

1222·2022
800
ANNI



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA

Università degli Studi di Padova
Dipartimento di Agraria e Medicina Veterinaria

Corso di Laurea Scienze e Tecnologie Agrarie
Classe: L - 25

**Effetto deterrente sull'ovodeposizione di prodotti alternativi
agli insetticidi di sintesi nei confronti di *Bactrocera oleae*
(Rossi) (Diptera, Tephritidae)**

Relatore: Prof. Luca Mazzon

Correlatore: Dott. Corrado Perin

Laureando/a:

Alessandro Pistorio

Matricola: 1139037

ANNO ACCADEMICO 2021/22

Indice

Riassunto	3
Abstract	3
1 Introduzione	5
1.1 <i>Bactrocera oleae</i>	5
1.2 Ciclo biologico	6
1.3 Rilevanza economica del danno da <i>Bactrocera oleae</i>	7
1.4 Controllo di <i>Bactrocera oleae</i> in oliveto	7
1.5 Fenomeni di resistenza agli insetticidi	10
1.6 Nuove regole per l'uso dei prodotti chimici di sintesi	11
1.7 Prospettive future per il controllo	11
2 Scopo del lavoro	13
3 Materiali e metodi	13
3.1 Allevamenti	13
3.2 Scelta del materiale delle prove	14
3.3 Prodotti in esame.....	14
3.4 Choice test.....	16
3.5 Prova di ovodeterrenza (no-choice).....	17
3.6 Analisi statistica.....	17
4 Risultati	19
4.1 Prova di ovodeterrenza.....	19
4.2 Choice test	20
4.3 Acque reflue dei frantoi	22
5 Discussione	24
6 Bibliografia	26
7 Sitografia	30
8 Appendice	31

Riassunto

L'agricoltura si muove di giorno in giorno verso uno sviluppo ecologicamente più sostenibile e più sicuro nei confronti dell'ecosistema e dell'uomo: questo, applicato all'ambito dell'olivicoltura, significa far fronte alla necessità di integrare nuovi metodi nella lotta a *Bactrocera oleae*, l'insetto più dannoso per questa produzione.

Bac. oleae è un dittero tefritide polivoltino conosciuto per essere dannoso durante la sua attività riproduttiva nei confronti delle drupe di *Olea europea*; il contrasto a questo fitofago è sostenuto sia con pratiche agronomiche, con la lotta convenzionale o chimica e con la lotta integrata. Tuttavia, recentemente l'UE ha emesso delle direttive che proibiscono la vendita e l'impiego di tutti prodotti fitosanitari a base di dimetoato che rappresentava la sostanza attiva impiegata in olivicoltura in maggior volume per il controllo di *Bac. oleae*. Per inserire nuovi strumenti in difesa del settore oleario, a fronte della crescente limitazione dell'utilizzo dei prodotti chimici di sintesi, è necessario indagare l'efficacia e studiare se esistano prodotti già in commercio che abbiano come effetto secondario la protezione da *Bac. oleae*.

L'effetto deterrente sull'ovideposizione di dieci diversi prodotti è stato testato presentando all'insetto le olive in due differenti modi: i) con la scelta di ovodeposizione di un'oliva non trattata e di un'oliva trattata, o ii) esclusivamente con olive trattate. Alcuni dei prodotti testati (*Beauveria bassiana*, dodina, zeolite, dentamet, cabrio e aspor) hanno mostrato un effetto deterrente per l'ovodeposizione in almeno uno dei due saggi (ovideterrenza e choice test) aprendo quindi nuove porte alla strategia di controllo di *Bac. Oleae*.

Questi risultati sono quindi la prova che abbiamo la necessità di testare in campo l'efficacia di questi effetti secondari in modo da poter strutturare in modo innovativo ed efficace una lotta alla mosca dell'olivo che sia comprensiva di prodotti fitosanitari con un basso impatto ambientale, pratiche agronomiche che non favoriscano la proliferazione delle popolazioni presenti e l'impiego delle tecniche promosse dalla difesa integrata come l'impiego di trappole a feromoni, monitoraggi costanti abbinati a programmi previsionali e l'inserimento e la tutela di popolazioni di insetti utili.

Abstract

The evolution of agriculture moves day by day towards a more ecologically sustainable and safer development for use by man, this applied to the field of olive growing means facing the need to integrate new methods into the fight against *Bactrocera oleae*, the main antagonist of the olive grower. *Bac. oleae* is a polyvoltine tephitidae known to be harmful during its reproductive activity towards the *Olea europea* drupes; the contrast to this pest is

supported both with agronomic practices, with conventional or chemical pest control and with integrated pest management. However, recently the EU has issued directives prohibiting the sale and use of all the pests based on dimethoate which is the active substance used in olive industry in greater volume for the control of *Bac. oleae*.

However, to insert new tools in the defense of the oil sector it is necessary to investigate their effectiveness of some products already used and study if there are possible side effects that can influence *Bac. oleae*.

Oviposition deterrent effect of ten different products were tested by presenting the insect i) with oviposition choice of a no treated olive and a treated olive, or ii) exclusively with treated olives. Most of the tested products (*Beauveria bassiana*, dodine, zeolite, dentamet, cabrio, and aspor) showed an oviposition deterrent effect in at least one of the two assays (choice and no-choice tests). These results are therefore proof that we need to test the effectiveness of these secondary effects in the field in order to be able to structure in an innovative and effective way a fight against the olive fly. We must include pests with a low environmental impact, agronomic practices that do not favor the proliferation of populations present and the use of techniques promoted by integrated pest management such as the use of pheromone traps, constant monitoring combined with forecasting programs and the insertion and protection of useful insect populations.

1 Introduzione

1.1 *Bactrocera oleae*

Classe: *Insecta*

Ordine: *Diptera*

Famiglia: *Tephritidae*

Genere: *Bactrocera*

Specie: *Bactrocera oleae* (Rossi, 1790)

La mosca dell'olivo o *Bactrocera oleae* (Rossi, 1790) conosciuta in passato anche come *Dacus oleae*, è considerata l'insetto chiave nel controllo dei fitofagi responsabili di danni alla filiera olivicola in tutto il bacino del Mediterraneo e nei territori del nord-America e del sud-Africa (Daane and Johnson, 2010). Si tratta di una specie polivoltina appartenente alla famiglia dei Tephritidae e caratterizzata dalla seguente morfologia: l'esemplare adulto è una mosca di piccole dimensioni (4-5 mm) e di color arancio-marrone; il capo presenta due corte antenne e i tipici occhi composti "dei ditteri" di colore verde-ciano iridescente; sul torso spiccano le ali caratteristiche dei tefritidi: le "ialine", che in questa specie presentano una macchia scura sull'estremità più esterna a livello della terza vena longitudinale; il mesonoto è scuro segnato da tre linee nere longitudinali; l'addome si distingue per il colore rossiccio e per le chiazze scure laterali. I due sessi sono ben distinguibili per la differente costruzione dell'ultimo segmento addominale: nelle femmine questo è trasformato in ovopositore. Un esempio di femmina adulta è rappresentato in Figura 1.1.



Figura 1.1- Femmina di *B. oleae*

Bactrocera oleae è un dittero olometabolo monofago (*Olea europea* spp.) che dopo la schiusura dell'uovo trascorre la fase larvale all'interno dell'oliva dove è stato deposto fino al

raggiungimento del III^a stadio larvale dopo il quale si impupa fino allo sfarfallamento dell'adulto (Marchini et al., 2017; Gregoriou et al., 2021). I danni provocati dalla mosca dell'olivo sono causati dall'attività riproduttiva e dalle prime fasi di sviluppo. Figura 1.2.



Figura 2.2 – Danni su oliva da larva di *B. oleae*.

1.2 Ciclo biologico

Gli adulti si nutrono di sostanze zuccherine come le melate di insetti appartenenti alla famiglia degli omotteri e il nettare di fiori; utilizzano anche succhi di frutti maturi, come ad esempio i fichi. Se l'adulto trova la possibilità di nutrirsi vive fino a nove mesi. Gli adulti sfarfallati in autunno, possono trascorrere l'inverno anche lontano dall'oliveto attendendo anche oltre il mese di luglio le nuove olive adatte per l'ovideposizione. Gli adulti volano solo di giorno e in assenza di vento, con temperature oltre i 14-15°C; sono lenti volatori in oliveti con drupe disponibili, ma si spostano abbastanza velocemente se sono alla ricerca di olive recettive (con nocciolo lignificato). Nelle femmine la maturazione delle uova viene accelerata dalla presenza delle olive in via d'ingrossamento e rallentata dalle alte temperature. La mosca dell'olivo compie intorno alle 6 generazioni all'anno, le prime due, in condizioni di clima mite, tra marzo e giugno, tra luglio e agosto si sviluppa la prima generazione estiva dannosa; nel periodo successivo ad agosto fino al calare delle temperature ottimali, si possono registrare 2 o 3 generazioni, tuttavia, data la grande variabilità nella dinamica delle popolazioni dalla fine della primavera alla fine dell'autunno, è fondamentale il monitoraggio per evitare di incorrere in pullulazioni pericolose per il raccolto. In condizioni ottimali l'ovideposizione comincia a 7-9 giorni dallo sfarfallamento e nei giorni immediatamente successivi al raggiungimento della maturità sessuale è caratterizzata da punture sterili. Sulle olive verdi il punto perforato dall'ovopositore appare in forma di macchia triangolare brunastra lunga 1-1,5 mm. La femmina, guidata da stimoli visivi e chimici, predilige per l'ovideposizione le olive

più grosse, ma ancora verdi. Ogni femmina depone in totale 200-300 uova con il massimo dell'attività a temperature comprese tra i 20 e 27° C, in presenza di elevata umidità relativa (80-90%) e di drupe recettive. La durata dell'incubazione delle uova è variabile e dura da 2 giorni (a 28-30°C) fino a quasi tre settimane nella stagione fredda. Dopo la schiusura dell'uovo la larva inizia a scavare una galleria attraverso la polpa dell'oliva, qui in condizioni ottimali completa la sua crescita in 10-12 giorni mentre durante i mesi invernali può impiegare fino a 5 mesi, terminata la crescita la larva può impuparsi all'interno dell'oliva o più spesso cerca di uscire dall'oliva lasciandosi cadere e impupandosi a breve profondità. Lo stadio di pupa invece dura pochi giorni durante l'estate e diversi mesi durante l'inverno.(Giacalone, 2011)

1.3 Rilevanza economica del danno da *Bactrocera oleae*

Si può affermare che attraverso il fenomeno del riscaldamento globale è possibile che l'areale di influenza di questo insetto vada espandendosi diventando ancora più dannoso in zone dove risulta essere un fitofago secondario o addirittura sconosciuto(Giacalone, 2011) .

