



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE CHIMICHE

DIPARTIMENTO DI AGRONOMIA, ANIMALI, ALIMENTI, RISORSE NATURALI E

AMBIENTE

CORSO DI LAUREA IN SCIENZE E TECNOLOGIE PER L'AMBIENTE

Possibilità di controllo simbiotico della mosca delle olive attraverso

l'interruzione della trasmissione verticale

A symbiotic control strategy to reduce olive fly infestation

Relatore: Prof. Luca Mazzon

Correlatrici:

Dott.ssa Ivana Carofano

Dott.ssa Isabel Martinez Sañudo

Laureanda: Sofia Vita

1225964

Anno Accademico 2022/2023

Indice

RIASSUNTO	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUZIONE	3
1.1 Origine dell'olivicoltura e olivicoltura in Italia	3
1.2 Bactrocera oleae	4
1.2.1 Classificazione	4
1.2.2 Morfologia e ciclo biologico	4
1.2.3 Endosimbiosi con <i>Candidatus Erwinia dacicola</i>	8
1.2.4 Diffusione e Danni	10
1.3 Contenimento delle popolazioni	13
1.3.1 Monitoraggio	13
1.3.2 Lotta agronomica	13
1.3.3 Lotta chimica e tecniche di “mass trapping”	14
1.3.4 Lotta biologica	16
1.3.5 Controllo simbiotico	17
2. SCOPO DEL LAVORO	18
3. MATERIALI E METODI	19
3.1 Allevamento di <i>B. oleae</i>	19
3.2 Prodotti antimicrobici testati	20
3.3 Schema sperimentale ed esecuzione dei trattamenti	21
3.4 Determinazione del tasso di impupamento e di sfarfallamento	23
3.5 Analisi statistiche	23
4. RISULTATI	24
6. DISCUSSIONE E CONCLUSIONE	32
7. BIBLIOGRAFIA	34

8. SITOGRAFIA.....	41
RINGRAZIAMENTI.....	42

RIASSUNTO

La mosca delle olive, *Bactrocera oleae* (Rossi, 1790) è causa di notevoli perdite economiche alla coltivazione dell'olivo per il Veneto e l'intero bacino del Mediterraneo. La lotta chimica convenzionale con insetticidi a largo spettro rappresenta la tecnica di controllo più usata, ma recentemente alcuni degli insetticidi tradizionalmente utilizzati sono stati revocati. Inoltre, con le nuove normative europee che mirano ad una riduzione dei fitofarmaci per salvaguardare la salute umana e l'ambiente, sorge la necessità di trovare nuovi metodi di contenimento della mosca dell'olivo. Il presente lavoro punta all'individuazione di strategie di difesa dell'oliveto alternative ai mezzi convenzionali, basate su l'interruzione del rapporto dell'insetto con il simbionte *Candidatus* *Erwinia dacicola*. Tale batterio è ospitato da tutti gli stadi di vita dell'insetto ed è trasmesso alla prole contaminando la superficie dell'uovo durante la deposizione nell'oliva. *Ca. E. dacicola* è indispensabile per la vita dell'insetto per i molteplici benefici forniti. La manipolazione dei batteri che hanno stabilito una relazione simbiotica con insetti rappresenta la frontiera più avanzata per il controllo delle specie dannose. Obiettivo del presente lavoro è stato quello di testare l'effetto di sostanze antimicrobiche spruzzate direttamente su olive infestate sullo sviluppo di *B. oleae* e sulla capacità della mosca di completare il suo ciclo biologico.

ABSTRACT

The olive fruit fly, *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae) is responsible for considerable economic losses for olive orchards in Veneto and in the entire Mediterranean basin. The conventional chemical control using broad spectrum insecticides represents the most used technique, but EU regulations recently banned the use of some of these pesticides and encouraged the reduction of the chemical use due to environmental and human health concerns. This work aims to find alternative control strategies based on the interruption of the symbiotic relationship between the fruit fly and its primary symbiont *Candidatus* Erwinia Dacicola. This bacterium is present in all the life stages of the pest and it is vertically transmitted from mother to the offspring during the oviposition. *Ca. E. dacicola* is strictly necessary for this insect pest for all the benefits it provides. Therefore, the manipulation of this symbiosis can represent alternative options for a sustainable control. In this study, products with antimicrobial properties were tested on infested olives and their effect on *B. oleae*'s fitness and the ability to complete its life cycle were evaluated.

