

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
SCUOLA DI AGRARIA E MEDICINA VETERINARIA

Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse naturali e Ambiente
Tesi di Laurea triennale in Tecnica e Gestione delle Produzioni Biologiche Vegetali

**CONTROLLO BIOLOGICO DEGLI ALEURODIDI SU POMODORO DA INDUSTRIA
IN COLTURA PROTETTA MEDIANTE *MACROLOPHUS PYGMAEUS***

Relatore:

Prof. Luca Mazzon

Laureando:

Letizia Ripamonti

Matricola n. 1222981

ANNO ACCADEMICO 2021 - 2022

INDICE

RIASSUNTO	5
ABSTRACT	6
1. INTRODUZIONE	8
1.1 LOTTA BIOLOGICA	8
1.1.1 Rapporto tra specie entomofaghe e ospiti	9
1.2 FITOFAGI DANNOSI SU POMODORO IN COLTURA PROTETTA	10
1.3 MOSCHE BIANCHE	11
1.3.1 <i>Trialeurodes vaporariorum</i>	11
1.3.2 <i>Bemisia tabaci</i>	14
1.3.3 Danni alla coltura.....	18
2. SCOPO DELLA TESI	19
3. MATERIALI E METODI	20
3.1 AREALE DI INDAGINE.....	20
3.2 ANTAGONISTI NATURALI UTILIZZATI NELLA SPERIMENTAZIONE.....	21
3.2.1 <i>Nesidiocoris tenuis</i>	21
3.2.2 <i>Macrolophus pygmaeus</i>	22
3.3 SVOLGIMENTO DELLA SPERIMENTAZIONE.....	27
3.3.1 integrazione alimentare.....	27
3.3.2 clima della serra.....	29
3.4 MONITORAGGI E LANCI SETTIMANALI DI <i>MACROLOPHUS PYGMAEUS</i>	30
4. RISULTATI	34
4.1 Insediamento di giovani e adulti di <i>Macrolophus pygmaeus</i>	34
4.2 Andamento della popolazione di <i>Macrolophus pygmaeus</i> in relazione ai parametri ambientali della serra.....	35
4.3 Relazione tra lo sviluppo di <i>Macrolophus pygmaeus</i> e la presenza di aleurodidi.....	37
4.4 Confronto tra <i>Nesidiocoris tenuis</i> e <i>Macrolophus pygmaeus</i>	38

5. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI.....	41
6. APPENDICE.....	43
6.1 <i>Encarsia formosa</i>	43
7. RINGRAZIAMENTI	46
8. BIBLIOGRAFIA.....	47

RIASSUNTO

Nella moderna agricoltura si assiste a un metodo di produzione estensivo a favore della monocoltura. Questa struttura porta in maniera sempre maggiore a un disequilibrio dell'agroecosistema favorendo l'instaurarsi di patogeni, lo sviluppo di malattie e l'introduzione di altri fattori di stress.

Recentemente la lotta biologica come strategia alternativa di contenimento e regolazione dei patogeni ha ricevuto maggiore attenzione grazie alla consapevolezza degli innumerevoli rischi ambientali connessi all'utilizzo dei prodotti chimici e alla riduzione di efficacia dovuta all'insorgenza di popolazioni di insetti dannosi resistenti.

Lo scopo di questo lavoro è stato quello di sperimentare l'utilizzo di una popolazione resistente ai parametri ambientali della serra di *Macrolophus pygmaeus* selezionata dalla sede olandese della biofabbrica Koppert e verificarne l'efficacia nella pianura della regione Lombardia.

Tale sperimentazione è avvenuta presso l'Azienda Agricola S. Maurizio nel paese di Merlino (LO).

In particolare, lo scopo è stato quello di verificare la capacità di biocontrollo di aleurodidi (*Trialeurodes vaporariorum*, *Bemisia tabaci*) su pomodoro da industria in coltura protetta. Tale efficacia è stata successivamente paragonata all'utilizzo di un altro antagonista naturale dei medesimi insetti dannosi: *Nesidocoris tenuis*, il quale è stato liberato in altre serre della stessa azienda per poter effettuare un confronto.

ABSTRACT

In modern agriculture, there is an extensive production method in favor of monoculture. This structure increasingly leads to an imbalance in the agroecosystem by encouraging the establishment of pathogens, the development of diseases, and the introduction of other stressors. Recently, biological control as an alternative strategy for the containment and regulation of pathogens has received more attention due to the awareness of the countless environmental risks associated with the use of chemicals and the reduction in efficacy due to the emergence of resistant harmful insect populations.

The purpose of this work was to test the use of a population resistant to greenhouse environmental parameters of *Macrolophus pygmaeus* selected from the Dutch site of the Koppert biofactory and verify its efficacy in the lowlands of the Lombardy region.

This experimentation took place at the S. Maurizio Farm in the village of Merlino (LO).

Specifically, the aim was to verify the biocontrol ability of aleurodids (*Trialeurodes vaporariorum*, *Bemisia tabaci*) on processing tomato in protected culture. This efficacy was subsequently compared to the use of another natural antagonist of the same harmful insects, *Nesidocoris tenuis*, which was released in other greenhouses on the same farm in order to make a comparison.

1.INTRODUZIONE

1.1 LOTTA BIOLOGICA

La lotta biologica è una strategia a supporto della produzione agricola sia in regime convenzionale che biologico la quale consiste nel controllo delle popolazioni di insetti fitofagi utilizzando antagonisti naturali quali predatori e parassitoidi. In questi ultimi anni si cerca di ricorrere quasi esclusivamente ad antagonisti autoctoni per non compromettere gli equilibri naturali.

Tale controllo è nato dalla consapevolezza degli effetti collaterali causati dagli insetticidi ed altri prodotti chimici tra cui il grande impatto ambientale, la crisi di tutti gli impollinatori, l'insorgenza di popolazioni resistenti a insetticidi e i problemi per il consumatore dovuti ai residui lasciati nell'ambiente ma anche nei prodotti.

Tuttavia anche questo metodo di controllo va pianificato perché ogni intervento di difesa contro l'insetto dannoso può creare alterazioni di equilibrio nel sistema. Le modalità decisionali vanno definite in base alla soglia di intervento, ovvero la densità di popolazione del fitofago per la quale è consigliabile eseguire un intervento. Se la densità di popolazione del predatore o parassitoide e quella del fitofago sono le medesime, abbiamo una posizione di equilibrio. Quando la densità tocca la soglia di intervento dobbiamo intervenire per non incorrere nella soglia di danno economico che può provocare danni economici all'agricoltore.

Esistono quattro approcci principali di controllo biologico: classico, inoculativo, inondativo e conservativo.

- Controllo biologico classico. Si applica su insetti esotici introdotti accidentalmente i quali, non avendo antagonisti nella nuova area, crescono in maniera esponenziale, colonizzando in breve tempo l'ambiente e provocando grossi danni. Questo controllo consiste nell'introdurre anche l'antagonista naturale del paese di origine della specie invasiva con lo scopo di raggiungere l'equilibrio naturale tra fitofago e antagonista.

Tale approccio, negli anni, è sempre meno usato per un incremento di interesse verso gli antagonisti naturali autoctoni.

- Controllo biologico inoculativo. Consiste nella periodica reintroduzione di insetti entomofagi quando nell'ambiente sono presenti in numero troppo limitato. Questi si moltiplicheranno, esercitando un effetto prolungato di contenimento sulla popolazione bersaglio. Solitamente gli insetti inoculati hanno elevata capacità di controllo del fitofago

ma non sono in grado di adattarsi completamente alle caratteristiche climatiche dell'ambiente in cui vengono rilasciati.

L'azione di contenimento non è attuata direttamente dagli individui introdotti ma dalla progenie.

- Controllo biologico inondativo. Prevede la distribuzione di un numero elevato di insetti utili per avere un rapido effetto sulla popolazione del fitofago. L'azione di contenimento è esercitata direttamente dagli individui liberati. Talvolta risulta necessario programmare più liberazioni se il fitofago tende periodicamente a ripresentarsi.
- Controllo biologico conservativo. Si pone l'obiettivo di attuare una serie di iniziative per potenziare il livello di insetti utili già presenti in azienda. Solitamente si tratta di iniziative di tipo agronomico quali la conservazione e il potenziamento di habitat naturali utili come siepi, vegetazione spontanea, inerbimenti con fioriture ed altre infrastrutture ecologiche.

(Helyer et al., 2014)

1.1.1 Rapporto tra specie entomofaghe e ospiti

Gli entomofagi sono quegli organismi che si nutrono di insetti. Essi si distinguono in *predatori* e *parassitoidi*.

I predatori predano sia allo stadio adulto che a quello larvale e, in entrambi i casi, richiedono il consumo di più di un individuo per raggiungere la maturità. Essi possiedono talvolta mezzi di locomozione per poter cercare la preda nell'ambiente anche se durante gli stadi giovanili hanno scarsa capacità di movimento. Proprio per questo le uova vengono spesso deposte in prossimità di colonie di individui della specie predata, per garantire alla progenie nutrimento subito disponibile (Viggiani, 1994). I predatori sono diffusi in tutti gli ordini e famiglie e possono dividersi in *eterometaboli* e *olometaboli*. I primi possono predare sia da ninfe sia da adulti e quindi si nutrono in questo modo per tutto il corso della loro vita. Gli olometaboli invece non sono sempre predatori poiché hanno uno stadio immobile detto pupa, in cui non si alimentano. Inoltre, in alcuni casi, l'adulto cambia apparato boccale e, di conseguenza, anche la sua alimentazione, non rimanendo quindi predatore per tutta la vita.

I parassitoidi sono insetti che si sviluppano a spese di un altro, portandolo alla morte.

Il termine parassitoide definisce la strategia usata da una specie che, per consentire lo sviluppo della propria progenie, instaura in una fase del proprio ciclo biologico un rapporto di tipo trofico, anatomico e fisiologico con un'altra specie, detta ospite. Quest'ultimo, conseguentemente allo sviluppo del parassitoide, muore. (Colazza et al., 2018).

L'ospite parassitizzato può essere un adulto, una larva o un uovo.

Spesso gli adulti sono buoni volatori e conducono vita libera nutrendosi solitamente di nettare, mentre gli stadi larvali sono privi di organi locomotori ed hanno uno stretto rapporto biotico con la vittima, di cui si nutrono sin dal primo momento di vita.

In base al loro grado di specializzazione nei riguardi delle vittime, gli entomofagi si distinguono in: *monofagi* o specifici se sono in rapporto a individui di una sola specie; *oligofagi* se si evolvono a spese di poche specie; *polifagi* se gli ospiti sono numerosi e appartengono a generi, famiglie e persino ordini e classi diversi. (Viggiani, 1977).

1.2 FITOFAGI DANNOSI SU POMODORO IN COLTURA PROTETTA

Bisogna premettere che le rotazioni colturali sono una basilare misura preventiva per diminuire o contenere gli attacchi di malattie e parassiti specifici. Tuttavia nell'agricoltura odierna ormai industrializzata, la monocoltura e la monosuccessione prendono il posto di sistemi estensivi, favorendo sempre di più la coltivazione in serra e fuori suolo. Spesso i substrati utilizzati sono composti da materiali sterili e le piante sono alimentate e nutrite tramite fertirrigazione. Questo comporta la totale assenza di organismi utili che possono attuare un controllo biologico naturale, favorendo invece la presenza di fitofagi dannosi che vengono spesso rimossi attraverso trattamenti chimici.

