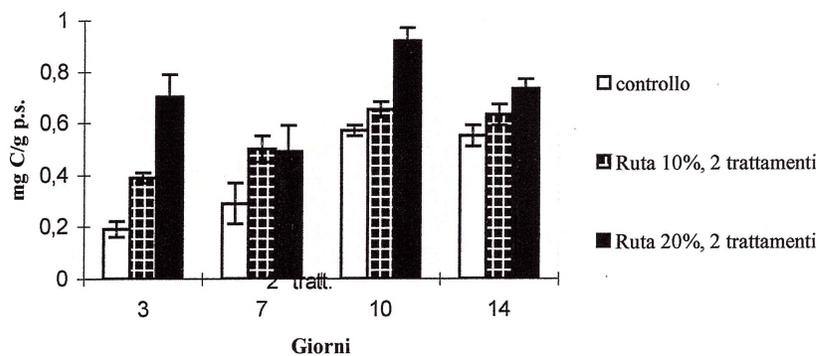


Fig. 2 - Valori della biomassa microbica in suolo trattato una (a) o due volte (b) con infuso di ruta a differente concentrazione.

dell'infuso: i valori rilevati sono infatti di circa 2 e 4 volte superiori al controllo nei terreni sottoposti ad un solo trattamento rispettivamente con infusi al 10 % ed al 20 %. Nei giorni successivi i valori tendono a stabilizzarsi con quelli del controllo. Il secondo trattamento con l'infuso al 10 % non determinava un incremento dei valori di biomassa microbica, sia rispetto al suolo sottoposto ad un solo trattamento, a parità di concentrazione, che rispetto al controllo. Invece, la ripetizione del trattamento con infuso al 20 % comportava un incremento di biomassa, rispetto ad un solo trattamento e a parità di concentrazione, del 21 % dopo 3 giorni e del 26 % dopo 7 giorni dal secondo trattamento.

I dati riportati indicano che l'infuso di ruta stimola l'attività respiratoria e lo sviluppo della biomassa microbica nella settimana successiva al trattamento. Tali risultati, seppure indirettamente, suggeriscono che il tempo di degradazione dell'infuso di ruta corrisponde a circa 10 giorni.

Sono in corso studi miranti ad accertare l'identità ed i processi di ritenzione e trasformazione nel suolo degli allelochimici presenti nell'infuso di ruta.

#### BIBLIOGRAFIA

- AIELLO R., ALIOTTA G., MOLINARO A., PINTO G. & POLLIO A. 1992. Anti-algal agents isolated from *Arum italicum*. *Planta Medica*, 58: 652.
- ALIOTTA G., DE NAPOLI L. & PICCIALI G. 1989. Inhibition of seedling growth by *Anagallis arvensis* extracts. *Giornale Botanico Italiano*, 123: 291-296.
- ALIOTTA G., MONACO P., PINTO G., POLLIO A. & PREVITERA L. 1991. Potential allelochemicals from *Pistia stratioides* L. *Journal of Chemical Ecology*, 17: 2223-2224.
- ALIOTTA G., MOLINARO A., MONACO P., PINTO G., POLLIO A. & PREVITERA L. 1992. Three biologically active phenylpropanoid glucosides from *Myriophyllum verticillatum*. *Phytochemistry*, 31: 109-111.

- ALIOTTA G., CAFIERO G., DE FEO V. & SACCHI R. 1994. Potential allelochemicals from *Ruta graveolens* L. and their actions on radish seeds. *Journal of Chemical Ecology*, 20 (11): 2761-2775.
- ALIOTTA G., MAGNIFICO V. & OLIVA A. 1996a. Le ricerche sull'allelotopia e lo sviluppo dell'agricoltura sostenibile. *Società Italiana di Ecologia - Atti*, 17: 867-870.
- ALIOTTA G., CAFIERO G., DE FEO V., PALUMBO A. D. & STRUMIA S. 1996b. Infusion of rue for control of purslane weed: biological and chemical aspects. *Allelopathy Journal*, 3(2): 207-216.
- CONTE G. B., BARCHIESI G. & RANUCCI G. 1981. *Plinio il Vecchio - Storia Naturale*. Einaudi, Torino.
- DUKE J. A. 1985. *Handbook of medicinal herbs*. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- FROMENT A. 1972. Soil respiration in a mixed oak forest. *Oikos*, 23: 273-277.
- HOLM G. L., PLUCKNETT D. L., PANCHO V. J. & HERBERGER J. P. 1977. *The world's worst weeds*. The University Press of Hawaii, Honolulu.
- JENKINSON D. S. & POWLSON D. S. 1976. The effects of biocidal treatment on metabolism in soil. A method for measuring soil biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, 8: 209-213.
- NARWAL S. S. 1994. *Allelopathy in crop production*. Scientific Publishers, Jodhpur, India.
- PENSO G. 1983. *Index plantarum medicinalium totius mundi eorumque synonymorum*. O.E.M.F., Milano.
- PIGNATTI S. 1982. *Flora d'Italia*. Edagricole, Bologna.
- REGANOLD J. P., PAPENDICK R. I. & PARR J. F. 1990. Un'agricoltura alternativa. *Le Scienze*, 264(8): 66-73.
- RICE, E. L. 1984. *Allelopathy*. (2nd ed.). Academic Press, New York.
- TUKEY J. 1977. *Exploratory data analysis*. Addison-Wesley, Reading, Massachusetts.
- ZOBEL A. M. & BROWN S. A. 1988. Determination of furanocoumarins on the leaf surface of *Ruta graveolens* with an improved extractions technique. *Journal of Natural Products*, 51(5): 941-946.

ZOBEL A. M. & BROWN S. A. 1995. Coumarins in the interactions between the plant and its environment. *Allelopathy Journal*, 2: 9-20.

Finito di stampare nel settembre 1997.