1. INTRODUZIONE

1.1 Origine dell'olivicoltura e olivicoltura in Italia

La domesticazione di *Olea europea* (Linneo, 1753), è da collocare circa al 5000 a.C. nelle regioni medio orientali della Giordania, dell'Iran, della Turchia fino all'Egitto e alla Palestina: tutti quei territori storicamente appartenenti alla “mezzaluna fertile” (Mazzarino, 2012). L'utilizzo dell'olio, derivato più importante della coltura, non è mai stato limitato all'alimentazione: numerose società antiche lo utilizzavano in riti sacri, nella cosmesi e come merce di scambio. Arrivò in Italia tramite le colonie greche e i commercianti fenici e lentamente si diffuse anche nel nord Europa (Mazzarino, 2012). Grazie al prestigio dell'Impero Romano d'Occidente, la coltivazione in Italia nelle zone più favorevoli per caratteristiche climatiche e pedologiche si iniziò ad ampliare e potenziare, ed attraverso i secoli è diventata la seconda coltura arborea in Italia (dopo la vite) (FAO-STAT, 2011). In Italia, attualmente la superficie olivicola in produzione ammonta circa a 1,141 milioni di ettari (www.dati.istat.it). Negli ultimi anni è stata indicata un'attenuazione dell'alternanza tipica di produzione in media dell'ordine di 2,43 t di olive e 0,48 t di olio per ettaro.

L'olivicoltura in Italia è presente in 18 regioni su 20 e la produzione è prerogativa del sud Italia: Puglia, Sicilia, Calabria e Campania hanno un'incidenza di oltre l'85% di tutta la produzione nazionale (ISTAT e ISMEA campagne olearie 2005-2015).

1.2 *Bactrocera oleae*

1.2.1 Classificazione

La mosca dell'olivo (*Bactrocera oleae*) è un dittero (sottordine Brachiceri) appartenente alla famiglia dei Tephritidae (sottofamiglia Dacinae) ed è il principale fitofago dell'olivo. Questa famiglia comprende più di 4.200 specie raggruppate in circa 500 generi (Thompson, 1999), comunemente chiamate “mosche della frutta” o “fruit flies”.

All'interno di questa famiglia troviamo generi carpofagi di rilevanza economica quali la stessa *Bactrocera*, *Ceratis*, *Rhagoletis* e *Carpomya* (Zwölfer, 1983). Il genere *Bactrocera* comprende più di 550 specie ed è ad oggi il più economicamente rilevante. Al suo interno, infatti, si riconoscono almeno 50 specie parassite nell'agricoltura o da quarantena (Han *et al.*, 2017).

1.2.2 Morfologia e ciclo biologico

Nell'adulto, le dimensioni di *B. oleae* misurano circa 5 mm di lunghezza. Il capo è giallastro con occhi verdi-blu con riflessi metallici. Il torace è grigio, presenta tre linee longitudinali di colore tendente al nero e lo scutello è giallo. L'addome è bruno chiaro con macchie di forme variabili sempre di colore scuro (Rotundo e Germinara, 2014). Le ali sono trasparenti e dotate di una macchia apicale bruna (Tremblay, 2005). Nella femmina l'ovopositore nero è ben visibile (Tremblay, 2005) (Figura 1,1 A). Lo stadio pupale si presenta in forma cilindroide con una lunghezza di 3,5-4,5 mm. Il colore varia dal giallo paglierino al rossastro, in base all'età di maturazione della pupa stessa (Figura 1.2 B). La larva è di colore bianco-giallastro, completamente apoda e diventa più sottile andando verso l'estremità cefalica, da cui spuntano le mandibole nere ad uncino (Tremblay, 2005). Le età larvali sono tre:

- prima età: quasi trasparente, misura 1-2 mm di lunghezza. È caratterizzata dal sistema metapneustico in quanto riporta solo un paio di stigmi respiratori sul segmento addominale finale (Ricciolini e Rizzo, 2010).
- seconda età: forma cilindrica, bianco- giallastra, 3-4 mm di lunghezza.
- terza età: forma cilindrica allungata con l'estremità anteriore più appuntita e quella posteriore rotonda. Lunghezza 7-8 mm (Bagnoli e Iannotta, 2012) (Figura 1.2 A). Le larve di seconda e terza età sono caratterizzate da un paio di stigmi protoracici oltre a quelli sull'ultimo segmento addominale (anfipneustiche) (Ricciolini e Rizzo, 2010).

L'uovo si presenta liscio, fusiforme, di colore bianco opaco, lungo 0,7-1 mm e largo 0,12 - 0,18 (Figura 1.1 C). È dotato di un piccolo tubercolo micropilare biancastro, fondamentale per la respirazione dell'embrione (Tremblay, 2005). La specie è detta omodinama, cioè in grado di svilupparsi per tutto l'anno se si presentano condizioni ambientali e alimentari favorevoli. In generale, tuttavia, mostra due picchi riproduttivi distinti: a fine estate e a fine inverno (Bagnoli e Iannotta, 2012) .