In particolare, il pomodoro in serra è suscettibile ad attacchi di diversi fitofagi durante tutto il suo sviluppo. Troviamo parassiti defogliatori nella fase di sviluppo della pianta, nematodi causanti danni all'apparato radicale ed altri organismi dannosi che attaccano prevalentemente il frutto maturo.

Tra i principali fitofagi su pomodoro in coltura protetta che causano danni economici abbiamo al primo posto la Tignola del pomodoro (*Tuta absoluta*), seguita da aleurodidi come le mosche bianche *Trialeurodes vaporariorum* e *Bemisia tabaci*, l'afide *Myzus persicae*, tripidi, acari e nematodi galligeni. Tutti questi contribuiscono a causare gravi perdite se non vengono contenuti rapidamente. Negli anni si è cercato di programmare interventi a calendario riguardanti trattamenti con prodotti di sintesi dannosi a lungo termine per l'ambiente, l'operatore e il consumatore. Per questo motivo si cerca di agire di prevenzione utilizzando anche alcune tecniche di contenimento intraprese con la lotta biologica.

Come sottolinea Vincenzo Cavicchi (marketing Biogard) "Puntiamo a portare alle aziende agricole le più moderne pratiche di difesa con una particolare attenzione alla sostenibilità. Oggi è necessario basare la difesa delle colture su strumenti di biocontrollo sostenibili, integrandoli quando necessario con quelli di sintesi in modo equilibrato."

1.3 MOSCHE BIANCHE

Le mosche bianche appartengono all'ordine Hemiptera. Insieme agli afidi e alle cocciniglie, appartengono alla divisione Sternorrhyncha, formano però la famiglia Aleyrodidae. Le specie più comuni sono la mosca bianca della serra, *Trialeurodes vaporariorum*, e la mosca bianca del tabacco, *Bemisia tabaci*. Entrambe sono diffuse e sono ampiamente paragonabili.

Varie specie sono comuni su una gamma di colture orticole protette e di campo in tutto il mondo. Nelle coltivazioni di pomodoro, il genere *Bemisia* è probabilmente il più dannoso dal punto di vista economico ed è suddiviso in un certo numero di nuove specie.

Le mosche bianche hanno una serie di gravi effetti sulle piante. La loro sola presenza influisce sul valore economico dell'area coltivata.

I principali danni a loro attribuibili riguardano il fatto che secernono copiose quantità di melata su cui cresce una muffa fuliginosa. Sono anche vettori di alcuni virus vegetali molto importanti, tra cui il ricciolo fogliare giallo del pomodoro. La resistenza ai pesticidi è frequente in molte popolazioni e per questo motivo è sempre più richiesta la lotta biologica o integrata.

Anche se la mosca bianca della serra, *T. vaporariorum*, è stata abbastanza comune nelle serre per un certo tempo, è diventata un problema significativo intorno al 1970, specialmente nel pomodoro e nel cetriolo. La mosca bianca del tabacco, *B. tabaci*, si è invece stabilita in Europa nel 1988.

1.3.1 *Trialeurodes vaporariorum*

Questa specie è stata uno dei principali parassiti delle colture orticole e ornamentali nelle serre di tutto il mondo. L'insetto proviene originariamente dall'America tropicale e subtropicale, probabilmente dal Brasile o dal Messico. Centinaia di specie di piante di diverse famiglie servono come ospiti adatti per questa mosca bianca.

Per quanto riguarda lo sviluppo della popolazione, la sua crescita dipende principalmente dalla temperatura e dalla pianta ospite. Tuttavia si adatta meglio alle temperature più basse e ha un alto tasso di mortalità alle temperature più alte.

Le femmine di *T. vaporariorum* iniziano a deporre le uova uno o due giorni dopo essere diventate adulte. Se non si sono ancora accoppiate, tutte le loro uova si sviluppano in maschi. Il rapporto tra i sessi in *T. vaporariorum* è per lo più del 50% di femmine. La durata della vita della mosca bianca adulta può variare da alcuni giorni a più di due mesi.

Non ha uno speciale stadio di svernamento, ma può sopravvivere per qualche tempo su piante con foglie resistenti al freddo mentre le uova possono anche sopravvivere a temperature inferiori allo zero. Poiché solo le larve del primo stadio sono capaci di muoversi su brevi distanze, c'è una distribuzione verticale dei diversi stadi larvali sulla pianta. Dato che gli adulti preferiscono deporre le loro uova sulle giovani foglie nella parte superiore della pianta, le uova e le giovani larve si trovano presso questa zona, mentre gli stadi più vecchi si trovano più in basso.

Le femmine di *T. vaporariorum* depongono le uova sul lato inferiore delle foglie giovani e sono fissate alla foglia con l'aiuto di un corto uncino, tramite il quale il cibo viene preso dalla foglia. Le femmine spesso depositano un certo numero di uova in una sola volta in forma di cerchio, girando sul posto durante la deposizione. Questo accade solo a bassa densità di mosche bianche e quando la superficie della foglia ha una copertura rada di peli. Sulle superfici fogliari pelose le uova sono solitamente depositate singolarmente. Queste ultime sono bianche, ellittiche e di circa 0,25 mm di dimensione. A volte possono essere ricoperte da una polvere cerosa proveniente dalle ali della femmina. Uno o due giorni dopo la deposizione delle uova, queste diventano marroni o nere.

Le larve del primo stadio sono striscianti e quindi in grado di muoversi, mentre le larve del secondo stadio rimangono appiattite sulla foglia.

Nel quarto stadio larvale gli insetti sono dapprima piatti, ma più tardi cambiano la loro forma per diventare un involucro bianco e ovale circondato da un anello di bastoncini cerosi eretti. Questa è la pupa. Durante questa fase, avvengono importanti cambiamenti morfologici, tra cui lo sviluppo dei genitali e la rinnovata crescita di zampe e antenne. Infine, l'adulto emerge dalla pupa attraverso una fessura a forma di T.

Gli insetti adulti sono lunghi circa 1,1 mm e dopo qualche ora si ricoprono di una sostanza cerosa bianca. Questi hanno un apparato boccale perforante ben sviluppato e cominciano a nutrirsi della linfa della pianta con cui si nutriranno per il resto della loro vita (Koppert Biological Systems, 2017).

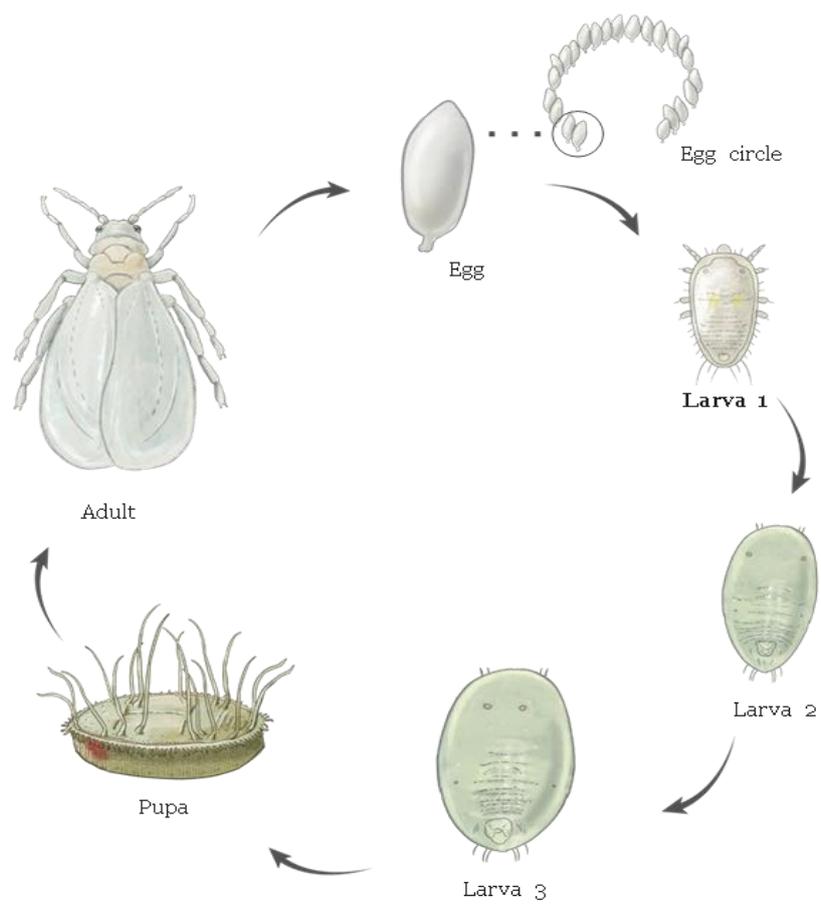


Figura 1 _ *Ciclo di sviluppo delle mosche bianche. (Koppert Biological Systems, 2017)*

1.3.2 *Bemisia tabaci*

Sulla base delle attuali ricerche molecolari, alcuni ricercatori hanno nuovamente affermato che *Bemisia tabaci* è in realtà un complesso di almeno 24 specie morfologicamente indistinguibili. *B. tabaci* sembra essere un insieme di molti biotipi diversi che non differiscono nell'aspetto, ma nella gamma di piante ospiti, nella facilità con cui possono adattarsi a una pianta e nel loro potere di trasmissione del virus.

Lo sviluppo di *B. tabaci* è lo stesso di *T. vaporariorum*: c'è uno stadio di uovo, quattro istanti larvali, l'ultimo spesso chiamato pupa, e l'insetto adulto. L'accoppiamento avviene uno o due giorni dopo la comparsa dell'adulto. Dopo l'accoppiamento, c'è un periodo di pre-ovulazione da uno a tre giorni, dopo il quale inizia la deposizione delle uova.

L'adulto è leggermente più piccolo e più giallo di *T. vaporariorum* (la femmina adulta è leggermente più grande di 1 mm di lunghezza). Alla comparsa, il corpo dell'adulto è di colore giallo e le ali trasparenti, ma dopo diverse ore sia il corpo che le ali sono coperti da una cera bianca. Questa secrezione di cera è meno intensa che nella mosca bianca della serra e il colore del corpo è quindi più giallo.

B. tabaci depone le sue uova sparse su tutta la pianta con il risultato che, a differenza di *T. vaporariorum*, tutte le fasi del ciclo vitale si possono trovare insieme sulla stessa foglia. Le uova sono di colore giallo-verde quando sono appena deposte e diventano gradualmente marrone chiaro. Sono più piccole delle uova di *T. vaporariorum* (in media 0,18 mm) e sono deposte preferibilmente sulla parte inferiore delle foglie.

Le larve del primo stadio sono trasparenti e lunghe circa 0,25 mm. In questo stadio le larve possiedono zampe e antenne ma, dopo un po', si stabiliscono in un posto adatto iniziando a ritrarre parzialmente queste ultime e cominciando a nutrirsi. Il corpo di una larva al secondo stadio è piatto e lungo circa 0,3 mm, mentre quella del terzo stadio è più grande. All'inizio del quarto, la larva è larga e piatta, ma nel corso di questo stadio cambia forma e diventa quasi circolare (circa 0,8 mm di lunghezza) dopo di che è conosciuta come pupa. Nello stadio pupale gli occhi rossi sono chiaramente visibili. Poiché la cuticola pupale è trasparente, è visibile anche il colore giallo della mosca bianca. Questo è lo stadio in cui avvengono gli importanti sviluppi morfologici che portano alla forma adulta.