La larva, dopo la schiusura dell'uovo, opera un'importante attività carpofaga a carico dell'endocarpo, provocando marciumi, cascola o gravi alterazioni biochimiche a spese delle drupe di tutte le sottospecie di *Olea europea*. Inoltre, parte del danno è attribuibile alla semplice puntura di ovoposizione della mosca che favorisce l'inoculo e sviluppo di patologie fungine o marciumi. Molti studi riguardanti *B. oleae* riportano come l'incidenza di danno sia influenzata dalla presenza di alcune sostanze sulla superficie delle foglie e dei frutti di *O. europea* che differisce tra cultivar e le rende più o meno sensibili all'attacco (Jaleel et al., 2019; Kombargi et al., 1998; R. Malheiro et al., 2015, 2019; Ricardo Malheiro et al., 2015; M.L. Scarpati et al., 1993; Maria Luisa Scarpati et al., 1993; Vitanović et al., 2020).

1.4 Controllo di *Bactrocera oleae* in oliveto

Storicamente, *B. oleae* è riconosciuta come una specie chiave nella difesa della produzione olivicola e di nell'industria olearia: se le prime legislazioni atte a ridurre i danni sono attribuibili al periodo napoleonico, i primi lavori sull'etologia dell'insetto risalgono alla fine del XIX secolo per mano di A. Berlese. Nello stesso periodo Comes (1885) lavorò con esche avvelenate contro gli adulti di *B. oleae* a base di arsenito potassico che non portarono a

particolari successi. La ricerca di metodologie di controllo proseguì senza significativi risultati fino alla fine del secondo conflitto mondiale dopo il quale si iniziarono a utilizzare insetticidi clorurati di sintesi tra cui il noto DDT dal 1946. Già nel 1950, tuttavia, si iniziarono a cercare soluzioni alternative al DDT a causa degli elevati residui presenti nelle olive e ai problemi di bioaccumulo di cui si stava scoprendo la pericolosità; con l'eliminazione di questa sostanza attiva, fecero la loro comparsa nella lotta contro *B. oleae* gli esteri fosforici come il Parathaion® e il Rogor®, assai efficaci anche a dosaggi molto inferiori del precedente DDT. In generale, i metodi di controllo dell'infestazione di *B. oleae* sono numerosi e caratterizzati da diversi approcci: esistono metodi di controllo agronomico, chimici o di lotta biologica. Le tecniche agronomiche sono l'insieme di pratiche volte a ridurre la necessità di interventi chimici per sfavorire la proliferazione di *B. oleae*; il controllo chimico si avvale dell'impiego di prodotti fitosanitari per debellare questo fitofago quando diventa economicamente dannoso; la lotta biologica comprende l'insieme di metodi di monitoraggio e di controllo della popolazione mediante cattura massale con l'impiego di trappole a feromoni o esche alimentari, applicazione di funghi entomopatogeni, altri prodotti non di sintesi ma con effetto adulticida o repellente e l'utilizzo di insetti utili. La soglia di danno che giustifica l'intervento fitosanitario per prevenire i danni economici si aggirava sul 5 – 10% di drupe con punture fertili (uova o larve) su un campione di 100 drupe/ha prelevando 1-2 drupe per pianta (Linee tecniche difesa integrata, 2021).

È opportuno vedere in dettaglio ciascuno di questi metodi:

- Tecniche agronomiche a supporto: tra tali tecniche troviamo la raccolta totale delle olive in modo da ridurre la possibilità che la popolazione svernante si riproduca sulle drupe cascolate; altra tecnica riconosciuta come efficace è l'inerbimento dell'apezzamento, il quale permette agli insetti utili di potersi stabilire nell'areale interessato da *B. oleae*: quest'ultima tecnica va tuttavia accompagnata da una particolare attenzione ai trattamenti fitosanitari per il rischio di andare a colpire anche gli insetti utili. (Daane and Johnson, 2010; Russo, 1959).
- Lotta chimica o convenzionale: fin dall'avvento dei prodotti fitosanitari appartenenti alle famiglie dei cloroderivati, dei fosfororganici e dei neonicotinoidi, la lotta chimica ha senza dubbio rappresentato il più comune ed efficace metodo di controllo dal dopoguerra in poi. Negli ultimi anni tale approccio è andato ridimensionandosi a causa dell'impatto ambientale e sulla salute dell'uomo anche in relazione alle disposizioni in materia di biocidi da parte della C.E. Questo tipo di lotta prevedeva e prevede tutt'ora l'irrorazione completa della chioma

con prodotti ad effetto larvicida o adulticida, eseguita più volte nel corso della stagione vegetativa dalla formazione della drupa a prima della raccolta delle olive.

- Lotta biologica: Laddove venga praticata l'olivicoltura in biologico le linee tecniche per la difesa integrata della regione Veneto approvano l'impiego di esche a base di Spinosad (Kampouraki et al., 2018) e l'utilizzo del fungo entomopatogeno *Beauveria Bassiana* (Falchi et al., 2015).
- Cattura massale: rappresenta una recente soluzione che sfrutta la tecnica dell' "attract and kill" in cui le trappole sono dotate di sistemi attrattivi (cromotropici, chimici o feromonici) allo scopo di attrarre e intrappolare il maggior numero possibile di individui, portandoli a morte. (Fig. 1.3)
- Trappole a feromoni: i feromoni sono molecole sessuali emesse dagli insetti allo scopo di attrarre individui del sesso opposto per compiere la riproduzione; tali molecole sono sintetizzate in laboratorio e ampiamente utilizzate per il monitoraggio e il controllo delle popolazioni nocive di insetti (Diab et al., 2021; Phillips et al., 2021; Puig-Montserrat et al., 2021; Radonjić et al., 2019). Nel caso di *B. oleae* possono essere utilizzati per il monitoraggio accompagnati da trappole cromotropiche o, alternativamente, per la confusione sessuale e per la cattura massale. (Fig. 1.4)
- Insetti utili: le linee tecniche per la difesa integrata della regione Veneto del 2021 propongono di utilizzare per il controllo con l'utilizzo di insetti utili, lanci di *Opius concolor* (Szépligeti, 1910) un imenottero parassitoide appartenente alla famiglia dei braconidi. Tuttavia sono allo studio le interazioni tra altre popolazioni di parassitoidi extra europei e *B. oleae* per incrementare l'utilizzo di questo metodo (Wang et al., 2021) (Daane and Johnson, 2010).



Figura 3 - Trappola insetticida di tipo "attract and kill"



Figura 4 - Trappola a feromoni per il monitoraggio.

1.5 Fenomeni di resistenza agli insetticidi

Recenti ricerche riguardanti la resistenza di *B. oleae* agli insetticidi evidenziano come alcune popolazioni stiano velocemente sviluppando una resistenza ai prodotti fitosanitari appartenenti alla famiglia degli organofosfati. Si dovrà pertanto imparare a impiegare diverse metodologie di controllo delle popolazioni in modo da limitare la possibilità che queste resistenze si accentuino e si estendano ad altre famiglie di prodotti fitosanitari (Kampouraki et al., 2018).

1.6 Nuove regole per l'uso dei prodotti chimici di sintesi

- Revoca del Dimetoato (organofosforico)

Il Dimetoato o Rogor ha per lungo tempo ricoperto il ruolo di miglior biocida contro *B. oleae*, essendo un prodotto fitosanitario citotropico neurotossico che inibisce l'acetilcolinesterasi risultando efficace contro gli insetti carposfagi. Tuttavia, questo prodotto dopo un periodo di proroga dalla revoca è stato ufficialmente messo al bando in conformità al regolamento (CE) n. 1107/2009 del Parlamento europeo data la sua tossicità.

Infatti, si legge sul sito ufficiale del ministero della salute italiano:

“La Direzione Generale per l'Igiene e la Sicurezza degli Alimenti e della Nutrizione ha emesso il comunicato del 24 luglio 2019 di revoca delle autorizzazioni dei prodotti fitosanitari contenenti la sostanza attiva dimetoato, per mancato rinnovo dell'approvazione di quest'ultima ai sensi del regolamento di esecuzione (UE) 2019/1090.”