B



A

C

Figura 1.1 **A:** maschio adulto; **B:** femmina adulta (presenza ovopositore); **C:** uovo di *B. oleae* (Foto di Federico Marangoni).

A**B**

Figura 1.2 **A:** larva di terza età; **B:** pupa di *B. oleae* (foto di Federico Marangoni).

Gli adulti sfarfallati nel periodo autunnale possono trascorrere l'inverno lontani dall'oliveto e aspettano anche oltre il mese di luglio le nuove olive adatte per ovideporre. Gli adulti volano solo di giorno e in assenza di vento. Il volo è piuttosto lento mentre si spostano in oliveti con drupe disponibili, al contrario aumenta di molto se sono alla ricerca di olive ricettive con nocciolo lignificato (Giacalone, 2011). Il periodo più favorevole per la deposizione delle uova sono i mesi di settembre e ottobre e gli adulti si spostano all'interno della chioma ricercando un microclima adatto. Durante questo periodo mostrano una preferenza per il lato della chioma rivolto a sud-ovest e per frutti ad altezza maggiore di 1,5 m da terra (Giacalone, 2011).

L'attività del volo richiede temperature superiori ai 14 °C, mentre per gli accoppiamenti e l'ovideposizione sono necessari almeno 17°C (Tremblay, 2005). L'insetto si sviluppa in maniera ottimale a temperature comprese, per i diversi stadi di sviluppo, tra gli 8°C ed i 32 °C (Girolami, 1979). Sono letali temperature superiori ai 42°C (Tremblay, 1990) ed inferiori di -9°C. L'accoppiamento avviene al crepuscolo a temperature superiori ai 16°C. La femmina, dopo aver saggiato la drupa con le antenne e l'apparato boccale, perfora i tessuti del frutto con l'ovopositore ottenendo una camera di circa 0,5 mm di profondità (Figura 1.3). Da qui succhia del liquido per rigurgitarlo poi *in situ*: lo scopo di questa azione è di marcare l'oliva con sostanze repellenti per le altre femmine (Bagnoli e Iannotta, 2012). Comportamenti protettivi sui siti di ovideposizione atti a ridurre la competizione delle larve sono tipici delle femmine di Tephritidae (Benelli e Canale, 2016). L'ovideposizione comincia a 7-9 giorni dallo sfarfallamento e nei giorni immediatamente successivi al raggiungimento della maturità sessuale è solitamente caratterizzata da punture sterili. Ogni femmina depone 200-250 uova con un apice di 300 con il massimo dell'attività a temperature di 20-27°C con umidità relativa del 80-90%. Sulle olive verdi la puntura dell'ovopositore appare come una piccola macchia di forma triangolare brunastra di circa 1-1,5 mm (Giacalone, 2011).

L'uovo a temperature ideali schiude generalmente dopo pochi giorni dall'ovideposizione e la larva, in condizioni climatiche favorevoli, inizierà a nutrirsi del mesocarpo scavando una galleria nella polpa. In condizioni ottimali, la crescita e maturazione della larva è completa dopo 10-12 giorni, mentre durante l'inverno possono essere necessari anche 5 mesi. Giunta alla terza età, la larva si costruirà una nicchia adiacente al nocciolo e aprirà un foro largo 1,5-2 mm verso l'esterno del frutto. La larva può impuparsi all'interno dell'oliva, soprattutto se la drupa non è ancora del tutto matura, ma spesso tende a lasciarsi cadere a terra impupandosi poco dopo a breve profondità (Giacalone, 2011).

Se la fase pupale avviene nei mesi invernali, durante i quali è più probabile che sia nel suolo, dura fino a 6 mesi, se invece si svolge all'interno del frutto la durata è molto ridotta, intorno agli 8-10 giorni (Vossen *et al.*, 2006). Gli adulti di *B. oleae* hanno un apparato boccale lambente-succhiante e si nutrono di essudati zuccherini, come la melata di omotteri, pollini e feci di vari animali, ad esempio escrementi di uccelli (Tremblay, 2005).



Figura 1.3: femmina di *B. oleae* intenta a pungere l'oliva per deporre l'uovo (foto Ivana Carofano).