T. vaporariorum e *B. tabaci* possono essere distinti da diverse caratteristiche durante lo stadio pupale (Figura 2 e 3). In *T. vaporariorum* si può vedere una corona di corti fili cerosi intorno al corpo, che sporgono verso l'esterno. Inoltre in *B. tabaci*, le pupe sono piuttosto larghe e piatte e di

colore trasparente o giallastro, mentre quelle della mosca bianca della serra sono attaccate alla foglia come piccoli astucci ovali bianchi.

B. tabaci è un parassita naturale nelle regioni tropicali e subtropicali, e quindi lo sviluppo è ottimale a temperature abbastanza alte (circa 30°C). Al di sopra di questa temperatura la crescita della popolazione diminuisce rapidamente, e al di sotto dei 16°C si arresta. Con una bassa umidità relativa e una temperatura di 9°C, le larve muoiono e la popolazione si riduce drasticamente. Come riportato nella Tabella 1, a temperature più elevate (circa 30°C), una femmina adulta può vivere per 10-15 giorni, mentre in condizioni invernali, un adulto può vivere per uno o due mesi. Anche senza una pianta ospite, un adulto può sopravvivere diverse settimane a una bassa temperatura, ma che non vada al di sotto degli 0°C.

Oltre alla temperatura, il tempo di sviluppo di *B. tabaci* sembra dipendere anche dalla coltura. Non è solo la specie di pianta ospite che conta, ma anche la qualità nutrizionale della coltura, le condizioni di stress, la bassa intensità della luce, le alte temperature, e gli estremi di umidità relativa.



Figura 2 _ Pupa di *Bemisia tabaci*



Figura 3 _ Pupa di *Trialeurodes vaporariorum*

	20 °C	25 °C	30 °C	35 °C
Tempo di sviluppo (giorni)	39.9	21.6	18.1	23.0
Sopravvivenza dell'adulto (%)	64.6	78.9	58.3	32.2
Capacità riproduttive (uova/ femmine)	105.8	--	127.9	--
Longevità delle femmine (giorni)	24.1	--	11.4	--

Tabella 1 _ Parametri vitali di *B. tabaci* su pomodoro (Koppert Biological Systems, 2017)

	15 °C	20 °C	25 °C
Tempo di sviluppo da uovo ad adulto (giorni)	50.9	33.4	21.0
Sopravvivenza (%)	97.1	98.2	93.5
Ovideposizione (uova/femmina)	106.2	210.7	107.0

Tabella 2 _ Tempo di sviluppo e sopravvivenza di *T. vaporariorum* su pomodoro (Koppert Biological Systems, 2017)



Figura 4 _ *Stadio giovanile di mosca bianca appena emerso*



Figura 5 _ *Adulto di mosca bianca*



Figura 6 _ *Larva di mosca bianca*

1.3.3 Danni alla coltura

Le larve di mosca bianca hanno bisogno di molte sostanze nutritive per la crescita, e quindi consumano una grande quantità di linfa vegetale. Questa contiene un'alta percentuale di zucchero e l'eccesso viene espulso sotto forma di melata. Le conseguenze possono essere molteplici.

La prima è che se la popolazione è molto grande, nutrendosi della linfa della pianta può influenzare la fisiologia di essa, come risultato la crescita è ritardata. In pieno sole, le foglie possono appassire e cadere. Questi danni alle foglie possono a loro volta influenzare lo sviluppo dei frutti e portare a una riduzione della resa. Altra conseguenza è che la melata depositata sul frutto lo rende appiccicoso. Lo sporco aderisce ad esso e la crescita di muffe fuliginose (*Cladosporium* spp.) è incoraggiata rendendo la frutta invendibile. Queste muffe si sviluppano anche sulle foglie, riducendo la fotosintesi e la traspirazione.

Una delle conseguenze più gravi è la trasmissione di virus da una pianta all'altra. Sia *T. vaporariorum* che *B.tabaci* sono noti per trasmettere virus. Il più conosciuto sul pomodoro è TYLCV (virus dell'accartocciamento fogliare).

Tutti questi danni sono provocati da entrambe le mosche bianche. Tuttavia *B. tabaci* presenta altri effetti patologici associati ad essa. Le larve iniettano enzimi nella pianta che alterano i suoi normali processi fisiologici. In alcune piante ospiti, questo può causare danni, tra cui una maturazione irregolare nei pomodori in cui i frutti possono mostrare una colorazione irregolare, con macchie verdi o gialle. Questi frutti non si colorano uniformemente (Figura 7). Il frutto rimane duro e con un sapore acido, e anche la colorazione interna è ritardata.



Figura 7 _ Danni alla frutta da *Bemisia tabaci*, maturazione irregolare

2. SCOPO DELLA TESI

Lo scopo del presente lavoro è stato quello di esaminare l'efficacia di *Macrolophus pygmaeus* nel controllo di aleurodidi e la sua capacità di insediamento. Il miride in questione, durante la sperimentazione, è stato nominato "Macrolophus Plus" proprio perché è stato creato selezionando i suoi ceppi più adatti all'ambiente della serra. La sfida è stata quella di monitorare il suo insediamento su pomodoro da industria in coltura protetta di un'azienda a regime convenzionale che impiega regolarmente fungicidi con conseguenti effetti collaterali sulle popolazioni di *M. pygmaeus*.

È stata valutata la capacità di biocontrollo esercitata dal miride su *B. tabaci* e *T. vaporariorum* ed è stata paragonata infine a quella esercitata da un altro miride: *Nesidiocoris tenuis* al fine di verificare se *M. pygmaeus* ha una buona efficacia rispetto a *N. tenuis* e se può essere un buon sostituto di quest'ultimo.

Questo perché *N. tenuis* tende ad essere eccessivamente vorace e ad eliminare la sua preda velocemente e, una volta esaurita la risorsa principale, inizia a nutrirsi della linfa della pianta, creando piccole aree necrotiche puntiformi dovute alle punture di suzione. In particolare, attraverso lo stiletto, succhia la linfa nella zona del peduncolo, causando una suberificazione di quest'ultimo e una cascola del frutto o, in alcuni casi, dell'intero grappolo, portando a una perdita di produzione.

M. pygmaeus invece è meno aggressivo ed esercita un'azione di biocontrollo anche su altri fitofagi dannosi presenti nell'ambiente come uova di lepidotteri (*Tuta absoluta*), afidi, acari e larve di agromizidi, utilizzandoli come fonte di cibo secondaria.

3. MATERIALI E METODI

3.1 AREALE DI INDAGINE

La sperimentazione è stata svolta presso l'Azienda Agricola San Maurizio nel paese di Merlino (Lat. 45° 26' 03" N, Long. 9° 25' 51" E) in provincia di Lodi. Questa azienda si occupa di coltivazione di pomodoro da industria in coltura protetta a regime convenzionale ma vuole puntare ad un impatto tendente allo zero e per questo si è approcciata alla lotta biologica, rivolgendosi a Koppert Italia.

La prova è stata svolta su una superficie di 7000 m². Nell'impianto sono presenti 9500 piante di pomodoro varietà "Sweetelle" innestata su "Maxifort" ognuna delle quali ha tre teste produttive per un totale di 28500 teste in produzione.



Figura 8 _ *Sito in cui è stata svolta la sperimentazione*

3.2 ANTAGONISTI NATURALI USATI NELLA SPERIMENTAZIONE

3.2.1 *Nesidiocoris tenuis*

Nesidiocoris tenuis (Fam. Miridae) è un predatore generalista e può contribuire al controllo di alcuni insetti dannosi nutrendosi di uova e larve di lepidotteri, mosche bianche ed altri parassiti. Nella coltura del pomodoro è particolarmente efficace nel biocontrollo di *Tuta absoluta* perché è un suo ottimo predatore, ma risultati estremamente vantaggiosi li abbiamo anche su *Bemisia tabaci*.

N. tenuis è ampiamente utilizzato come agente di controllo biologico delle mosche bianche e di altri parassiti nei pomodori coltivati in serra. Di solito viene rilasciato in modo incrementale alcune settimane dopo il trapianto e ha bisogno di diverse settimane per stabilirsi. Il rilascio di *N. tenuis* prima del trapianto potrebbe accelerare il suo insediamento. Tuttavia, i tempi di liberazione potrebbero influenzare il controllo biologico e richiedere cambiamenti nei tassi di rilascio del predatore. Poiché *N. tenuis* è anche fitofago, deve essere rilasciato a un tasso che fornisca il miglior equilibrio tra un adeguato controllo biologico di *B. tabaci* e un danno accettabile al raccolto (Calvo et al., 2012).

Il ciclo vitale di *N. tenuis* attraversa uno stadio di uovo, cinque stadi ninfali e l'insetto adulto. Gli adulti sono lunghi 3-4 mm con zampe e antenne sottili. Gli insetti sono verdi ad eccezione di alcuni segni grigio-neri presenti anche su tutti i segmenti dell'antenna. Le ali anteriori sono trasparenti, con un motivo di macchie grigie. *N. tenuis* ha grandi occhi composti emisferici rosso-marroni che sono chiaramente visibili ai lati della testa. L'insetto ha un apparato boccale perforante con cui si nutre delle sue prede. Le femmine hanno un addome ampio e arrotondato, all'interno del quale è visibile l'ovopositore. I maschi sono leggermente più piccoli delle femmine e hanno un addome sottile. Le femmine depongono le uova nelle nervature delle foglie più vecchie, negli steli delle foglie e nei frutti. Le ninfe di primo e secondo stadio sono di colore giallo-verde mentre quelle più anziane sono di un verde simile agli adulti.

Il tempo di sviluppo dalle uova all'adulto varia da 14 giorni a 35°C a 92 giorni a 15°C. Una temperatura costante superiore ai 40°C è letale per *N. tenuis*. L'intervallo di temperatura ottimale va dai 20 ai 30°C. *N. tenuis* non è in grado di andare in diapausa e non sopravvive bene alle basse temperature. La temperatura di soglia per lo sviluppo è intorno ai 12°C.

A 5°C, le ninfe non sopravvivono più di 22 giorni, e a 15°C, solo il 52% delle ninfe sopravvive da adulto. Non ci si aspetta quindi che gli insetti sopravvivano all'inverno in un clima temperato.

Le femmine iniziano a deporre le uova entro pochi giorni dall'ultima muta. A 22°C, le femmine depongono in media 5 uova al giorno. La fecondità totale nelle prime tre settimane è di 60-80 uova per femmina a temperature tra 20 e 35°C (Madbouni et al., 2017).

N. tenuis è molto generalista, tuttavia, se la sua densità di popolazione è troppo elevata o se non ci sono più prede disponibili, possono nutrirsi solo di linfa vegetale. Il consumo della linfa delle piante però può causare gravi danni al pomodoro. Il danno è direttamente correlato alla densità del predatore e alla temperatura, e inversamente correlato alla densità della preda. Ad alte densità di questi insetti, le uova sono spesso raggruppate, formando un anello intorno ai giovani germogli delle piante o intorno agli steli dei fiori, chiamato "anello necrotico", causando l'aborto dei giovani germogli e dei fiori (Juracy et al., 2014).