- Direttiva per la riduzione dei prodotti fitosanitari

Con la direttiva 2009/128/CE viene istituito un quadro d'azione comunitario per l'impiego sostenibile dei prodotti fitosanitari. Tale direttiva europea ha quindi posto le basi per un ampio lavoro a livello comunitario e nazionale volto a uniformare i regolamenti sulla base di criteri di tutela della salute umana e dell'ambiente. A livello nazionale questa dà forma al PAN (Piano di Azione Nazionale). È inoltre importante sottolineare come la Dir. 128/2009/CE abbia introdotto dei nuovi parametri di valutazione dei prodotti fitosanitari ponendo uomo e ambiente come entità strettamente legate tra loro esposte al rischio di uno sconsiderato uso di prodotti fitosanitari. La direttiva è quindi promotrice di un approccio non più unicamente di lotta chimica ma piuttosto di un programma di lotta che armonizzi l'impiego di biocidi di sintesi con le buone pratiche agronomiche di monitoraggio delle popolazioni e l'impiego di mezzi biologici: tale approccio prende il nome di “Difesa Integrata”.

1.7 Prospettive future per il controllo

Le tecniche di controllo della mosca dell'olivo stanno procedendo verso un approccio che si allontana dal solo utilizzo di pesticidi di origine chimica, dirigendosi verso un controllo dominato da tecniche agronomiche (raccolta anticipata, rimozione delle drupe cascolate) e

di lotta biologica tutelando le popolazioni di predatori e parassitoidi e l'impiegando prodotti fitosanitari più selettivi e meno dannosi per l'ambiente, uomo compreso.

Inoltre, è importante notare come nel prossimo futuro sarà necessario investire su modelli previsionali capaci di aiutare i tecnici agronomici a mantenere sotto controllo le popolazioni prevedendo in modo tempestivo ed efficace interventi fitosanitari d'emergenza o organizzando gli interventi agronomici in tempi utili a tenere il danno al di sotto della soglia economica.

Tuttavia, alcune tecniche di controllo sono ancora in corso di sviluppo o di ricerca; un concreto esempio sono le sperimentazioni volte a inibire l'ovodeposizione riducendo i danni diretti e i volumi di popolazione. Un altro metodo promettente riguarda la possibilità di operare il controllo interrompendo le simbiosi che intercorrono tra alcune specie di esapodi e alcuni ceppi batterici endofiti (Jose et al., 2019)(Koskinioti et al., 2020; NEUENSCHWANDER, 1985; Nobre, 2021; Ras et al., 2017). Alcuni successi in questo ambito si stanno riscontrando nell'interruzione delle simbiosi di alcuni pentatomidi (*Nezara viridula* e *Halyomorpha halys*) col loro simbiote *Candidatus Pantoea carbekii* mediante l'impiego di Dentamet. Allo stesso modo per *B. oleae* si sta studiando se sia possibile interrompere la simbiosi con *Candidatus Erwinia dacicola* indispensabile per la mosca dell'olivo nella fase di sviluppo larvale. Altre frontiere future riguardano l'ambito della genetica dove si potrebbe lavorare in molteplici modi (Tsoumani et al., 2020): agendo direttamente sul fitofago attraverso l'editing genetico in modo da indurre maschiosterilità o un gene di mortalità "programmata"; selezionando o sintetizzando delle cultivar di olivo resistenti a *Bactrocera Oleae* (Bononi & Tateo, 2017) similamente a come si è fatto con *Zea mays* (Mais Bt) per prevenire le dannose infestazioni dovute ad *Ostrinia Nubilalis*.

2 Scopo del lavoro

La mosca delle olive è causa di notevoli perdite economiche alla coltivazione dell'olivo per il Veneto e l'intero bacino del Mediterraneo. Attualmente, la lotta chimica convenzionale con insetticidi a largo spettro, rappresenta la tecnica di controllo più usata.

Ci sono però due grossi ostacoli all'impiego di mezzi chimici:

- La polinica comunitaria che è indirizzata alla continua contrazione di molecole chimiche impiegabili (es. la recente revoca all'impiego del dimetoato che rappresentava il tradizionale insetticida con cui si controllava la mosca negli oliveti).

- Gli effetti collaterali dei prodotti chimici sull'ambiente e i residui sui prodotti.

Il presente lavoro punta all'individuazione di strategie di difesa dell'oliveto alternative ai mezzi convenzionali, basate sull'ovodeterrenza.

Lo scopo di questo lavoro di ricerca è stato di verificare l'effetto ovodeterrente e ovorepellente nei confronti di *B. oleae* di alcuni prodotti già in commercio e registrati in olivicoltura ma con diverso target d'azione (es. fungicidi, biostimolanti, ecc.) al fine di attuare un più efficace controllo della mosca e sopperire alla revoca definitiva del Dimetoato (Rogor).

Le mosche utilizzate per questa ricerca sono state sottoposte a due tipi di test: nel primo potevano scegliere se deporre le uova in un'oliva trattata o non trattata (*choice*); nel secondo invece le mosche erano esposte a un numero determinato di sole olive trattate (*no-choice*).

3 Materiali e metodi

3.1 Allevamenti

Gli esemplari utilizzati per le sperimentazioni provengono da una serie di allevamenti ottenuti in laboratorio in fitotroni impostati con una routine di luminosità simile alle giornate estive, con il mantenimento di una temperatura di 23°C e una umidità relativa del 65%. Le popolazioni utilizzate sono state allevate in gabbiette 30x30x30 cm con a disposizione acqua (rinnovata ogni 5-7 giorni) e zucchero misto a estratto di lievito (4:1) come fonte alimentare. Le mosche adulte sono state allevate in un fitotrone a 16:8 (L:D) di fotoperiodo. A partire da una popolazione iniziale ne sono state allevate di successive in modo da poter avere sempre a disposizione delle popolazioni fertili per gli esperimenti.

3.2 Scelta del materiale delle prove

Le olive utilizzate per la fase di sperimentazione sono state raccolte in oliveti non precedentemente trattati e sono state utilizzate olive nere in diverse fasi di maturazione e in buono stato di conservazione, esenti da evidenti e importanti danni all'epicarpo e possibilmente turgide in modo da risultare più appetibili per l'ovideposizione.

Per la sperimentazione sono state impiegate esclusivamente esemplari di sesso femminile di almeno due settimane dall'uscita dallo stadio pupale e gravide.

3.3 Prodotti testati

La preparazione dei prodotti è stata svolta mediante l'utilizzo di pipettatrici automatiche in modo da poter diminuire gli eventuali errori umani, ogni prodotto è stato disciolto in un volume di acqua di 200ml utilizzando i dosaggi riportati in Tabella 3.1.

Tabella 3.1 – Sostanze utilizzate per le prove sperimentali

Sostanza attiva	Nome commerciale e uso	Dose: g o mL/hL	Unità di misura
Propoli	Propolis (Serbios) - biostimolante	300	ml
Elicitore	Distillato di Legno - biostimolante	200	ml
Acque di vegetazione	ADV AIPO (2020)	1.000	ml
Ossicloruro di rame	Neoram WG - fungicida	300	g
Dodina	Syllit 544 SC - fungicida	165	ml
Zeolite	olite Cubana - biostimolante	400	g
Beauveria bassiana	laturalis - entomopatogeno	200	ml
Zn + Cu	Dentamet - biostimolante	547	ml
Pyraclostrobin	Cabrio - fungicida	50	g
Difenoconazolo	Score - fungicida	50	ml

Mancozeb	Aspor - fungicida	320	g
Controllo	Acqua distillata		

Sostanze attive:

- Propoli: è un prodotto dell'industria apistica derivante da diverse sostanze resinose presenti in numerose piante, grazie alla sua composizione ricca in sostanze fenoliche; è conosciuta per l'azione fitostimolante delle gemme e dei frutticini ma anche per la sua sinergia con alcuni prodotti fitosanitari. È quindi registrata come una sostanza corroborante.
- Elicitore o distillato di legno: ottenuto mediante pirogassificazione di biomasse legnose, il distillato di legno, di cui l'elicitore è la sostanza attiva, è considerato un corroborante registrato per l'agricoltura biologica con azione potenziante delle capacità difensive delle piante.
- Acque di vegetazione: sono una delle frazioni derivanti dai reflui prodotti dall'industria molitoria dell'oliva (Marco, 2009). La frazione considerata risulta ricca in composti fenolici: tra questi l'oleuropeina è ritenuta la principale responsabile nella deterrenza dall'ovideposizione. Le acque reflue del frantoio sono state testate a diverse diluizioni in base alle concentrazioni finali di oleuropeina (1, 3.4, 5, 10 ppm). Il contenuto di oleuropeina è stato precedentemente quantificato da Vassanelli Lab s.r.l. attraverso l'analisi UPLC (*Olea Europaea* VOLATILES ATTRACTIVE AND REPELLENT TO THE OLIVE FRUIT FLY (*Dacus Oleae*, *Gmelin*), n.d.; *Trattamento Reflui Oleari (1)*, n.d.).
- Ossicloruro di rame: sostanza anticrittogamica, in attesa di rinnovo o revoca è largamente impiegata come fungicida e nella prevenzione di alcune batteriosi. È possibile utilizzarlo sia in agricoltura convenzionale che in biologico (Caleca et al., 2010; González-Núñez et al., 2021) (Prophetou-Athanasiadou et al., 1991).
- Dodina: registrato come fungicida citotropico utilizzato in ulivicoltura contro occhio di pavone e lebbra dell'olivo, è autorizzato in agricoltura convenzionale.
- Zeolite: registrato come corroborante composto da polvere di roccia, ha la funzione di implementare e potenziare le difese delle piante trattate, (Caleca et al., 2010; González-Núñez et al., 2021).