1.2.3 Endosimbiosi con *Candidatus Erwinia dacicola*

Fu il fitopatologo italiano Lionello Petri l'artefice della scoperta della simbiosi batterica nella mosca dell'olivo. All'inizio del secolo scorso, infatti, lo scienziato descrisse un adattamento morfologico a carico del primo tratto del sistema digerente dell'insetto, atto al contenimento e alla riproduzione di un batterio. Evidenziò un'estroflessione specializzata dell'intestino anteriore che descrisse come vescicola cefalica o ghiandola faringea (Petri, 1909). Questa struttura specializzata nella parte anteriore del canale alimentare prese in seguito il nome di "bulbo esofageo" (Girolami, 1973; Drew e Lloyd, 1987; Stamopoulos e Tzanetakis, 1988; Capuzzo *et al.*, 2005; Sacchetti *et al.*, 2008) e si scoprì come potesse ospitare diverse specie batteriche. Con il rinvenimento dei microrganismi a livello dei ciechi gastrici nella larva e del

micropilo dell'uovo, Petri ipotizzò che la simbiosi fosse ereditaria, ipotesi successivamente avvalorata dalle osservazioni di Mazzini e Vita (1981). Petri isolò il batterio e ipotizzò che potesse coincidere con la specie *Pseudomonas savastanoi* (Petri, 1909) che comprende il batterio responsabile della rogna dell'olivo. Girolami e Cavalloro, nel 1972, dopo numerosi tentativi su diversi terreni di coltura e varie condizioni, evidenziarono l'impossibilità di coltivare tale batterio, mettendo così in discussione l'identità attribuitogli da Petri. Il dibattito sull'identità tassonomica del simbionte si protrasse fino al 2005, quando una nuova specie simbionte venne identificata da Capuzzo *et al.* (2005) grazie all'applicazione di tecniche molecolari di sequenziamento del 16s RNA batterico. Il batterio della mosca dell'olivo venne designato come "*Candidatus* *Erwinia dacicola*". La presenza del simbionte venne in seguito confermata anche a livello dell'apertura genitale femminile (Capuzzo *et al.*, 2005; Sacchetti *et al.*, 2008). La presenza del simbionte nei tratti specializzati del canale alimentare assicura la sopravvivenza delle giovani larve nelle drupe in via di maturazione, disponendo tramite il batterio degli enzimi proteolitici necessari alla digestione (Capuzzo *et al.*, 2005; Sacchetti *et al.*, 2008). Nelle drupe immature, infatti, sono presenti alti livelli polifenoli (es. oleuropeina) (Omar, 2010; Pavlidi *et al.*, 2017; Estes *et al.*, 2018). La simbiosi è di supporto agli adulti, rafforzando significativamente la loro fitness, ed è stato anche osservato che il batterio è coinvolto nella sintesi degli aminoacidi, nella produzione di uova nelle femmine adulte (Ben-Yosef *et al.*, 2014).

1.2.4 Diffusione e Danni

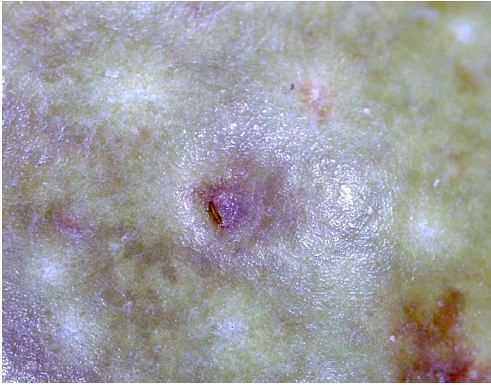
La distribuzione di *B. oleae* include la maggior parte delle aree in cui si pratica olivicoltura estensiva, ma è diffusa anche nelle regioni dove gli olivi crescono spontaneamente (Nardi *et al.*, 2005). L'origine della mosca dell'olivo, seppur incerta, si pensa sia nell'areale Africano, per poi essersi diffusa con tempo nel bacino Mediterraneo e in Asia sud-centrale. Ad oggi, oltre al Mediterraneo (Italia, Spagna, Grecia) e alle regioni africane, è presente anche nelle isole Canarie, Medio Oriente, Cina, Messico e Centro America (Nardi *et al.*, 2005). Le aree del Mediterraneo privilegiate sono quelle litorali pianeggianti, con tassi di umidità maggiore e clima mite dette aree Pandacee. Queste aree, caratterizzate da cultivar diverse, piante di grandi dimensioni e dalla presenza di olivi selvatici, garantiscono al dittero la possibilità di riprodursi tutto l'anno. La specie è diffusa anche nelle zone più interne e collinari (aree Merodacee), ma qui l'incidenza di attacco è minore poiché si è in presenza di un clima più secco e arido ed anche il numero di generazioni che può fare nel corso dell'anno diminuisce (Giacalone, 2011). Come riportato da Caleca (2012), la mosca dell'olivo in natura vive solo a spese del genere *Olea*, con un'evidente preferenza per la specie *O. europea*. Il frutto emette un complesso di composti chimici che vengono avvertiti dagli adulti di mosca, i quali riescono così ad individuare il bersaglio. Degne di nota sono alcune sostanze emesse dalla microflora batterica superficiale di cui vanno a nutrirsi le femmine di dittero, così da soddisfare il fabbisogno proteico per la produzione di uova. A queste emissioni appartengono anche quelli di natura ammoniacale, noti attrattivi per la mosca (Tremblay, 2005).