3.2.2 *Macrolophus pygmaeus*

Questo insetto è un predatore che appartiene alla famiglia Miridae ed è ampiamente distribuito in Europa. Si trova principalmente su Solanacee, in particolare pomodoro e tabacco, ma anche su altre colture. *M. pygmaeus* è un generalista, ma mostra una chiara preferenza per la mosca bianca. L'insetto può presentarsi spontaneamente nelle colture di pomodoro coltivate in tunnel e ne assicura un controllo efficace. In Europa, la specie è stata utilizzata per il controllo biologico della mosca bianca, specialmente nel pomodoro, dal 1994 (Brevault et al., 2016).

Il ciclo di vita di *M. pygmaeus* consiste in uno stadio di uovo, cinque istanti ninfali e l'insetto adulto. Le femmine adulte sono lunghe 3,0-3,6 mm e hanno un grande addome arrotondato all'interno del quale è visibile l'ovopositore. La grandezza dei maschi invece si aggira tra 2,9-3,1 mm e presentano una corporatura un po' più piccola rispetto a quella delle femmine con un addome sottile. Gli insetti sono verde chiaro, tranne che per alcune piccole macchie nere (il primo segmento delle antenne e una striscia dietro gli occhi). La prima parte delle ali anteriori è di un verde trasparente e morbido con una piccola macchia nera al centro, mentre la parte posteriore è incolore con una vaga marcatura marrone. *M. pygmaeus* ha grandi occhi composti emisferici marroni rossastri che sono chiaramente visibili ai lati della testa. L'insetto ha un apparato boccale perforante-succhiante con il quale svolge l'azione di predatore. Le femmine depongono le uova nelle vene delle foglie più vecchie, nei gambi delle foglie e nello stelo principale. Le ninfe del primo e secondo stadio sono di colore giallo-verde. Le ninfe più vecchie sono di un verde simile a quello

degli adulti, ma mancano i segmenti neri delle antenne e la striscia nera dietro gli occhi. Inoltre nelle ninfe più vecchie iniziano ad essere visibili gli abbozzi alari (Perdikis et al., 2014).

La crescita della popolazione dipende in particolare dalla temperatura, ma anche l'ambiente e l'offerta di cibo giocano un ruolo importante. L'insetto ha un lento sviluppo e ci vogliono almeno 10 giorni perché le uova si schiudano, e almeno altri 19 giorni prima che l'adulto emerga dall'ultima muta. L'accoppiamento avviene entro tre giorni dall'ultima muta e circa sei giorni dopo l'accoppiamento vengono deposte le prime uova. La capacità di deporre le uova dipende dalla temperatura e dalla disponibilità di cibo, e varia enormemente da un individuo all'altro. A 20°C, le femmine possono deporre una media di 270 uova, pari a quattro o cinque uova al giorno. A 25°C, viene deposta una media di 120 uova.

M. pygmaeus sverna su diverse piante ospiti, principalmente allo stadio di uovo, e resiste bene alle basse temperature. Le ninfe possono tollerare una temperatura di 6°C per un mese.

Tuttavia, in autunno, una popolazione di *M. pygmaeus* può crollare completamente a causa dell'infezione da Entomophthorales, un fungo entomopatogeno che può presentarsi naturalmente nelle serre (Martinou et al., 2013).

La temperatura di soglia per lo sviluppo del miride è tra i 10-15°C. A 10°C, lo sviluppo si ferma e le temperature superiori ai 40°C sono letali per le ninfe. La temperatura influenza anche la schiusa delle uova. A basse temperature, le uova non si schiudono per almeno due mesi, il che non è sorprendente dato che *M. pygmaeus* sverna nello stadio di uovo.

In condizioni di laboratorio di clima costante e fornitura ottimale di cibo, la durata della vita delle femmine varia da 90 giorni a 10-20°C, a 40 giorni a 25-30°C. Nelle stesse condizioni, i maschi vivono più a lungo delle femmine. Il rapporto tra i sessi è di circa il 50% di femmine (Tabella 3).

M. pygmaeus si nutre ugualmente bene di *T. vaporariorum* e *B. tabaci*. Tutti gli stadi della mosca bianca vengono mangiati, ma la preferenza è per le uova e le larve. Un miride adulto può consumare 30-40 uova di mosca bianca al giorno e 15-20 pupe. La modalità di azione con cui preda consiste nel succhiare il contenuto del corpo lasciando solo la cuticola vuota. Questa a volte collassa, ma di solito viene lasciata completamente intatta.

La deposizione delle uova varia da un giorno all'altro ed è correlata positivamente all'offerta di cibo. Anche se *M. pygmaeus* preferisce nutrirsi di mosche bianche, si ciba persino di afidi, acari, uova di tarme e piccoli bruchi, così come le larve di minatori fogliari tra cui *Tuta absoluta*.

Con una dieta a base di afidi, le femmine depongono meno uova rispetto a quando hanno una fornitura di mosche bianche. Quando hanno esclusivamente acari come fonte di cibo, vengono deposte ancora meno uova. Quando nessuna preda è disponibile, possono nutrirsi solo di linfa

vegetale e la deposizione delle uova continua per qualche tempo, anche se ad un tasso molto più basso.

Sebbene la linfa delle piante sia necessaria per lo sviluppo di una popolazione di *M. pygmaeus*, essa è insufficiente per il pieno sviluppo. Quando le femmine sono in grado di nutrirsi solo di linfa vegetale, depongono molte meno uova e le ninfe muoiono. Il consumo della linfa delle piante, tuttavia, può causare danni alle colture come alcune varietà di pomodoro. Le condizioni che promuovono l'insorgenza di tali problemi includono una carenza di prede, un'alta popolazione di insetti (più di 100-150 individui per pianta) e alcune varietà di piante come i tipi più delicati di pomodoro.

Le ninfe e gli adulti possono muoversi molto rapidamente. Gli adulti si trovano principalmente nei germogli in crescita e lungo gli steli. Sono anche buoni volatori e sono quindi in grado di disperdersi con facilità. Le ninfe si trovano principalmente sul lato inferiore delle foglie. Gli insetti hanno una buona vista e mostrano un comportamento di ricerca altamente diretto.

Quando trovano una preda adatta, la forano con l'apparato boccale e ne succhiano il contenuto. Gli insetti inoltre sembrano non avere problemi con i peli ghiandolari del pomodoro, il che rende più semplici i loro spostamenti.

	10 °C	15 °C	20 °C	25 °C	30 °C	preda
Tempo di sviluppo (giorni)						
Uova	--	36.9	18.3	11.4	10.6	T. vaporariorum
Ninfe	257	57.8	29.4	18.9	18.7	
totali		94.7	47.7	30.3	29.3	
Mortalità (%)						
Ninfe	41.4	13.8	15.4	11.8	46.4	T. vaporariorum
Ovideposizione						
Uova/femmina	23	151	268	122	87	Uova di Ephestia kuehniella
Durata della vita						
Femmina	94	111	85	40	40	Uova di Ephestia kuehniella
Maschio	210	123	116	79	53	

Tabella 3 _ Sviluppo della popolazione di *M. pygmaeus* a temperature differenti con un'umidità relativa al 60-70% su pomodoro (Koppert Biological Systems, 2017)

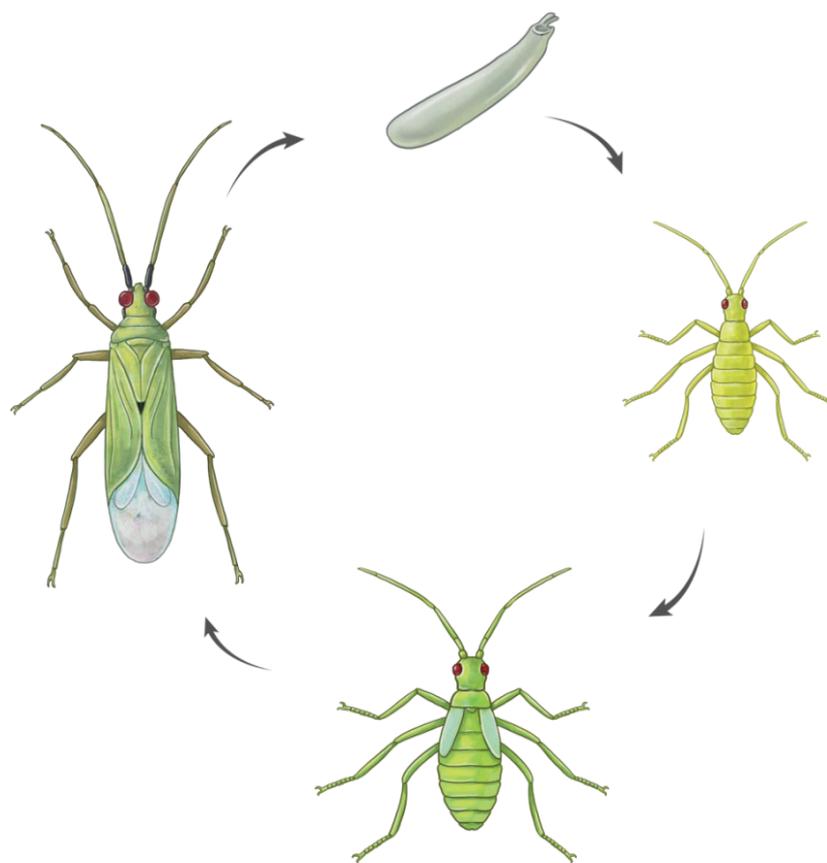


Figura 9 _ Ciclo di sviluppo di *M. pygmaeus*. È un insetto eterometabolo, pertanto le forme giovanili sono simili all'adulto tranne che per le dimensioni e per la presenza delle ali (Koppert Biological Systems, 2017)



Figura 10 _ *Adulto di M. pygmaeus*



Figura 11 _ *Stadio giovanile di M. pygmaeus*



Figura 12 _ *Stadio giovanile di M. pygmaeus*

3.3 SVOLGIMENTO DELLA SPERIMENTAZIONE

La sperimentazione è stata eseguita su una superficie di 7000 m^2 con una coltivazione in fuori suolo in serre riscaldate.

I trapianti sono stati eseguiti il 28 gennaio e la raccolta è iniziata ad aprile, con una scalarità che procederà fino a fine settembre. I primi inserimenti di *M. pygmaeus* sono stati eseguiti il 9 marzo, periodo durante il quale la temperatura della serra è stata mantenuta circa costante a 19°C giornalieri tramite riscaldamento artificiale.

L'introduzione di *N. tenuis* invece è avvenuta il 23 marzo in un'altra serra della medesima azienda con la stessa superficie della precedente.

Sono diversi i fattori che potrebbero potenzialmente giocare un ruolo nello sviluppo della popolazione dell'insetto e che pertanto vanno tenuti in considerazione durante la sperimentazione.

- l'uso di pesticidi dei quali è necessario tenere traccia riguardo al prodotto utilizzato e la sua frequenza di applicazione.
- La resistenza della popolazione al confezionamento e al trasporto, in particolare per quanti giorni e a quale temperatura può essere conservato e trasportato prima dell'applicazione in serra.
- Il metodo di dosaggio (Tabella 5) che riguarda la dose/tasso usato per l'introduzione di *M. pygmaeus* nella coltura e quindi il numero di individui per m^2 .