- *Beauveria Bassiana*: già registrata in biologico nel controllo della mosca dell'olivo, è un fungo entomopatogeno largamente impiegato nel controllo biologico di molti insetti dannosi (Falchi et al., 2015; Kampouraki et al., 2018).
- Zn+Cu: registrato a nome di Dentamet, è una miscela fertilizzante a base di rame e zinco in forma di idracido di acido citrico che ha lo scopo di andare a colmare rapidamente carenze di rame e zinco supportando il superamento di patologie fungine da parte della pianta; autorizzato in agricoltura biologica è applicabile a numerose culture.
- Mancozeb: registrato a nome di Aspor è un anticrittogamico utilizzato contro la lebbra dell'olivo, qui testato per le proprietà antimicrobiche possibilmente sfruttabili nell'interruzione della simbiosi di *Bac. Oleae* e *Candidatus Erwinia dacicola* nonostante sia stato revocato dal 01/02/21 ma sia stato utilizzabile fino al 04/01/2022.
- Difenocolazolo: registrato come "Score" è un fungicida sistemico impiegato in molte colture e registrato contro l'occhio del pavone in olivo.
- Pyraclostrobin: registrato come "Cabrio" è un anticrittogamico impiegato nella difesa preventiva da diverse malattie fungine su melo e pomodoro.

3.4 Choice test

è stato effettuato utilizzando gabbiette piccole (0,5L) al cui interno erano poste due olive (trattata e controllo) e un esemplare femmina. Ogni replica condotta ha richiesto 4 ore circa dopo l'inserimento delle olive all'interno delle gabbiette. Né acqua né cibo sono stati lasciati disponibili durante i test poiché durava poche ore. Ogni gabbia rappresentava una replica. Lo studio è stato ripetuto almeno 30 volte per ogni composto. Al termine di ogni prova i segni di ovodeposizione (fori con uova e fori senza uova) sono stati contati con l'aiuto di un microscopio ottico al fine di valutare l'effetto deterrente dei prodotti testati. Il set di dati finale riportava il numero di uova e le punture totali (cioè fori sterili + fori con uova) di ogni replica. (Fig 5)



Figura 5 - Esempio di gabbietta usata per il choice test. Ogni replicazione conteneva due olive (una trattata e una non trattata) e una mosca femmina gravida.

3.5 Prova di ovodeterrenza (no-choice)

Nove femmine gravide di *B. oleae* e due maschi della stessa età sono stati esposti a 20 olive per 24 ore in una scatola di plastica da 2l. Le olive sono state o spruzzate con uno dei composti o non trattate (controllo). L'acqua era costantemente disponibile attraverso una provetta da 2 ml riempita con cotone idrofilo e acqua del rubinetto, mentre il cibo veniva fornito attraverso una goccia di soluzione di zucchero saturo sulla parte superiore di ogni gabbia. Ogni scatola ha rappresentato una replica. (Fig 6)

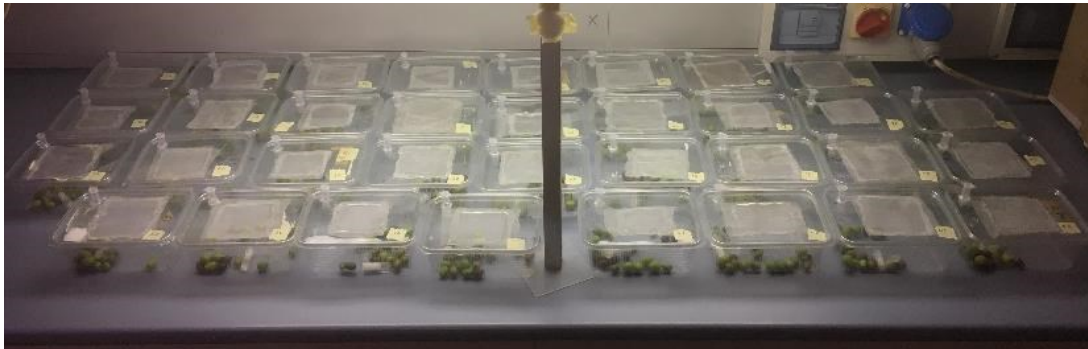


Figura 6 - Prova di ovodeterrenza in corso. Ogni scatoletta conteneva 9 femmine, 2 maschi e 20 olive trattate

3.6 Analisi statistica

Per l'analisi statistica, è stato utilizzato il software R in RStudio.

Per entrambi gli esperimenti, i dati non erano normalmente distribuiti (test shapiro-Wilk, $P < 0.05$), quindi sono stati utilizzati test non parametrici per valutare le differenze tra trattamenti. Per la prova di ovodeterrenza (no-choice), l'elaborazione statistica si basa sul

confronto dei vari trattamenti in rapporto al controllo utilizzando il modello statistico "Generalized linear model Negative Binomial". I dati sono stati analizzati utilizzando la regressione binomiale negativa (pacchetto MASS) con la funzione:

```
glm.nb(y ~ x)
```

Per il choice test, i dati sono stati analizzati utilizzando il test non parametrico di Wilcoxon. Il test permette di prendere come riferimento la mediana dei valori e dimostrare che la scelta delle mosche non era indipendente tra le due olive disponibili. La funzione utilizzata per il test è:

```
Wilcox.test(x, y, paired = TRUE).
```

La significatività statistica è stata determinata quando il confronto con il controllo riportava $P < 0,05$.

4 Risultati

4.1 Prova di ovodeterrenza

Nella prima prova è stato valutato l'effetto ovodeterrente di diversi prodotti nei confronti di mosche femmine gravide esposte a sole olive trattate (no-choice): le mosche avevano a disposizione 20 olive trattate (spray) per 24 ore e dopo questo lasso di tempo si è proceduto alla conta delle uova e delle punture sterili. La prova è stata ripetuta per ogni prodotto e per il controllo almeno 4 volte. Di tutti i composti che abbiamo testato, l'azione deterrente all'ovideposizione è stata significativamente osservata per i trattamenti a base di *B. bassiana* ($P = 0,0299$), Dodina ($P = 0,0209$), Zeolite ($P = 0,0353$), Dentamet ($P = 0,0000334$), Aspor ($P = 0,000000232$) e Cabrio ($P = 0,00000287$). Invece, gli altri trattamenti a base di Rame ($P = 0,9004$), Distillato di legno (DDL) ($P = 0,3749$), Propoli ($P = 0,521$) e Score ($P = 0,199$) non hanno comportato una riduzione significativa del numero di uova e punture totali (punture sterili + fori con uova) rispetto al controllo. Il numero totale di punture non viene riportato a causa dell'irrelevante numero di fori sterili individuati e della conseguente somiglianza dei grafici. I due grafici (fig.6 e fig.7) si riferiscono a due esperimenti distinti, eseguiti con le stesse modalità ma utilizzando prodotti diversi. (Appendice, Tabella 1 e 2)

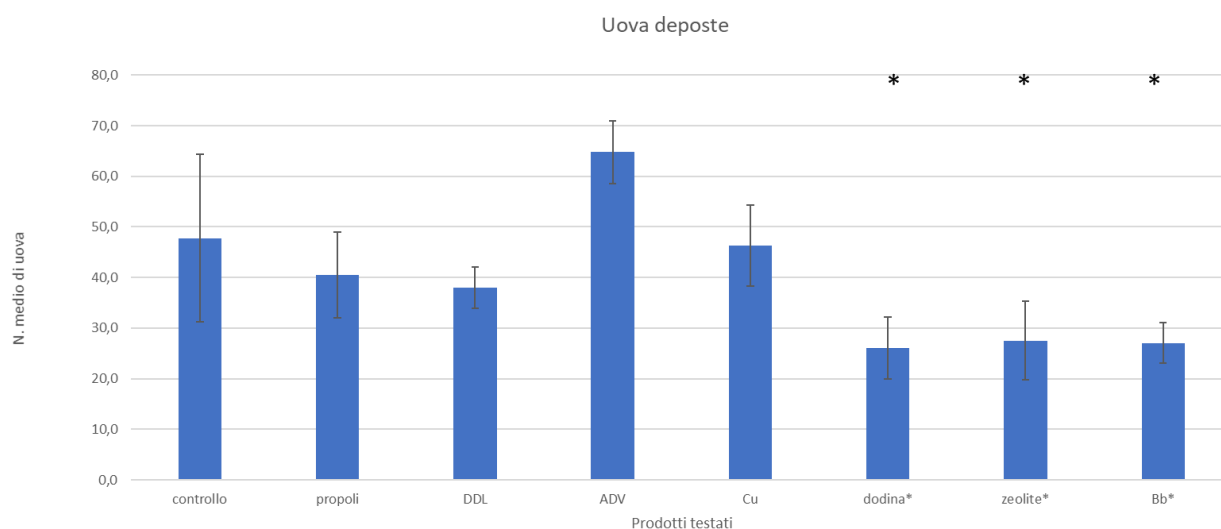


Figura 7 – Risultati del primo esperimento di ovodeterrenza: è stato valutato l'effetto ovodeterrente di dodina ($n=26$), zeolite ($n=27,5$) e *Beauveria Bassiana* ($n=27$). Sono riportati valore medio delle repliche ed errore standard. Gli asterischi indicano la significatività statistica della differenza del trattamento nei confronti del controllo ($P < 0,05$).