L'impatto della mosca non è di facile stima soprattutto negli ultimi anni con l'aumento delle popolazioni (Torres-Villa *et al.*, 2006) favorito dall'arrivo di *B. oleae* da aree differenti (Voulgaris *et al.*, 2013). I danni causati sono distinguibili in danni diretti e indiretti: i maggiori danni diretti riguardano l'attività trofica della larva, poiché danneggia la rete di vasi che alimentano l'oliva, influenzando negativamente la sua maturazione e la grado di attaccamento

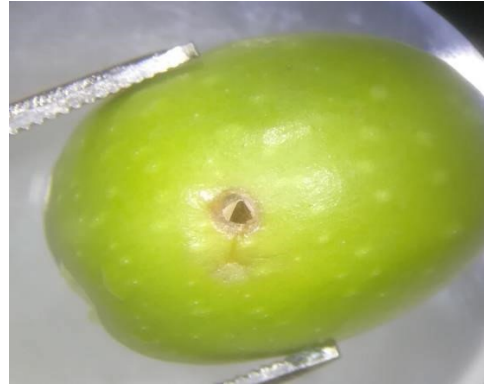
della drupa al picciolo, provocano cascola delle olive colpite (Bagnoli e Iannotta, 2012) (Figura 1.4 C). A occhio nudo è evidente l'ossidazione della polpa (Caleca e Rizzo, 2010). Anche l'ovideposizione e i fori di uscita danneggiano l'oliva provocando marciumi (Ferrari, 2006) (Figura 1.4 A, B). I danni indiretti si riferiscono alla serie di alterazioni biochimiche nell'oliva con conseguenze drammatiche sulla qualità dell'olio. Gli effetti più evidenti sono l'aumento del grado di acidità, del numero di perossidi e degli indici spettrofotometrici (Caruso, 2011; Giansante *et al.*, 2021; Bagnoli e Iannotta, 2012). È stato evidenziato da Gucci *et al.* (2012) che gli effetti negativi dell'infestazione sono condizionati dalla durata e modalità di infestazione; se l'olio viene conservato a circa 23°C ed esposto alla luce, invece che al buio a circa 14°C, si registra un deterioramento più veloce della qualità, indipendentemente dal grado di infestazione (Caruso, 2011). Altri effetti possibili sono la riduzione dei polifenoli, la riduzione del rapporto oleico/linoleico, l'alterazione della composizione acidica in cui diminuisce il contenuto di acido oleico e aumenta invece quello di acido palmitoleico e linoleico e infine il colore cambia a giallo paglierino (Bagnoli e Iannotta, 2012). Gli attacchi dipendono da fattori chimico-fisici come dimensioni e peso della drupa, durezza, colorazione e contenuto in olio ed elementi minerali (Caleca e Rizzo, 2006; Garantonakis *et al.*, 2016) e l'impatto complessivo è influenzato da diversi fattori, tra cui tempi e gravità di infestazione, il giorno di raccolta, la cultivar, il tempo di stoccaggio prima della spremitura e la presenza di microflora (Torres-Villa *et al.*, 2003; Pereira *et al.*, 2004; Tamendjari *et al.*, 2004).

A differenza delle olive destinate alla produzione dell'olio, molto difficili da definire (Caleca, 2012), nell'olivicoltura da mensa le soglie di dannosità sono chiare e quantificate e corrispondono ai differenti standard qualitativi dettati dagli organismi nazionali ed internazionali: le norme del Codex Alimentarius (1998) ammettono dal 2 al 10% di fori di uscita (Caleca, 2012).

A



B



C



Figura 1.4 A: ferita di ovideposizione con evidenza di marciume nell'area colpita (*foto Sofia Vita*); **B:** foro di uscita (*foto Ivana Carofano*); **C:** danni fisici alla drupa (*foto Ivana Carofano*).