3.3.1 integrazione alimentare

L'integrazione alimentare può giocare un ruolo importante nell'insediamento di *M. pygmaeus* nelle colture. Perciò è necessario registrare l'eventuale integrazione alimentare e la strategia di utilizzo. L'integrazione alimentare può essere applicata a tutto campo e distribuita in modo uniforme, ma può anche essere distribuita a macchie. Dal momento che *M. pygmaeus* depone le uova vicino a fonti di cibo, ci può essere un'alta variabilità nella densità delle ninfe quando l'integrazione alimentare non è distribuita uniformemente in tutta la serra.

Nella sperimentazione è stato utilizzato un "Entofood" ovvero un'alimentazione supplementare in caso di mancata presenza di prede e fonti di cibo naturali per *M. pygmaeus*. Durante il mese di

marzo, dopo un calo di popolazione del miride, sono state distribuite due dosi di cibo supplementare rispettivamente da 300 gr ciascuna. L'Entofood è stato distribuito localmente nei punti di lancio dell'insetto per poterne garantire un rapido utilizzo e una disponibilità immediata. L' Entofood è composto da uova sterili di *Ephestia kuehniella* (50 gr) e *Artemia spp.* (250 gr) delle quali il miride si può nutrire sia da giovane che da adulto.



Figura 13 _ *Integrazione alimentare*



Figura 14 _ *Entofood a base di uova sterili di E. kuehniella e Artemia spp.*

3.3.2 clima della serra

Il clima in serra è uno dei fattori principali che influenzano la popolazione di *M. pygmaeus* e il suo sviluppo. Nella Tabella 3, come già accennato nella descrizione della biologia dell'insetto, si può vedere che a 20°C (60%-75% UR) lo sviluppo da uovo-adulto è più o meno 48 giorni. A 25°C il tempo totale di sviluppo è circa di 30 giorni. Poiché la temperatura e l'umidità relativa possono fare una così grande differenza nella durata dello sviluppo della popolazione, è essenziale registrare temperatura e umidità dell'intera prova di modo che il risultato finale può essere meglio comparato. Inoltre, poiché questo monitoraggio avrà luogo in diversi paesi, ci si aspetta che le serre avranno temperature e umidità relative diverse.

Nella sperimentazione eseguita presso l'Azienda Agricola San Maurizio la temperatura nelle prime settimane è risultata essere sempre inferiore ai 20°C comportando un difficile e lento insediamento del miride. Nella tabella 4 vediamo riportati i dati relativi alle condizioni climatiche all'interno della serra utilizzata nella sperimentazione al passare delle settimane del monitoraggio.

	Temperatura giorno	Temperatura notte	Temperatura media 24h	Umidità giorno	Umidità notte
Settimana 1	19.5	14.8	17.1	89.3	97.9
Settimana 2	21.8	15.1	19.0	80.3	91.3
Settimana 3	19.6	14.1	17.3	84.7	94.7
Settimana 4	21.1	14.7	18.5	81.9	93.3
Settimana 5	22.5	15.4	18.6	81.6	91.7
Settimana 6	20.8	13.3	16.8	74.4	91.1
Settimana 7	21.1	13.5	17.4	74.4	91.1
Settimana 8	20.2	14.18	17.9	79.1	97.1
Settimana 9	24.15	16.70	21.35	68.50	88.50
Settimana 10	25.20	19.72	23.14	64.40	78.20

Tabella 4 _ Parametri climatici della serra usata per la sperimentazione. Rispettivamente è stata tenuta traccia della temperatura e dell'umidità, parametri utili per analizzare l'insediamento di *M. pygmaeus*.

3.4 MONITORAGGI E LANCI SETTIMANALI DI *MACROLOPHUS PYGMAEUS*

Al giorno zero sono stati rilasciati 3500 individui di *M. pygmaeus* nella serra. Al momento del rilascio le femmine hanno iniziato a deporre le uova nel tessuto della pianta. Da quel momento in poi ogni settimana in un giorno fisso è stato registrato il numero di ninfe di *M. pygmaeus*, il numero di adulti, le specie e il numero di fitofagi, e l'uso di cibo supplementare. Le settimane di monitoraggio sono state divise in due parti: nella prima parte è stato osservato l'insediamento di *M. pygmaeus* sulla coltura di pomodoro nelle zone di rilascio, mentre nella seconda parte è stata osservata la sua dispersione. Per l'insediamento ogni settimana i fattori sopra menzionati sono stati registrati per 20 piante di pomodoro scelte casualmente per compartimento all'interno dell'area di rilascio iniziale. Sono stati contati tutti gli individui presenti nella pianta.

Per la dispersione del miride sono stati registrati gli stessi fattori, tuttavia questa volta sono state selezionate 10 piante scelte in maniera casuale all'interno dell'area di rilascio iniziale e 10 piante scelte allo stesso modo al di fuori dell'area di rilascio.

In base a quanto studiato, durante il monitoraggio è importante tenere presente che le ninfe si trovano più frequentemente nella pagina fogliare inferiore. Al contrario, gli adulti si trovano spesso sulle estremità della pianta probabilmente a causa di una maggiore presenza di mosca bianca.

Lanci

Nella serra di 6500 m² coltivabili dove si è eseguita la sperimentazione, il miride è stato distribuito su 7 file in tre punti per ogni fila. Sono stati eseguiti 5 lanci totali da 3500 individui ciascuno e ogni lancio è stato svolto nei medesimi punti per avere un confronto più rapido e una stima più precisa dell'insediamento del miride.

Durante la sperimentazione sono stati eseguiti anche due lanci di *Encarsia formosa*, un parassitoide della mosca bianca, per effettuare un rapido controllo durante le prime infestazioni del fitofago. Tale intervento non è stato monitorato perché non facente parte della sperimentazione eseguita.

Monitoraggio

Il tempo di conteggio medio è stato di 3 ore (circa 10-15 minuti per pianta). Il monitoraggio è stato eseguito settimanalmente osservando 20 piante di 9500 scelte in modo randomizzato nell'impianto con il seguente schema:

Giorno 0 = giorno di rilascio sulle aree identificate

Giorno 7 = primo conteggio all'interno dell'area di rilascio

Giorno 14 = secondo conteggio all'interno dell'area di rilascio

Giorno 21 = terzo conteggio all'interno dell'area, le prime larve dovrebbero essere emerse

Giorno 28 = quarto conteggio nell'area di rilascio

Giorno 35 = quinto conteggio all'interno dell'area di rilascio, sopra la media di 20°C si sono sviluppati i primi nuovi adulti

Giorno 42 = sesto conteggio all'interno dell'area di rilascio

Giorno 49 = settimo conteggio all'interno dell'area di rilascio, intorno ai 25°C si nota un'alta presenza di giovani miridi

Giorno 63 = conteggio di 10 piante all'interno dell'area di rilascio + 10 piante all'esterno

Giorno 91 = conteggio di 10 piante all'interno dell'area di rilascio + 10 piante all'esterno

	preventivo	curativo
Specie utilizzate	<i>M. Pygmaeus</i>	<i>M. Pygmaeus</i> + <i>E. formosa</i>
Individui (numero)	3500	3500 (M) + 15000 (E)
Numero di interventi	4	1 (M) + 2 (E)
Intervallo di tempo (giorni)	7	14

Tabella 5 _ Dosaggio utilizzato per l'introduzione di *M. pygmaeus* ed *E. formosa*



Figure 15 e 16 _ *Introduzione di M. pygmaeus su pomodoro. Gli insetti sono contenuti in barattoli con materiale inerte come segatura e semi di grano saraceno che mantengono arieggiato il microambiente evitando la formazione di un'eccessiva umidità.*



Figura 17 _ Larva di mosca bianca parassitizzata da *E. formosa* perché ha assunto un colore nero



Figura 18 _ Introduzione di *E. formosa*



Figura 19 _ Adulto di *E. formosa*

4. RISULTATI

4.1 INSEDIAMENTO DI GIOVANI E ADULTI DI *MACROLOPHUS PYGMAEUS*

Durante l'intero monitoraggio, durato dieci settimane, ho tenuto traccia dello sviluppo e dell'insediamento di *M. pygmaeus*. Dai risultati emerge un calo del miride durante la quarta e la quinta settimana e un aumento dei giovani rispetto agli adulti durante la nona settimana, probabilmente dovuto all'inizio di temperature più elevate (grafico 1).

Nelle ultime due settimane di conteggio, il numero totale degli individui è calato. Questo perché è stato monitorato al 50% all'interno dell'area di rilascio (anziché al 100% come nelle settimane precedenti) e al 50% all'esterno dell'area dove la presenza del miride era ovviamente inferiore.

I rilasci di *M. pygmaeus* sono stati eseguiti al giorno zero e ripetuti durante la prima, seconda, terza settimana (intervento preventivo) e uno durante la quinta settimana (intervento curativo per l'inizio di insorgenza di mosca bianca sulla coltura).

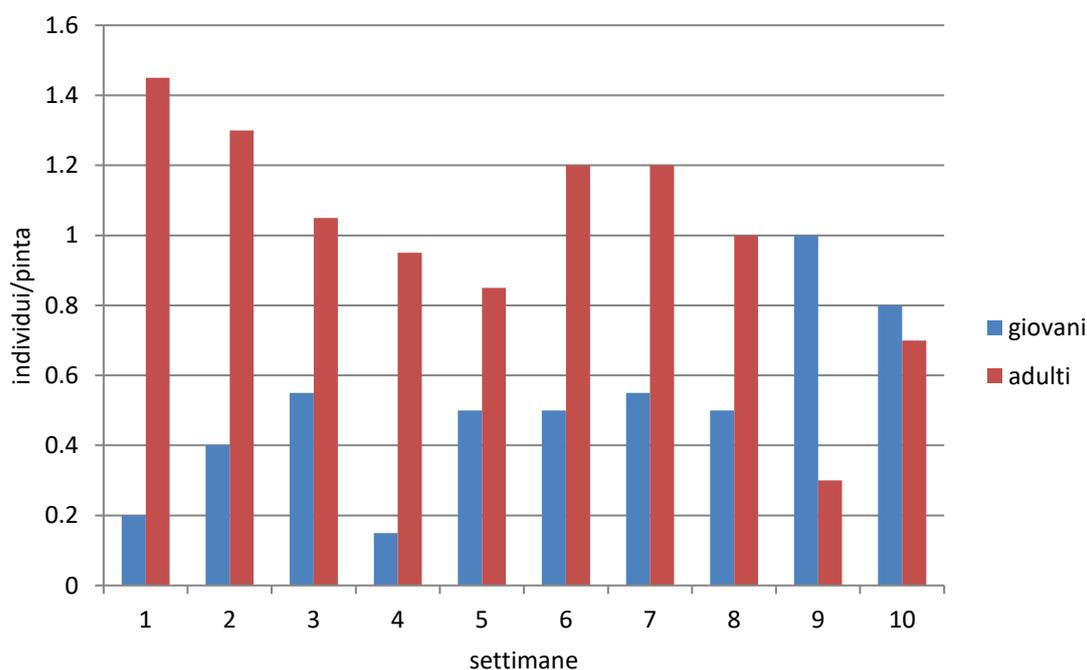


Grafico 1_ Numero medio di giovani e adulti di *M. pygmaeus* sulla coltura (dati raccolti personalmente durante i conteggi settimanali del miride)

4.2 ANDAMENTO DELLA POPOLAZIONE DI *MACROLOPHUS PYGMAEUS* IN RELAZIONE AI PARAMETRI AMBIENTALI DELLA SERRA

Notiamo che, con l'aumento della temperatura, è aumentato anche il numero di individui. L'umidità relativa invece non ha avuto alcuna influenza sullo sviluppo del miride ma solo sugli attacchi fungini di peronospora in serra la quale è stata contenuta con alcuni trattamenti mediante anticrittogamici che hanno ridotto anche la popolazione di *M. pygmaeus*.