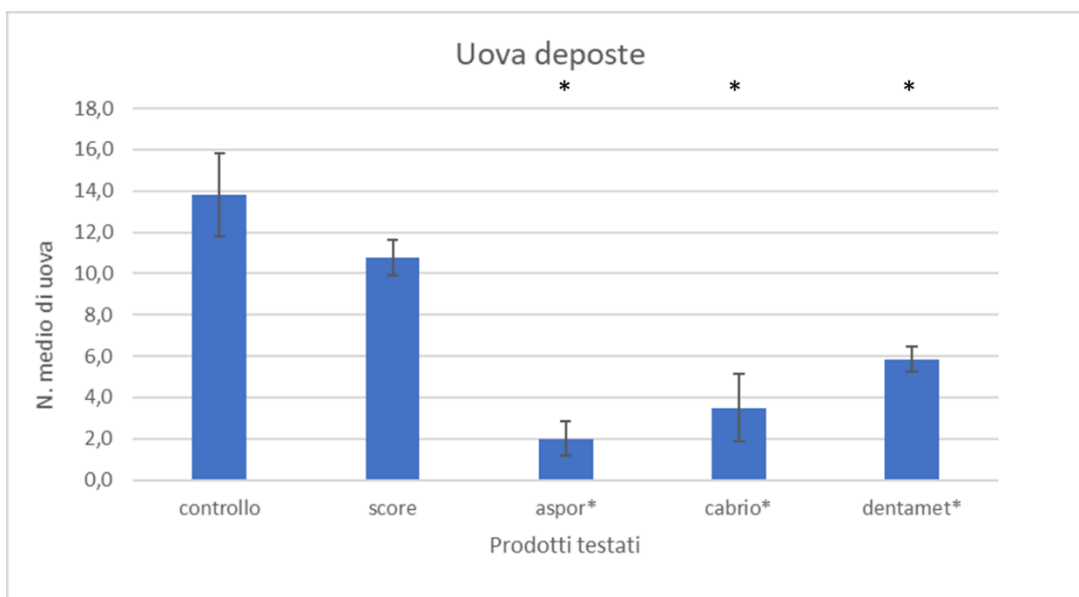


Figura 8 - Risultati del secondo esperimento di ovodeterrenza: è stato valutato l'effetto ovodeterrente di aspor (n=2), cabrio (n=3,5) e dentamet (n=5,8). Sono riportati valore medio delle repliche ed errore standard. Gli asterischi indicano la significatività statistica della differenza del trattamento nei confronti del controllo (P<0.05).

4.2 Choice test

Nel secondo test è stato svolto valutato l'effetto ovodeterrente dei prodotti in esame ponendo le mosche gravide di fronte alla possibilità di deporre l'uovo su un'oliva trattata o non trattata (chioce). Le mosche sono state lasciate per 4 ore in alcune piccole scatole al cui interno venivano poste due olive: una trattata e il controllo. Successivamente la mosca veniva riposta nella gabbia di allevamento e prestando attenzione a distinguere l'oliva trattata dal controllo, sono state analizzate al fine di individuare il numero di uova e punture sterili presente su ogni coppia. In questo test, la maggior parte dei prodotti è sembrata influenzare il comportamento della mosca in termini di preferenza di ovodeposizione. Questo risultato è stato osservato per i trattamenti con *B. bassiana* (P= 0,02316), dodina (P= 0,03301), zeolite (P= 0,01466; P= 0,00911), dentamet (P= 0,01503), cabrio (P= 0,04371) e aspor (P= 0,004157). I prodotti che sembra non abbiano influenzato statisticamente la preferenza di

ovodeposizione sono stati DDL (P= 0,7768), Score (P= 0,4911), Propoli (P= 0,227) e Rame (P= 0,3311). (Figura 9, Figura 10) (Appendice, Tabelle 3)

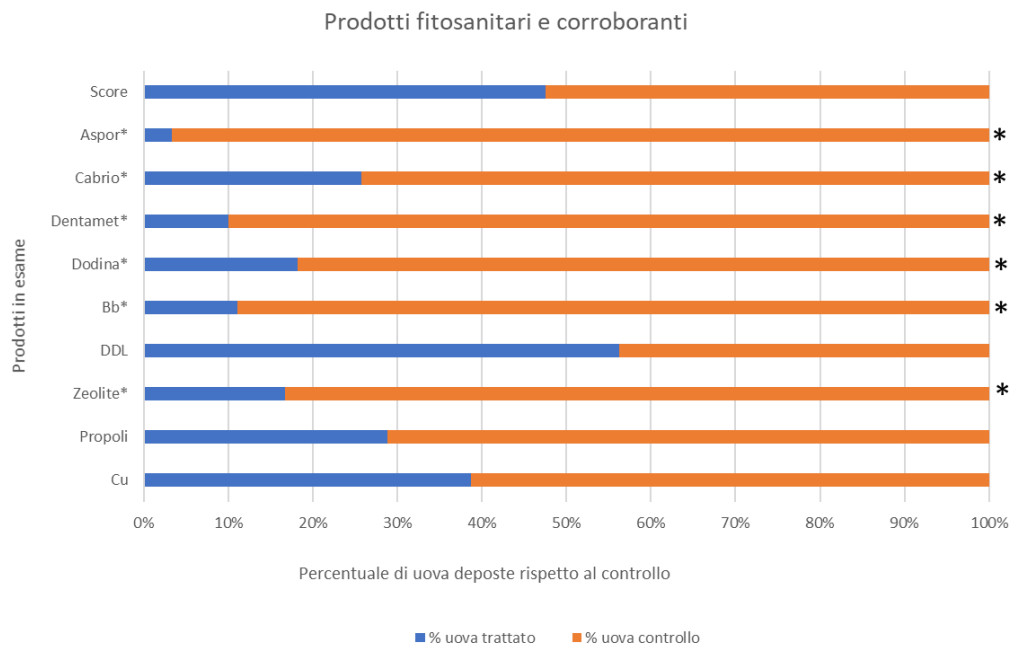


Figura 9 - Risultati del primo esperimento choice: è stato valutato l'effetto ovodeterrente di Aspor (% di uova rispetto al controllo=0), cabrio (% di uova=0,3), dentamet (% di uova=0,1), dodina (% di uova=0,18), *Beauveria bassiana*(% di uova=0,11) e zeolite(% di uova=0,17). Gli asterischi indicano la significatività statistica della differenza del trattamento nei confronti del controllo (P<0.05).

Sostanze attive	% uova trattato	% uova controllo
Cu	0,39	0,61
Propoli	0,29	0,71
Zeolite*	0,17	0,83
DDL	0,56	0,44
Bb*	0,11	0,89
Dodina*	0,18	0,82
Dentamet*	0,10	0,90
Cabrio*	0,3	0,7
Aspor*	0,0	1,0
Score	0,5	0,5

Figura 10 – Percentuali di incidenza di ovodeposizione in rapporto all'incidenza registrata sul controllo. Gli asterischi indicano la significatività statistica della differenza del trattamento nei confronti del controllo ($P < 0.05$).

4.3 Acque reflue dei frantoi

Il choice test è stato condotto anche per testare l'influenza delle acque reflue dei frantoi (ADV) a diverse concentrazioni di oleuropeina sulla preferenza di ovodeposizione di *B. oleae*. In generale, le olive trattate hanno riportato un numero inferiore di uova e forature rispetto al controllo. Le differenze erano più evidenti nel trattamento con oleuropeina a 5 ppm ($P = 0,006334$) e 10 ppm ($P = 0,07707$). Alle concentrazioni di 0.3 ppm ($P = 0,2809$), 1 ppm ($P = 0,06499$) e 3.4 ppm ($P = 0,1449$) non hanno influenzato statisticamente la scelta dell'ovodeposizione. (Figura 10) (Appendice, Tabelle 4)

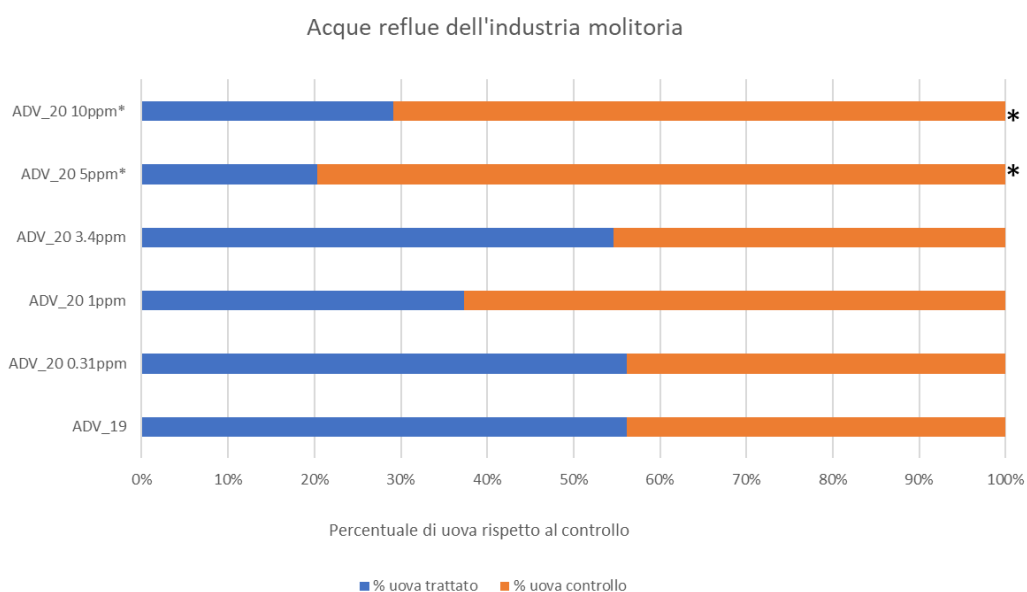


Figura 11 - Risultati del secondo esperimento choice svolto esclusivamente per testare le acque reflue dei frantoi: è stato valutato l'effetto ovodeterrente alle concentrazioni di 5ppm (% di uova rispetto al controllo=0,2) e 10ppm (% di uova= 0,29). Gli asterischi indicano la significatività statistica della differenza del trattamento nei confronti del controllo ($P < 0.05$).