1.3 Contenimento delle popolazioni

1.3.1 Monitoraggio

Il monitoraggio è la base della protezione integrata, cioè della messa in atto di sistemi di difesa che prevedano il minore utilizzo possibile di prodotti fitosanitari nel rispetto degli ecosistemi.

Il monitoraggio può essere eseguito con tre tipi di trappole, classificate in base al tipo di attrattivo utilizzato:

- 1- alimentari (chemiotropiche, innescate con sostanze zuccherine, ammoniaca o proteine idrolizzate);
- 2- sessuali (chemiotropiche a feromone, innescate con 1,7-dioxaspiro [5,5] undecano, il componente principale della miscela feromonica);
- 3- visive (cromotropiche di colore giallo) (Bagnoli e Iannotta, 2012).

Un metodo per valutare l'infestazione tradizionalmente accettato è quello che consiste nel campionare il 10% delle piante dell'oliveto prelevando da ciascuna 10 drupe (Ricciolini e Rizzo, 2010).

1.3.2 Lotta agronomica

Per quanto riguarda la lotta agronomica, oggi molti agricoltori italiani scelgono di anticipare la raccolta delle olive per minimizzare gli effetti più dannosi della mosca e si avvalgono di scegliere cultivar meno suscettibili al momento dell'impianto (Caleca *et al.*, 2012). Studi decennali hanno evidenziato che una ridotta suscettibilità di alcune cultivar agli attacchi di *B. oleae* sia riconducibile ad una serie di caratteristiche fisiche della drupa (resistenza alla penetrazione, colorazione scura, piccole dimensioni, ecc.) e alla quantità di alcune molecole presenti nel frutto (oleuropeina, cianidina) (Bagnoli e Iannotta, 2012).

1.3.3 Lotta chimica e tecniche di “mass trapping”

Nella lotta chimica, i bersagli possono essere gli adulti di mosca oppure gli stadi preimmaginali, in particolare le uova e le larve di prima età (Ricciolini e Rizzo, 2010).

La lotta si dice *curativa* se è diretta contro gli stadi larvali. Consiste nell'applicazione di miscele insetticide sulla chioma di ogni pianta una volta raggiunta la soglia di intervento prestabilita (Ricciolini e Rizzo, 2010). I prodotti utilizzati sono insetticidi citotropici e/o sistemici che penetrano all'interno della polpa, permettendo così di raggiungere e uccidere le uova e le giovani larve che si cibano di questa. I principi attivi con queste caratteristiche sono di sintesi (dimetoato, fosmet, imidacloprid) e quindi utilizzabili solamente nell'olivicoltura convenzionale e integrata e non in quella biologica (Caleca *et al.*, 2012). A proposito di ciò, nel 2018 è stato revocato il principio attivo imidacloprid, data la sua tossicità nei confronti di insetti impollinatori, organismi acquatici e uccelli (Dallago e Baldessari, 2018) e nel 2020 è stato revocato anche il principio attivo dimetoato, per decenni la molecola chiave per il controllo curativo della mosca dell'olivo data la sua natura citotropica (Gucci *et al.*, 2020).

La lotta si dice *preventiva* se l'obiettivo è l'uccisione degli adulti della mosca, al fine di prevenire l'attacco sulle drupe (Caleca *et al.*, 2012). Una delle strategie di lotta adulticida che è stata perseguita nello sviluppo della protezione integrata è la cattura massale o “mass trapping” (Bueno e Jones, 2002) in combinazione con le tecniche “lure and kill” come alternative per ridurre l'uso massivo di pesticidi, (Yasin *et al.*, 2014). Queste tecniche sono basate sull'utilizzo di attrattivi di vario genere su dispositivi di diverso tipo per rimuovere gli insetti (preferibilmente gli esemplari di sesso femminile), soprattutto perché la mosca dell'olivo si presenta come specie monofaga (Yasin *et al.*, 2014). Per garantire l'efficacia di questi metodi, è necessario intervenire su superfici superiori di 2 ha, o su appezzamenti isolati da altre cultivar di olivo per evitare attacchi di femmine fecondate provenienti da oliveti circostanti (Caleca *et al.*, 2012). Si può effettuare l'irrorazione di esche avvelenate su parte

della chioma o utilizzare dispositivi di varia tipologia collocati sulle piante, chiamati comunemente trappole. In entrambi i casi, gli adulti sono attratti da varie sostanze e rimangono uccisi dagli insetticidi mescolati all'esca distribuita sugli olivi, intrisi nei dispositivi "Attract and kill" (Petacchi *et al.*, 2003) o muoiono catturati dentro la trappola (Caleca *et al.*, 2012). Le trappole basate su attrattivi alimentari sono spesso delle bottiglie a trappola Mcphail innescate con una soluzione acquosa di fosfato biammonico o pannelli gialli adesivi con attrattivi alimentari (Calabrese, 2019). Si utilizzano anche sostanze a base proteica e lieviti o farina di pesce (Caleca *et al.*, 2012).