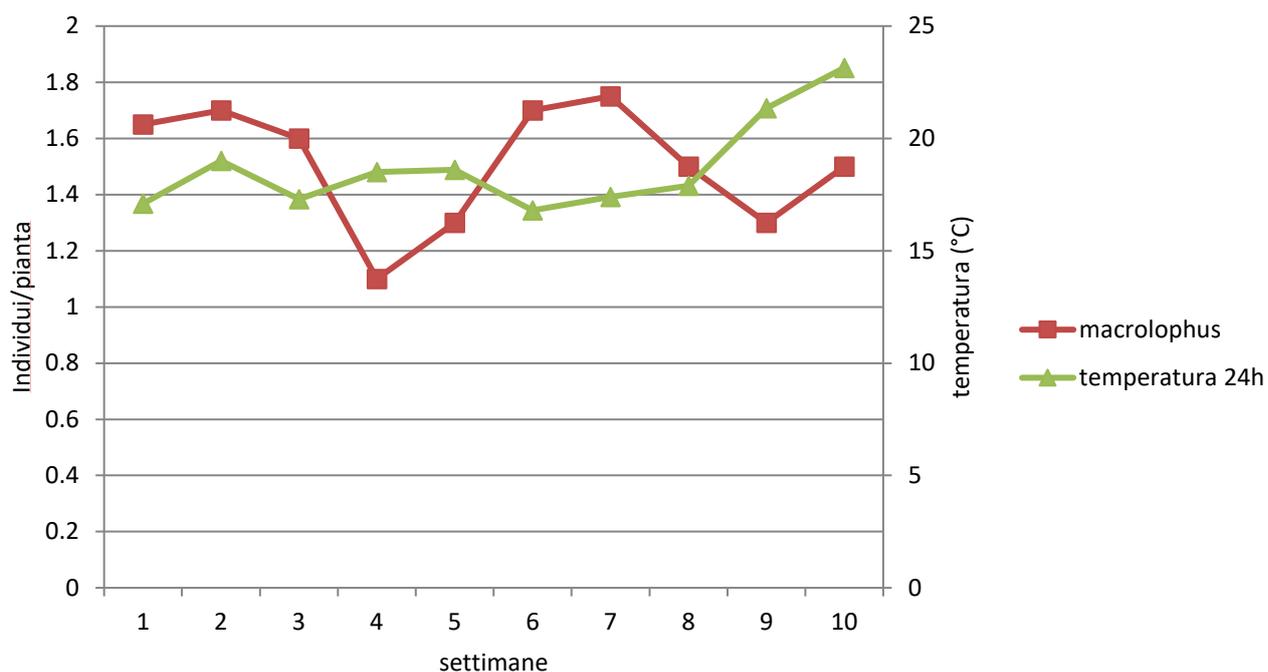


Grafico 2 _sviluppo di *M. pygmaeus* in relazione alla temperatura media di 24 ore presente nella serra dove è stato inoculato il miride.

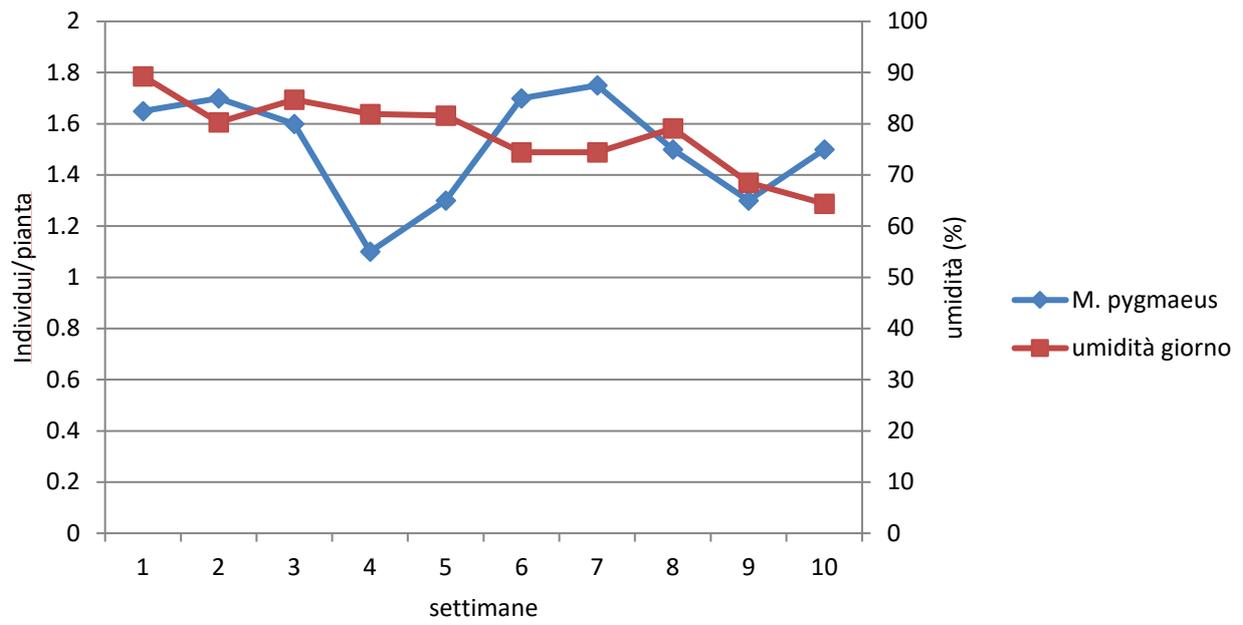


Grafico 3 _ Sviluppo di *M. pygmaeus* in relazione all'umidità giornaliera presente in serra

4.3 RELAZIONE TRA LO SVILUPPO DI *MACROLOPHUS PYGMAEUS* E LA PRESENZA DI ALEURODIDI

Dall'inizio del mese di aprile sono stati avvistati i primi individui di aleurodidi in serra. Dalla quarta settimana del monitoraggio è iniziato anche il conteggio di mosca bianca per valutare gli effetti di contenimento da parte del miride.

I conteggi per gli aleurodidi sono stati eseguiti solo sulle due file infestate per un totale di 10 piante (5 per fila).

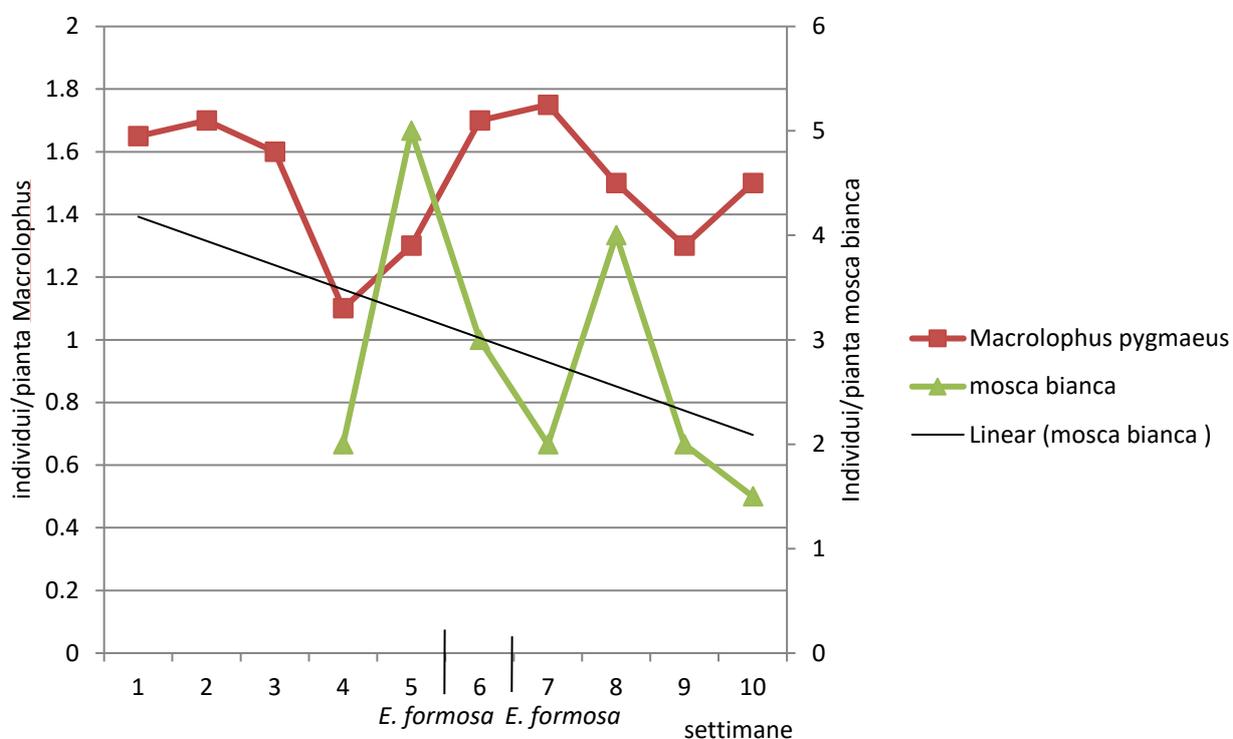


Grafico 4 _ Effetto di biocontrollo che *M.pygmaeus* ha esercitato sullo sviluppo di mosca bianca.

4.4 CONFRONTO TRA *NESIDIOCORIS TENUIS* E *MACROLOPHUS PYGMAEUS*

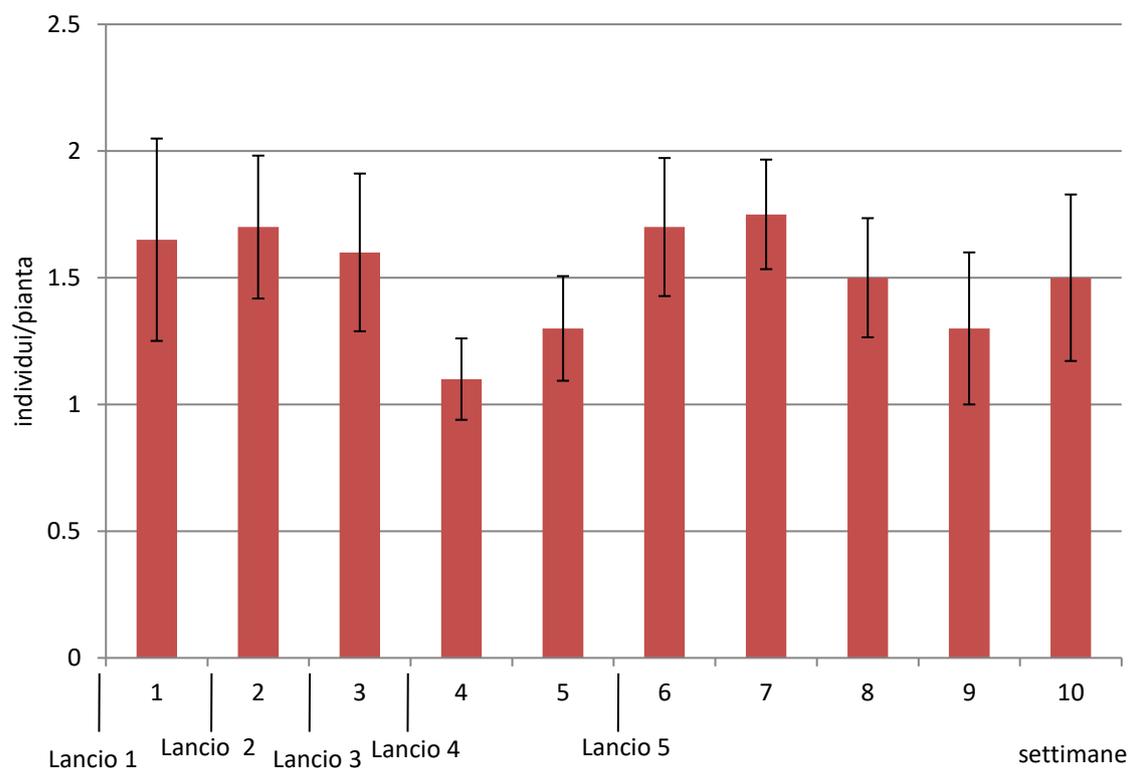


Grafico 5_ Andamento medio relativo alla presenza di *M. pygmaeus* rilevato durante le settimane di monitoraggio sulla pianta ospite. Notiamo che dopo il lancio numero 5 segue un incremento di individui.