Concentrazione in ppm	% uova trattato	% uova controllo
ADV_19	0,56	0,44
ADV_20 0.31ppm	0,56	0,44
ADV_20 1ppm	0,37	0,63
ADV_20 3.4ppm	0,55	0,45
ADV_20 5ppm*	0,20	0,80
ADV_20 10ppm*	0,29	0,71

Figura 12 - Percentuali di ovodeposizione in rapporto all'incidenza registrata sul controllo. Gli asterischi indicano la significatività statistica della differenza del trattamento nei confronti del controllo ($P < 0.05$).

5 Discussione

Le due prove eseguite sono servite a verificare la capacità di alcuni prodotti fitosanitari, registrati per l'utilizzo su olivo come fungicidi o come biostimolanti, di controllare l'infestazione di *B. oleae* come effetto secondario. Nello specifico, si è indagato in laboratorio l'effetto di deterrenza all'ovodeposizione dei prodotti in esame nei confronti di femmine fecondate di *B. oleae*.

Le sostanze oggetto di sperimentazione sono contenute in prodotti già impiegati e inseriti nel processo di lotta integrata promossa per rendere l'utilizzo dei pesticidi più consapevole e attento alla salute ambientale e umana. Tra le sostanze attive testate, alcune hanno riportato buoni effetti di deterrenza sull'ovoposizione della mosca, risultati che lasciano intravedere dei nuovi strumenti di difesa per il settore olivicolo.

La possibilità di poter pianificare interventi in campo con prodotti più ecosostenibili e a multiplo effetto è importante anche nella prospettiva di ridurre l'impiego di prodotti fitosanitari.

Come prospettiva futura sarà importante estendere le sperimentazioni condotte in laboratorio al pieno campo. La possibilità di impiego di questi prodotti, già registrati su olivo, come ovodeterrenti permetterebbe di ampliarne l'impiego in un contesto di lotta integrata. Un discorso a parte meritano le acque reflue dell'industria molitoria. I dati raccolti hanno dimostrato un loro effetto deterrente all'ovideposizione per cui sarà importante approfondire la loro possibilità di impiego. Tale prospettiva consentirebbe al prodotto di inserirsi nel contesto dell'economia circolare e dando quindi nuova utilità a un prodotto considerato ad oggi di scarto. Tuttavia, lo scoglio da superare è dovuto al fatto che le acque reflue sono caratterizzate da una variabilità di composizione che ne rende ad oggi difficile la standardizzazione. La variabilità è influenzata dalla concentrazione di oleuropeina, componente determinante nella repellenza, contenuta in questa miscela. È quindi possibile che con ricerche più approfondite si possano mettere a punto altri metodi di impiego delle acque reflue e dell'oleuropeina. Ad oggi però l'utilizzo di questa sostanza non è normato e non è supportato da sufficienti prove scientifiche.

Nel complesso si può affermare che alcuni prodotti fitosanitari o corroboranti già impiegati per altri scopi in olivicoltura possono essere considerati anche nell'ottica del controllo della popolazione di *B. oleae* secondo un approccio di tipo preventivo basato sul meccanismo di deterrenza all'ovodeposizione. In future indagini di campo sarà importante testare i prodotti che hanno dato i migliori risultati in laboratorio e soprattutto individuare le loro strategie di

impiego nell'ottica di combinare e ottimizzare il loro effetto primario con l'effetto deterrente evidenziato nel presente lavoro. Questa prospettiva fornirebbe indiscussi vantaggi alla difesa dell'oliveto in un contesto di riduzione dell'impiego dei pesticidi.

6 Bibliografia

- Bononi, M., & Tateo, F. (2017). Preliminary data on volatile composition of olive fruits of cv. "Simona" and possible relationship to resistance to fly oviposition. *Italian Journal of Food Science*, 29(4), 582–590.
- Caleca, V., Lo Verde, G., Lo Verde, V., Piccionello, M. P., Rizzo, R. (2010). *Control of Bactrocera oleae and Ceratitis capitata in organic orchards: Use of clays and copper products*. *Acta Horticulturae* (Vol. 873). <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.873.24>
- Cosenza, D. M. A. F., Vita, G. (n.d.). F. FIUME Istituto Sperimentale per ta Olivicoltura, XXX.
- Daane, K. M., Johnson, M. W. (2010). *Olive fruit fly: Managing an ancient pest in modern times*. *Annual Review of Entomology* (Vol. 55). <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.54.110807.090553>
- Diab, N., Al-Joury, E., Dawoud, M., Jalloud, A. (2021). Activity monitoring of olive fruit fly, *Bactrocera oleae* (Rossi) males, and effect of temperature and relative humidity, at Al Quneitra Governorate, Southern Syria. *Arab Journal of Plant Protection*, 39(2), 116–125. <https://doi.org/10.22268/AJPP-39.2.116125>
- Falchi, G., Marche, M. G., Mura, M. E., Ruiu, L. (2015). Hydrophobins from aerial conidia of *Beauveria bassiana* interfere with *Ceratitidis capitata* oviposition behavior. *Biological Control*, 81, 37–43. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.11.005>
- Giacalone, C. (2011). Il controllo di *Bactrocera oleae* (Rossi) e di altri carpofagi negli oliveti biologici in Sicilia e Sud Africa, 147. Retrieved from <https://iris.unipa.it/handle/10447/95135?mode=full.5#.WEg6ESiflUE>
- González-Núñez, M., Pascual, S., Cobo, A., Seris, E., Cobos, G., Fernández, C. E., Sánchez-Ramos, I. (2021). Copper and kaolin sprays as tools for controlling the olive fruit fly. *Entomologia Generalis*, 41(1), 97–110. <https://doi.org/10.1127/entomologia/2020/0930>
- Gregoriou, M.-E., Reczko, M., Kakani, E. G., Tsoumani, K. T., Mathiopoulos, K. D. (2021). Decoding the reproductive system of the olive fruit fly, *Bactrocera oleae*. *Genes*, 12(3), 1–19. <https://doi.org/10.3390/genes12030355>
- Jaleel, W., He, Y., Lü, L. (2019). The response of two *Bactrocera* species (Diptera: Tephritidae) to fruit volatiles. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 22(3), 758–765. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2019.05.011>

- Jose, P. A., Ben-Yosef, M., Jurkevitch, E., Yuval, B. (2019). Symbiotic bacteria affect oviposition behavior in the olive fruit fly *Bactrocera oleae*. *Journal of Insect Physiology*, *117*. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2019.103917>
- Kampouraki, A., Stavrakaki, M., Karataraki, A., Katsikogiannis, G., Pitika, E., Varikou, K., ... Vontas, J. (2018). Recent evolution and operational impact of insecticide resistance in olive fruit fly *Bactrocera oleae* populations from Greece. *Journal of Pest Science*, *91*(4), 1429–1439. <https://doi.org/10.1007/s10340-018-1007-8>
- Kombargi, W. S., Michelakis, S. E., Petrakis, C. A. (1998). Effect of Olive Surface Waxes on Oviposition by *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Economic Entomology*, *91*(4), 993–998. <https://doi.org/10.1093/jee/91.4.993>
- Koskinioti, P., Ras, E., Augustinos, A. A., Beukeboom, L. W., Mathiopoulos, K. D., Caceres, C., Bourtzis, K. (2020). The impact of fruit fly gut bacteria on the rearing of the parasitic wasp *Diachasmimorpha longicaudata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *168*(6–7), 541–559. <https://doi.org/10.1111/eea.12936>
- Malheiro, R., Casal, S., Pinheiro, L., Baptista, P., Pereira, J. A. (2019). Olive cultivar and maturation process on the oviposition preference of *Bactrocera oleae* (Rossi) (Diptera: Tephritidae). *Bulletin of Entomological Research*, *109*(1), 43–53. <https://doi.org/10.1017/S0007485318000135>
- Malheiro, R., Ortiz, A., Casal, S., Baptista, P., Pereira, J. A. (2015). Electrophysiological response of *Bactrocera oleae* (Rossi) (Diptera: Tephritidae) adults to olive leaves essential oils from different cultivars and olive tree volatiles. *Industrial Crops and Products*, *77*, 81–88. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.08.046>
- Malheiro, Ricardo, Casal, S., Baptista, P., Pereira, J. A. (2015). Physico-chemical characteristics of olive leaves and fruits and their relation with *Bactrocera oleae* (Rossi) cultivar oviposition preference. *Scientia Horticulturae*, *194*, 208–214. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.08.017>
- Marchini, D., Petacchi, R., Marchi, S. (2017). *Bactrocera oleae* reproductive biology: New evidence on wintering wild populations in olive groves of Tuscany (Italy). *Bulletin of Insectology*, *70*(1), 121–128.
- Marco, E. (2009). *Trattamento dei reflui oleari : recupero*

della della frazione frazione biologicamente biologicamente attiva attiva e e di di acqua acqua purificata purificata, 10535.