Il limite delle trappole alimentari è sicuramente la scarsa selettività e di conseguenza l'impatto sulla entomofauna utile (Ricciolini e Rizzo, 2010), oltre al fatto che la loro efficacia dipende in gran parte dalle condizioni atmosferiche (temperatura e umidità relativa) (Brescia, 2018).

Le trappole a feromoni sono più selettive ma solo nei confronti degli esemplari di sesso maschile, meno importanti a livello di infestazione (Bagnoli e Iannotta, 2012). Sono state perciò sviluppate da trappole con funzione attrattiva sia per maschi che femmine utilizzando uno o più attrattori in combinazione (Haniotakis *et al.*, 1991); combinando attrattivi a feromone con attrattivi alimentari come bicarbonato di ammonio, l'efficienza delle trappole si alza di molto (Daane e Johnson, 2010). E' dunque possibile utilizzare le esche avvelenate sia in cultivar convenzionali, miscelate o meno ad insetticidi di sintesi come piretroidi (deltametrina, lambda-cialotrina o cipermetrina) o fenthion (Calabrese, 2019), sia in olivicoltura biologica, in unione con lo spinosad, un insetticida di origine naturale ottenuto dal batterio *Saccharopolyspora spinosa* (Mertz e Yao, 1990) che agisce per ingestione (Calabrese, 2019). Sia l'uso delle trappole che di esche avvelenate (trattando il tronco o le branche con solo foglie) permettono di non avere residuo sulle olive, a differenza delle tecniche di lotta larvicida (Ricciolini e Rizzo, 2010). Presenta però due limiti importanti: il primo riguarda la spesa economica, non molto differente, nelle annate con forte attacco, rispetto a quelle con bassi

livelli di infestazione. Un altro difetto è che, in annate con forti infestazioni, a fine stagione l'efficacia cala di molto (Ricciolini e Rizzo, 2010). Nelle aree più a rischio si usano soglie economiche di intervento stimate empiricamente: per i trattamenti adulticidi con esche proteiche avvelenate si usa la soglia dell'1-2% di olive infestate cui corrisponde circa a 2-3 femmine/trappola/settimana, mentre per i trattamenti larvicidi si considerano valori fra 7–14%, in base alla coltivazione, alla produzione e alle diverse epoche del periodo estivo-autunnale (Bagnoli e Iannotta, 2012).

1.3.4 Lotta biologica

Il controllo biologico della mosca dell'olivo con entomofagi ha una lunga storia in Italia ed è un filone della ricerca di grande rilievo per una gestione eco-compatibile della difesa della produzione olivicola (Bagnoli e Iannotta, 2012). Nel bacino del mediterraneo gli unici parassitoidi della mosca dell'olivo sono alcuni imenotteri calcidoidei ectofagi polifagi e l'imenottero braconide endofago *Psytalia concolor* (Bagnoli e Iannotta, 2012). Purtroppo, anche per quest'ultima specie, come riportato da Bagnoli tramite il progetto "SIDIO" del 2011 riguardante l'areale toscano, la diffusione della mosca è limitata ad aree costiere e insulari ed ha molta difficoltà a insediarsi in aree più interne. In generale, è abbastanza chiaro che il controllo biologico della mosca dell'olivo debba passare attraverso l'individuazione di parassitoidi esotici specifici più efficaci (Bagnoli e Iannotta, 2012). Degli esempi sono il braconide ectofago *Bracon celer* (Szépligeti, 1913) e *Utetes africanus* (Szépligeti, 1910), entrambe specie africane (Caleca *et al.*, 2016).

Negli anni sono stati studiati vari nemici naturali microbiologici, come l'uso di spore vive di *Beauveria bassiana* (Bals-Criv., Vuill., 1912) usata singolarmente o in combinazione con insetticidi o mass trapping (Ricciolini e Rizzo, 2010). Come tutti i funghi però presenta il fattore limitante che per esplicitare la sua azione insetticida necessita di alti tenori di umidità

(Caleca *et al.*, 2012). Tuttavia, ad oggi non sembrano esistere nemici naturali in grado di contenere efficacemente al di sotto delle soglie di danno il carpofago.