Alla settimana 4 notiamo un calo importante del miride dovuto al trattamento con un prodotto fungicida e ad un abbassamento delle temperature (Grafico 3).

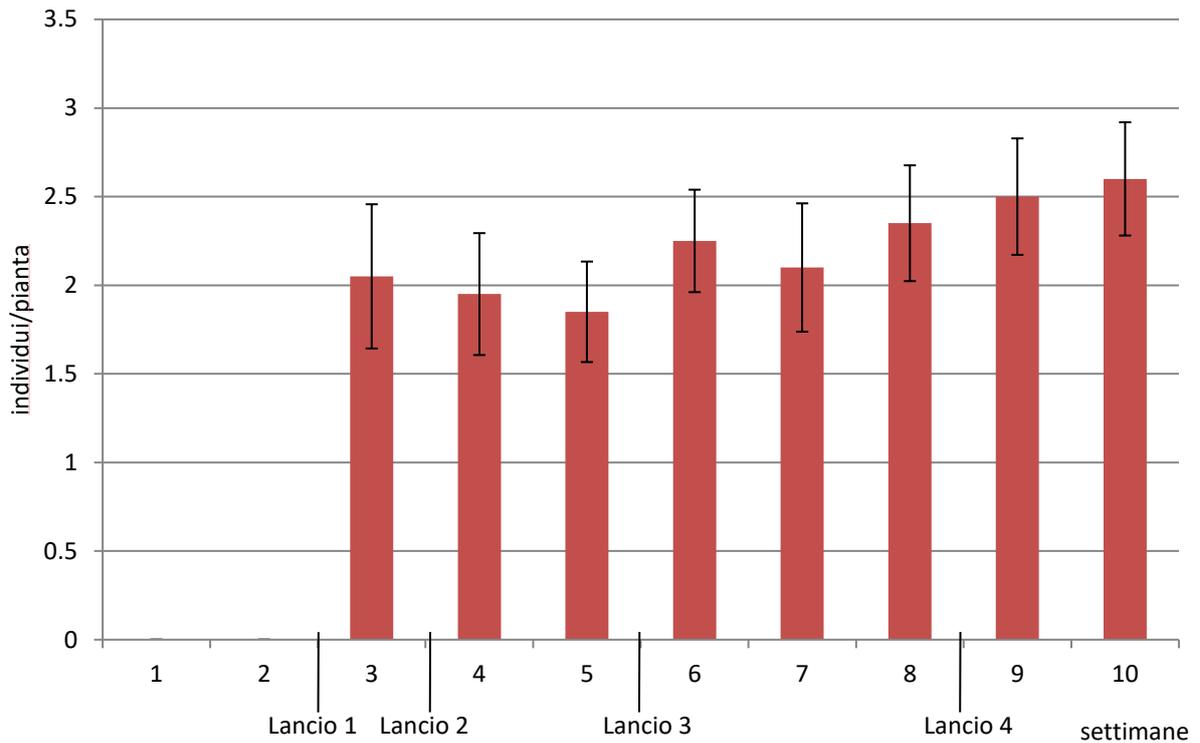


Grafico 6 _ Andamento medio *N. tenuis* inoculato in un'altra serra

Sono stati eseguiti quattro lanci di *N. tenuis* e sono stati effettuati a partire dalla seconda settimana. Ogni lancio è composto da 3500 individui per un totale di circa 2 individui/pianta.

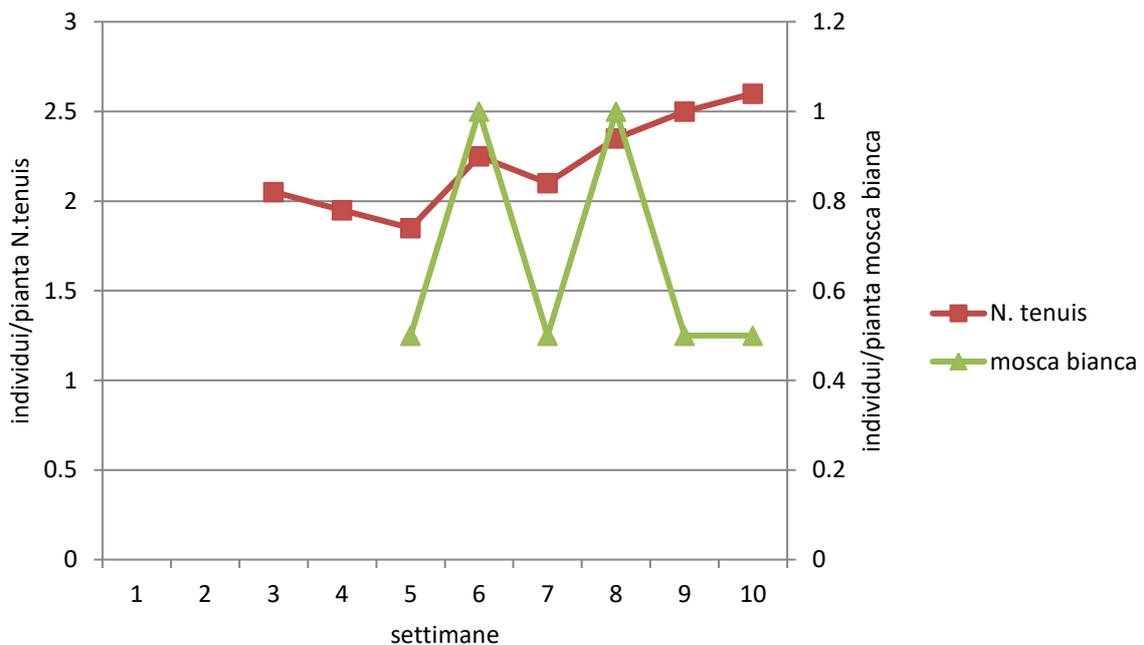


Grafico 7 _ Sviluppo di *N. tenuis* e biocontrollo su aleurodidi in serra

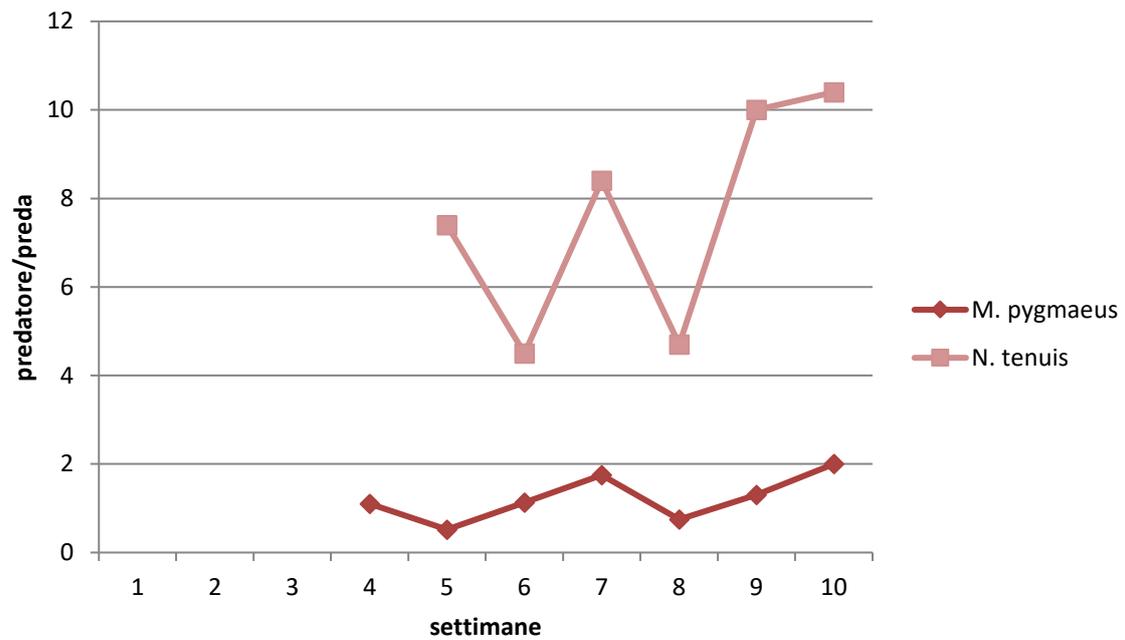


Grafico 8_ Rapporto tra predatore e preda nelle due serre oggetto di liberazione dei miridi (*N. tenuis* e *M. pygmaeus*). Maggiore è il numero sull'asse verticale, maggiore è la presenza dei predatori. Dal grafico si evince che i rapporti sono diversi perché le situazioni iniziali non sono state analoghe data la maggior presenza di aleurodidi nella serra in cui è stato liberato *M. pygmaeus*.

5. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Va premesso che la sperimentazione in oggetto non è conclusa ma continuerà fino a fine settembre, quando la stagione e la coltivazione del pomodoro sarà conclusa. Tuttavia, i dati raccolti consentono di delineare alcune considerazioni.

Sperimentazioni analoghe a quella condotta nel presente lavoro sono in corso di svolgimento dalla biofabbrica Koppert in altre località europee con condizioni climatiche differenti. L'ipotesi di partenza è che la popolazione di *M. pygmaeus* migliorato presenti un più rapido insediamento nella coltura rispetto alla popolazione tradizionale. L'insediamento del nuovo miride sarà monitorato presso diversi coltivatori di pomodoro e in diversi paesi, con o senza un controllo rispetto al vecchio *M. pygmaeus*. Per poter confrontare i risultati del monitoraggio è importante avere un protocollo standardizzato.

Essendo quella in oggetto un'azienda di tipo convenzionale, sono stati numerosi i problemi riscontrati che hanno ostacolato un facile insediamento e sviluppo di *M. pygmaeus*.