NEUENSCHWANDER, P. (1985). Factors affecting the susceptibility of fruits of different olive varieties to attack by *Dacus oleae* (Gmel.) (Dipt., Tephritidae). *Zeitschrift Für Angewandte Entomologie*, 100(1–5), 174–188. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1985.tb02770.x>

Nobre, T. (2021). Olive fruit fly and its obligate symbiont *Candidatus Erwinia dacicola*: Two new symbiont haplotypes in the Mediterranean basin. *PLoS ONE*, 16(9 Settembre). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0256284>

Phillips, E. F., Allan, S. A., Gillett-Kaufman, J. L. (2021). Survey of Florida Olive Groves during Olive Fruit Development: Monitoring for Stink Bugs and Olive Fruit Flies. *Florida Entomologist*, 104(4), 265–273. <https://doi.org/10.1653/024.104.0403>

Prophetou-Athanasidou, D. A., Tzanakakis, M. E., D. Myroyannis, Sakas, G. (1991). Deterrence of oviposition in *Dacus oleae* by copper hydroxide. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 61(1), 1–5. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1991.tb02389.x>

Puig-Montserrat, X., Mas, M., Flaquer, C., Tuneu-Corral, C., López-Baucells, A. (2021). Benefits of organic olive farming for the conservation of gleaning bats. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 313. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107361>

Radonjić, S., Hrnčić, S., Perović, T. (2019). Overview of fruit flies important for fruit production on the Montenegro seacoast | Tour d’horizon des mouches des fruits impliquées dans la production fruitière sur la côte du Monténégro. *Biotechnology, Agronomy and Society and Environment*, 23(1), 46–56.

Ras, E., Beukeboom, L. W., Cáceres, C., Bourtzis, K. (2017). Review of the role of gut microbiota in mass rearing of the olive fruit fly, *Bactrocera oleae*, and its parasitoids. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 164(3), 237–256. <https://doi.org/10.1111/eea.12609>

Russo, G. (1959). Stato attuale della lotta chimica e della lotta biologica contro la mosca delle olive. *Bolletino Di Zoologia*, 26(2), 479–482. <https://doi.org/10.1080/11250005909439300>

Scarpati, M.L., Scalzo, R. L., Vita, G. (1993). *Olea europaea* Volatiles attractive and repellent to the olive fruit fly (*Dacus oleae*, Gmelin). *Journal of Chemical Ecology*, 19(4), 881–891. <https://doi.org/10.1007/BF00985017>

- Scarpati, Maria Luisa, Scalzo, R. Lo, Vita, G. (1993). Olea europaea Volatiles attractive and repellent to the olive fruit fly (*Dacus oleae*, Gmelin). *Journal of Chemical Ecology*, 19(4), 881–891. <https://doi.org/10.1007/BF00985017>
- Tsoumani, K. T., Belavilas-Trovas, A., Gregoriou, M.-E., Mathiopoulos, K. D. (2020). Anosmic flies: what Orco silencing does to olive fruit flies. *BMC Genetics*, 21. <https://doi.org/10.1186/s12863-020-00937-0>
- Vitanović, E., Aldrich, J. R., Boundy-Mills, K., Cagalj, M., Ebeler, S. E., Burrack, H., ... Rodriguez-Saona, C. (2020). Olive Fruit Fly, *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae), Attraction to Volatile Compounds Produced by Host and Insect-Associated Yeast Strains. *Journal of Economic Entomology*, 113(2), 752–759. <https://doi.org/10.1093/jee/toz341>
- Wang, X., Walton, V. M., Hoelmer, K. A., Pickett, C. H., Blanchet, A., Straser, R. K., ... Daane, K. M. (2021). Exploration for olive fruit fly parasitoids across Africa reveals regional distributions and dominance of closely associated parasitoids. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85253-y>

7 Sitografia

Sito del Ministero della Salute

http://www.salute.gov.it/portale/news/p3_2_1_1_1.jsp?lingua=italiano&menu=notizie&p=dalministero&id=3936 (data ultima consultazione 13/01/2022)

Propoli: <https://fitogest.imaginenetwork.com/it/sostanze-corroboranti/propolis/36> (data di ultima consultazione 16/06/2021)

Distillato di legno: <https://www.coltivazionebiologica.it/distillato-di-legno/#:~:text=Il%20distillato%20di%20legno%20in%20agricoltura%20biologica,-L'uso%20del&text=%C3%88%20definito%20corroborante%2C%20cio%C3%A8%20potenzia,i%20caolino%2C%20la%20zeolite%20ecc.> (data di ultima consultazione 18/06/2021)

Ossicloruro di rame: <https://fitogest.imaginenetwork.com/it/sostanze-attive/rame-ossicloruro-di-rame/235> (data di ultima consultazione 16/06/2021)

Dodina: <https://fitogest.imaginenetwork.com/it/sostanze-attive/dodina/122>

Beauveria Bassiana: <https://fitogest.imaginenetwork.com/it/sostanze-attive/beauveria-bassiana-atcc-74040/659> (data di ultima consultazione 16/06/2021)

Zeolite: <https://fitogest.imaginenetwork.com/it/corroboranti/zeolite-cubana-bio/15094> (data di ultima consultazione 16/06/2021)

Dentamet: <https://store.agriduemiladelprete.it/difesa/41-dentamet-miscela-rame-zinco-potente-disinfettante.html> (data di ultima consultazione 16/06/2021)

Cabrio: <https://fitogest.imaginenetwork.com/it/agrofarmaci/cabrio-olivo/16055> (data di ultima consultazione 16/06/2021)

Score: <https://fitogest.imaginenetwork.com/it/agrofarmaci/score/12935> (data di ultima consultazione 16/06/2021)

Aspor: <https://fitogest.imaginenetwork.com/it/agrofarmaci/aspor-wdg/14099> (data di ultima consultazione 16/06/2021)

8 Appendice

Tabella 1 – Numero totale di uova e numero medio di uova per oliva del primo esperimento di ovodeterrenza.

Trattamento	Uova totali	Uova per oliva
popoli	26	2,6
popoli	29	2,9
popoli	63	6,3
popoli	44	4,4

Trattamento	Uova totali	Uova per oliva
DDL	31	3,1
DDL	44	4,4
DDL	31	3,1
DDL	46	4,6

Trattamento	Uova totali	Uova per oliva
ADV	79	7,9
ADV	49	4,9
ADV	66	6,6
ADV	65	6,5

Trattamento	Uova totali	Uova per oliva
Cu	52	5,2
Cu	64	6,4
Cu	43	4,3
Cu	26	2,6

Trattamento	Uova totali	Uova per oliva
dodina	17	1,7
dodina	38	3,8
dodina	35	3,5
dodina	14	1,4

Trattamento	Uova totali	Uova per oliva
zeolite	43	4,3
zeolite	19	1,9
zeolite	38	3,8
zeolite	10	1

Trattamento	Uova totali	Uova per oliva
Bb	31	3,1
Bb	31	3,1
Bb	15	1,5
Bb	31	3,1

Trattamento	Uova totali	Uova per oliva
controllo	97	9,7
controllo	34	3,4
controllo	26	2,6
controllo	34	3,4

Tabelle 2 - Numero totale di uova e numero medio di uova per oliva nel secondo esperimento di ovodeterrenza.

Trattamento	Uova totali	Uova per oliva
score	11	1,1
score	13	1,3
score	10	1
score	9	0,9

Trattamento	Uova totali	Uova per oliva
aspor	4	0,4
aspor	2	0,2
aspor	2	0,2
aspor	0	0

Trattamento	Uova totali	Uova per oliva
cabrio	1	0,1
cabrio	4	0,4
cabrio	1	0,1
cabrio	8	0,8

Trattamento	Uova totali	Uova per oliva
dentamet	5	0,5
dentamet	6	0,6
dentamet	7	0,7
dentamet	5	0,5
dentamet	4	0,4
dentamet	8	0,8

Trattamento	Uova totali	Uova per oliva
controllo	12	1,2
controllo	13	1,3
controllo	20	2
controllo	8	0,8
controllo	16	1,6

Tabelle 3 – Dati relativi l’esperienza “choice”; non sono riportate le repliche non significative (0 uova sul controllo; 0 uova sul trattato)

Trattamento	uova su trattate	uova su controllo	% trattata	% controllo
Aspor	0	2	0,0	1,0
Aspor	1	2	0,3	0,7
Aspor	0	1	0,0	1,0
Aspor	0	1	0,0	1,0
Aspor	0	1	0,0	1,0
Aspor	0	1	0,0	1,0
Aspor	0	1	0,0	1,0
Aspor	0	2	0,0	1,0
Aspor	0	1	0,0	1,0
Aspor	0	2	0,0	1,0

Trattamento	uova su trattate	uova su controllo	% trattata	% controllo
Bb	0	1	0,0	1,0
Bb	0	1	0,0	1,0
Bb	0	1	0,0	1,0
Bb	0	2	0,0	1,0
Bb	0	2	0,0	1,0
Bb	0	1	0,0	1,0
Bb	0	1	0,0	1,0
Bb	0	2	0,0	1,0
Bb	1	0	1,0	0,0

Trattamento	uova su trattate	uova su controllo	% trattata	% controllo
Cabrio	0	1	0,0	1,0
Cabrio	0	2	0,0	1,0
Cabrio	0	1	0,0	1,0
Cabrio	0	1	0,0	1,0
Cabrio	0	1	0,0	1,0
Cabrio	1	2	0,3	0,7
Cabrio	1	0	1,0	0,0
Cabrio	0	2	0,0	1,0
Cabrio	1	0	1,0	0,0
Cabrio	1	1	0,5	0,5
Cabrio	0	2	0,0	1,0