Tra questi abbiamo i continui interventi di tipo agronomico quali defogliazione, scacchiatura e raccolta dei pomodori. In particolare le defogliazioni sono state importanti sia per gli attacchi di peronospora sia per liberare i grappoli e facilitare la raccolta e le successive operazioni. Uno dei problemi principali rimane quello dei trattamenti chimici mediante fungicidi contro la peronospora (con Metalaxyl) e i trattamenti settimanali a base rameica che hanno causato un lento sviluppo degli individui durante le prime settimane, quando il miride introdotto si nutre ancora della linfa della pianta data l'assenza della preda.

Meno problematico è stato l'insediamento di *N. tenuis* inoculato in un'altra serra dato che non sono stati eseguiti trattamenti mediante fungicidi impattanti per l'insetto.

I predatori onnivori della famiglia Miridae sono comuni in diversi agroecosistemi (Dolling e Palmer, 1991). In particolare, *M. pygmaeus* e *N. tenuis* sono importanti agenti di controllo biologico contro diversi parassiti come mosche bianche, afidi, acari e il grave parassita invasivo *T. absoluta* su colture di pomodoro. *M. pygmaeus* mostra anche abitudini fitofaghe sviluppandosi con successo e ovideponendo a bassi tassi quando si nutre esclusivamente di foglie di pomodoro (Perdikis et al., 2000). *N. tenuis* può anche nutrirsi di piante ma non può completare lo sviluppo fino ad adulto in assenza di prede. Entrambi i predatori sono stati comunemente segnalati come coesistenti nelle coltivazioni di pomodoro anche se potrebbero innescarsi interazioni competitive tra loro. Per

questo motivo gli insetti sono stati studiati in due diversi ambienti della medesima azienda e sulla stessa coltura.

I dati raccolti nella seguente prova non consentono di rispondere in maniera efficace all'obiettivo posto poiché questo lavoro andrà a sommarsi ad altre prove analoghe effettuate dalla biofabbrica Koppert in altri areali. Tuttavia, le conclusioni tratte da questa elaborazione evidenziano che *M. pygmaeus* può sostituire *N. tenuis* essendo meno dannoso per la coltura anche se i dati raggiunti non consentono una chiara conclusione dato che nell'ambiente di introduzione di *M. pygmaeus* sono stati eseguiti interventi con fungicidi che ne hanno ostacolato lo sviluppo e la conseguente dispersione nell'ambiente in cui è stato introdotto.

Se da un lato la zoo-fitofagia rappresenta un indubbio vantaggio, perché consente al predatore di sopravvivere più a lungo in assenza di prede, dall'altro potrebbe rappresentare un serio problema per le piante. Per esempio, nel controllo biologico degli aleurodidi, è stato messo in evidenza che la presenza di elevate densità di popolazione del predatore *N. tenuis* può comportare perdite significative di produzione, in quanto il predatore, alimentandosi a carico del tessuto vegetale, provoca danni alle giovani foglie sotto forma di aree necrotiche e clorotiche. Per ovviare a questa situazione viene suggerito di distribuire nei punti di introduzione del predatore alimenti alternativi, quali uova devitalizzate di *Ephestia kuehniella*, al fine di migliorare l'insediamento del predatore in situazioni di scarsa disponibilità di prede, riducendone, di conseguenza, la fitofagia (Calvo et al., 2012).

6. APPENDICE

6.1 ENCARSIA FORMOSA

Questo insetto è un parassitoide della mosca bianca ed è stato introdotto durante la sperimentazione per incrementare l'effetto di biocontrollo su aleurodidi insieme a *M. pygmaeus*.

L'Encarsia formosa è un noto e molto usato parassitoide della mosca bianca. Questa vespa parassita proviene da una regione tropicale o subtropicale, ma al giorno d'oggi può essere trovata anche in Europa. Questo insetto è capace di utilizzare varie specie di mosche bianche come ospiti, come *Trialeurodes vaporariorum* e *Bemisia tabaci*. La specie è stata utilizzata come controllo biologico per la mosca bianca nelle serre dal 1972.

La femmina di *E. formosa* è lunga circa 0,6 mm, con una testa di colore da marrone scuro a nero, un torace dagli stessi colori e un addome giallo. Il maschio invece è interamente nero ma quasi mai presente.

Il suo sviluppo consiste di sei stadi: l'uovo, tre istanti larvali, uno stadio pupale e l'insetto adulto. Tutti questi stadi, tranne l'adulto, si trovano all'interno dell'ospite (ovvero le larve e le pupe di mosca bianca). Lo sviluppo dell'uovo ha la stessa durata in ogni stadio e dura circa quattro giorni, ma una vespa parassita non si sviluppa oltre il primo stadio larvale fino a quando l'insetto ospite non raggiunge il quarto stadio larvale. Il tempo impiegato per lo sviluppo della vespa parassita dipende quindi dall'età dell'ospite. Una popolazione di *E. formosa* consiste quasi interamente di femmine e l'accoppiamento non è quindi necessario per la riproduzione dato che le femmine producono prole femminile per partenogenesi. Esse possono deporre circa 150 uova in condizioni ottimali. La durata della vita di una femmina diminuisce rapidamente con l'aumento della temperatura. A 30°C, una femmina vive solo pochi giorni. La durata della vita si allunga sempre se c'è un ospite di cui nutrirsi. Il tempo di sviluppo di *E. formosa* dipende principalmente dall'età dell'ospite attaccato e dalla temperatura. L'umidità relativa è meno importante: tra il 50% e l'85% è ottimale per la crescita della popolazione. A temperature inferiori a circa 12°C, lo sviluppo della vespa parassita si arresta, mentre la temperatura massima per lo sviluppo è di circa 38°C. La vespa opera in modo più efficiente a temperature di 20-25°C, ma è ancora un efficace agente di controllo biologico a temperature inferiori.

La femmina adulta si nutre di melata e dei fluidi corporei delle larve di mosca bianca (alimentazione dell'ospite). Per quest'ultimo, la femmina seleziona una larva, preferibilmente nel

secondo stadio e usa il suo ovopositore per perforarla. La vespa succhia poi il liquido del corpo della mosca bianca da questa apertura, spesso uccidendo la larva come risultato.

Le femmine sono molto brave a rilevare se una larva di mosca bianca è già stata parassitata o meno, ed evitano sempre di parassitare una larva che è già stata parassitata. La femmina può depositare il suo uovo in qualsiasi stadio larvale della mosca bianca, ma preferibilmente seleziona il terzo e il giovane quarto stadio larvale. Questo offre le migliori possibilità di sviluppo. Circa a metà dello sviluppo del parassitoide, la pupa ospite diventa nera. Le pupe parassitate sono quindi facilmente riconoscibili.

Le femmine di *E. formosa* perlustrano il raccolto attivamente ma in modo casuale finché non trovano una larva di mosca bianca. Una volta che questo accade, rimangono nell'area fino a quando la maggior parte delle mosche bianche ospiti sono state parassitate, dopo di che vanno alla ricerca di nuovi ospiti, spesso volando per lunghe distanze. Come risultato di questo comportamento di ricerca molto attivo, piccole aree di mosca bianca nella serra vengono localizzate rapidamente. Nella sperimentazione questo comportamento è stato estremamente utile perché ha permesso di controllare nell'immediato l'invasione di mosca bianca che è partita in un lato ben preciso all'interno della serra.

E. formosa cerca una foglia usando le sue antenne per individuare le larve di mosca bianca. Una volta localizzata, la vespa sonda la larva con le sue antenne per determinare se la larva è adatta ad essere parassitizzata. Il comportamento di ricerca di *E. formosa* è fortemente influenzato dal numero di uova mature presenti: più uova mature ci sono, più attivo è il comportamento di ricerca (Koppert Biological Systems, 2017).

A basse temperature e intensità di luce, il parassitoide è meno attivo. La parassitizzazione avviene ancora, ma in misura molto minore. La percentuale di larve parassitate aumenta con l'aumentare della temperatura, e quindi quando è più fresco in serra, il controllo biologico della mosca bianca è meno efficace che a temperature più alte.

7. RINGRAZIAMENTI

Ringrazio Valentina Manzoni e Francesco Bourlot (Koppert Italia) per avermi permesso di avviare e seguire una sperimentazione e di gestire il rapporto con l'azienda, concordando gli interventi e condividendo i risultati ottenuti.

Ringrazio Tommaso Nava, tecnico aziendale dell'Azienda Agricola San Maurizio, per la disponibilità nel fornire materiale, per avermi concesso un libero accesso all'azienda e per le discussioni formative.

Ringrazio il professore Luca Mazzon per l'aiuto nella realizzazione di una parte del materiale.

Infine, ringrazio Giorgio e Rosella per l'infinita pazienza.

8. BIBLIOGRAFIA

BRÉVAULT T., DIARR K., BEAREZ P., DESNEUX N. – Life history traits of *Macrolophus pygmaeus* with different prey foods, 2016.

CALVO F.J., LORENTE M.J., STANSLY P.A., BELDA J.E. – Preplant release of *Nesidiocoris tenuis* and supplementary tactics for control of *Tuta absoluta* and *Bemisia tabaci* in greenhouse tomato. R & D Department, Koppert Spagna SL, Calle Cobre, University of Florida-IFAS, 2012.

CALVO F.J., BOLCKMANS K., BELDA JE. – Release rate for a pre-plant application of *Nesidiocoris tenuis* for *Bemisia tabaci* control in tomato. Springer, BioControl, 2012.

COLAZZA S., PERI E., LO BUE P. – Lineamenti di entomologia in agricoltura biologica. Demetra, Palermo University Press, 2018.

DOLLING W.R., PALMER J.M. – *Pameridea* (Hemiptera: Miridae): predaceous bugs specific to the highly viscid plant genus *Roridula*. Systematic Entomology, 1991.

HELYER N., CATTILIN N.D., BROWN K.C. – Biological Control in Plant Protection. Taylor & Francis Group, 2014.

JURACY C., LINS JR., VANDA H.P., MARCEL D., JOOP C. – Response of the zoophytophagous predators *Macrolophus pygmaeus* and *Nesidiocoris tenuis* to volatiles of uninfested plants and to plants infested by prey or conspecifics. International Organization for Biological Control (IOBC), 2014.

KOPPERT BIOLOGICAL SYSTEMS – Knowing and Recognizing. The biology of pests, diseases and their natural solutions. Koppert Biological Systems, 2017.

MADBOUNI M.A.Z., SAMIH M.A., NAMVAR P., BIONDI A. – Temperature-dependent functional response of *Nesidiocoris tenuis* to different densities of pupae of cotton whitefly, *Bemisia tabaci*. European Journal of Entomology, 2017.

MARTINO A.F., SERAPHIDES N., STAVRINIDES M.C. – Lethal and behavioral effects of pesticides on the insect predator *Macrolophus pygmaeus*. Department of Agricultural Sciences, Biotechnology and Food Science, Cyprus University of Technology, Cyprus Agricultural Research Institute. Elsevier, 2013

PERDIKIS D., LUCAS E., GARANTONAKIS N., GIATROPOULOS A., KITSIS P., MASELOU D., PANAGAKIS S., FANTINO A., LYKOURESSIS D. – Intraguild predation and sublethal interactions between two zoophytophagous mirids, *Macrolophus pygmaeus* and *Nesidiocoris tenuis*. Elsevier, Biological Control, 2014.

VIGGIANI G. – Lotta biologica e integrata. Napoli, Liguori Editore, 1977.

VIGGIANI G. – Lotta biologica e integrata nella difesa fitosanitaria. Liguori Editore, 1994.