Trattamento	uova su trattate	uova su controllo	% trattata	% controllo
Cu	0	2	0,0	1,0
Cu	0	1	0,0	1,0
Cu	0	1	0,0	1,0
Cu	2	1	0,7	0,3
Cu	1	4	0,2	0,8
Cu	0	1	0,0	1,0
Cu	0	1	0,0	1,0
Cu	1	0	1,0	0,0
Cu	1	0	1,0	0,0
Cu	1	0	1,0	0,0

Trattamento	uova su trattate	uova su controllo	% trattata	% controllo
DDL	0	1	0,0	1,0
DDL	1	0	1,0	0,0
DDL	1	1	0,5	0,5
DDL	1	0	1,0	0,0
DDL	1	0	1,0	0,0
DDL	1	0	1,0	0,0
DDL	0	1	0,0	1,0
DDL	0	1	0,0	1,0

Trattamento	uova su trattate	uova su controllo	% trattata	% controllo
Dentamet	0	1	0,0	1,0
Dentamet	0	1	0,0	1,0
Dentamet	0	1	0,0	1,0
Dentamet	0	2	0,0	1,0
Dentamet	0	1	0,0	1,0
Dentamet	0	1	0,0	1,0
Dentamet	0	2	0,0	1,0
Dentamet	1	0	1,0	0,0
Dentamet	0	1	0,0	1,0
Dentamet	0	1	0,0	1,0

Trattamento	uova su trattate	uova su controllo	% trattata	% controllo
Dodina	0	1	0,0	1,0
Dodina	0	1	0,0	1,0
Dodina	0	1	0,0	1,0
Dodina	0	1	0,0	1,0

Dodina	1	2	0,3	0,7
Dodina	0	2	0,0	1,0
Dodina	0	1	0,0	1,0
Dodina	0	1	0,0	1,0
Dodina	0	2	0,0	1,0
Dodina	1	0	1,0	0,0
Dodina	2	1	0,7	0,3

Trattamento	uova su trattate	uova su controllo	% trattata	% controllo
Propoli	2	0	1,0	0,0
Propoli	1	1	0,5	0,5
Propoli	0	2	0,0	1,0
Propoli	1	2	0,3	0,7
Propoli	0	1	0,0	1,0
Propoli	2	1	0,7	0,3
Propoli	2	1	0,7	0,3
Propoli	0	1	0,0	1,0
Propoli	0	2	0,0	1,0
Propoli	0	1	0,0	1,0
Propoli	0	2	0,0	1,0

Trattamento	uova su trattate	uova su controllo	% trattata	% controllo
Score	1	2	0,3	0,7
Score	2	2	0,5	0,5
Score	0	3	0,0	1,0
Score	1	0	1,0	0,0
Score	0	1	0,0	1,0

Score	1	0	1,0	0,0
Score	0	1	0,0	1,0
Score	0	2	0,0	1,0
Score	2	0	1,0	0,0
Score	2	3	0,4	0,6
Score	1	0	1,0	0,0

Trattamento	uova su trattate	uova su controllo	% trattata	% controllo
Zeolite	1	0	1,0	0,0
Zeolite	0	1	0,0	1,0
Zeolite	0	4	0,0	1,0
Zeolite	0	1	0,0	1,0
Zeolite	1	1	0,5	0,5
Zeolite	1	2	0,3	0,7
Zeolite	0	1	0,0	1,0
Zeolite	0	1	0,0	1,0
Zeolite	0	1	0,0	1,0
Zeolite	0	1	0,0	1,0
Zeolite	0	1	0,0	1,0

Tabella 4 – Dati relativi l’esperimento “choice test” con le acque reflue dei frantoi; non sono riportate le repliche non significative (0 uova sul controllo; 0 uova sul trattato), le concentrazioni sono riportate per distinguere tra loro le repliche.

Trattamento	Concentrazione	uova su trattate	uova su controllo	% trattata	% controllo
ADV_19	0.31 ppm	2	2	0,5	0,5
ADV_19	0.31 ppm	7	2	0,8	0,2
ADV_19	0.31 ppm	5	5	0,5	0,5
ADV_19	0.31 ppm	7	6	0,5	0,5
ADV_19	0.31 ppm	6	7	0,5	0,5
ADV_19	0.31 ppm	4	5	0,4	0,6
ADV_19	0.31 ppm	6	3	0,7	0,3
ADV_19	0.31 ppm	2	1	0,7	0,3
ADV_19	0.31 ppm	4	4	0,5	0,5

Trattamento	Concentrazione	uova su trattate	uova su controllo	% trattata	% controllo
ADV_20	1 ppm	0	1	0,0	1,0
ADV_20	1 ppm	0	2	0,0	1,0
ADV_20	1 ppm	0	1	0,0	1,0
ADV_20	1 ppm	1	0	1,0	0,0
ADV_20	1 ppm	0	1	0,0	1,0
ADV_20	1 ppm	0	1	0,0	1,0
ADV_20	1 ppm	0	2	0,0	1,0
ADV_20	1 ppm	1	0	1,0	0,0
ADV_20	1 ppm	0	3	0,0	1,0
ADV_20	1 ppm	2	1	0,7	0,3

ADV_20	1 ppm	0	1	0,0	1,0
ADV_20	1 ppm	1	0	1,0	0,0
ADV_20	1 ppm	1	2	0,3	0,7
ADV_20	1 ppm	1	0	1,0	0,0
ADV_20	1 ppm	1	2	0,3	0,7
ADV_20	1 ppm	0	1	0,0	1,0
ADV_20	1 ppm	1	1	0,5	0,5
ADV_20	1 ppm	1	0	1,0	0,0
ADV_20	1 ppm	1	3	0,3	0,8

Trattamento	Concentrazione	uova su trattate	uova su controllo	% trattata	% controllo
ADV_20	3.4 ppm	9	3	0,8	0,3
ADV_20	3.4 ppm	7	7	0,5	0,5
ADV_20	3.4 ppm	1	0	1,0	0,0
ADV_20	3.4 ppm	2	0	1,0	0,0
ADV_20	3.4 ppm	7	2	0,8	0,2
ADV_20	3.4 ppm	4	4	0,5	0,5
ADV_20	3.4 ppm	3	4	0,4	0,6
ADV_20	3.4 ppm	1	0	1,0	0,0
ADV_20	3.4 ppm	4	2	0,7	0,3
ADV_20	3.4 ppm	12	2	0,9	0,1
ADV_20	3.4 ppm	2	1	0,7	0,3
ADV_20	3.4 ppm	1	0	1,0	0,0
ADV_20	3.4 ppm	0	1	0,0	1,0
ADV_20	3.4 ppm	0	1	0,0	1,0
ADV_20	3.4 ppm	1	2	0,3	0,7
ADV_20	3.4 ppm	1	0	1,0	0,0
ADV_20	3.4 ppm	0	3	0,0	1,0
ADV_20	3.4 ppm	0	2	0,0	1,0

ADV_20	3.4 ppm	1	0	1,0	0,0
ADV_20	3.4 ppm	0	1	0,0	1,0
ADV_20	3.4 ppm	0	1	0,0	1,0

Trattamento	Concentrazione	uova su trattate	uova su controllo	% trattata	% controllo
ADV_20	5 ppm	0	1	0,0	1,0
ADV_20	5 ppm	1	1	0,5	0,5
ADV_20	5 ppm	0	1	0,0	1,0
ADV_20	5 ppm	0	2	0,0	1,0
ADV_20	5 ppm	0	1	0,0	1,0
ADV_20	5 ppm	2	1	0,7	0,3
ADV_20	5 ppm	0	1	0,0	1,0
ADV_20	5 ppm	0	2	0,0	1,0
ADV_20	5 ppm	1	0	1,0	0,0
ADV_20	5 ppm	0	2	0,0	1,0
ADV_20	5 ppm	1	0	1,0	0,0
ADV_20	5 ppm	0	2	0,0	1,0
ADV_20	5 ppm	2	2	0,5	0,5
ADV_20	5 ppm	0	1	0,0	1,0
ADV_20	5 ppm	0	2	0,0	1,0
ADV_20	5 ppm	0	1	0,0	1,0
ADV_20	5 ppm	0	2	0,0	1,0
ADV_20	5 ppm	0	1	0,0	1,0

Trattamento	Concentrazione	uova su trattate	uova su controllo	% trattata	% controllo
ADV_20	10 ppm	0	2	0,0	1,0
ADV_20	10 ppm	1	0	1,0	0,0
ADV_20	10 ppm	0	1	0,0	1,0
ADV_20	10 ppm	0	1	0,0	1,0
ADV_20	10 ppm	1	0	1,0	0,0
ADV_20	10 ppm	1	0	1,0	0,0
ADV_20	10 ppm	0	1	0,0	1,0
ADV_20	10 ppm	0	2	0,0	1,0
ADV_20	10 ppm	0	1	0,0	1,0
ADV_20	10 ppm	1	1	0,5	0,5
ADV_20	10 ppm	0	2	0,0	1,0
ADV_20	10 ppm	0	1	0,0	1,0

Trattamento	Concentrazione	uova su trattate	uova su controllo	% trattata	% controllo
ADV_20	30 ppm	0	1	0,0	1,0
ADV_20	30 ppm	1	0	1,0	0,0