1.3.5 Controllo simbiotico

Con l'aumento delle conoscenze sull'ecologia microbica della mosca dell'olivo, si delineano sempre più nuovi campi di indagine e nuovi spunti per l'applicazione di strategie di lotta più efficaci e rispettose dell'ambiente (Sacchetti *et al.*, 2016). La ricerca sta facendo molti progressi nel comprendere il rapporto tra *B. oleae* e il suo batterio simbiote primario *Ca. Erwinia dacicola*, ma è necessario affinare le strategie basate sul controllo simbiotico per un efficiente pest control (Bigiotti *et al.*, 2020). Tra le sostanze già utilizzate per interrompere tale simbiosi ci sono il rame, uno degli antimicrobici più utilizzati per le colture, proposto per la prima volta nel 1985 da Tzanakakis come antimicrobico. I prodotti rameici sono in grado di interferire sulla «dinamica di infestazione» (Belcari *et al.*, 2003; Capuzzo *et al.*, 2005) della mosca, attraverso l'eliminazione del batterio simbiote con ripercussioni sulla mortalità embrionale e larvale e la deterrenza dei frutti trattati nei confronti delle femmine (www.fruitjournal.com). Recentemente un altro prodotto evidenziato come avere una buona attività antimicrobica è il Dentamet®, biocomplesso di zinco, rame e acido citrico. Il trattamento delle uova di *Halyomorpha halys* con questo prodotto ha provocato un'elevata mortalità dei primi stadi di sviluppo dell'insetto (Gonella *et al.*, 2019).

2. SCOPO DEL LAVORO

Data la gravità delle perdite economiche delle filiere olivicole italiane a causa delle infestazioni di *B. oleae*, il controllo sostenibile delle popolazioni di mosca dell'olivo è un tema importante. Con la recente revoca delle principali molecole insetticide utilizzate contro il dittero, quali il dimetoato e l'imidacloprid, in correlazione con l'aumento delle zone colonizzate da *B. oleae* a causa del surriscaldamento globale, soprattutto per quanto riguarda le zone più a Nord del Mediterraneo (Gutierrez *et al.*, 2021), la scienza deve investire sulla ricerca di strategie di controllo alternative agli insetticidi efficaci ed ecosostenibili.

In condizioni naturali il batterio viene trasmesso verticalmente alla prole dalla madre contaminando con le cellule batteriche del simbionte il corion dell'uovo che verrà in seguito ingerito dalla larva dopo la schiusa. In questo lasso di tempo il battere è parzialmente esposto all'ambiente circostante e quindi vulnerabile all'azione di sostanze antimicrobiche.

Lo scopo di questo lavoro è stato testare l'efficacia antimicrobica del prodotto Dentamet®, già registrato in olivicoltura come fertilizzante fogliare, nel disturbare la trasmissione verticale del batterio simbionte *Ca. E. dacicola*, fondamentale per la vita dell'insetto. L'efficacia del prodotto è stata analizzata in laboratorio mediante applicazioni del prodotto nebulizzato sulla superficie di olive infestate con l'uovo della mosca.

3. MATERIALI E METODI

3.1 Allevamento di *B. oleae*

Per gli allevamenti è stato seguito il protocollo tradizionalmente impiegato dal gruppo di Entomologia. Per le prove sono state utilizzate mosche dell'allevamento allestito presso i laboratori di Entomologia dell'Università di Padova. Gli allevamenti sono stati successivamente mantenuti tramite l'esposizione di olive sane agli esemplari di sesso femminile sessualmente maturi. Le olive sono state prelevate da oliveti non trattati nell'areale veronese. Sono state utilizzate anche olive non trattate provenienti dalla Toscana, dall'Abruzzo e dalla Basilicata. Sono state trasferite al Dipartimento di Agronomia, Alimenti, Risorse Naturali, Animali e Ambiente (DAFNAE) a Legnaro (PD) per essere utilizzate per gli allevamenti. Prima dell'esposizione alle femmine sessualmente mature, le olive sono state accuratamente controllate per assicurarsi che fossero prive di punture di mosca dell'olivo, marcescenze o grossi danni meccanici. Una volta avvenuta l'ovideposizione, le olive sono state controllate allo stereoscopio per verificare la quantità di punture e le olive infestate non utilizzate per i trattamenti sono state messe in cassette dotate di rete per facilitare la caduta delle pupe, raccolte in un vassoio sottostante contenente farina di mais con funzione appunto di substrato di raccolta (Figura 3.1 A). La farina è stata poi setacciata ogni settimana per prelevare le pupe che venivano messe in Bug Dorm (30x30x30) a sfarfallare (Figura 3.1 C). Gli adulti sfarfallati sono stati mantenuti a una temperatura di circa $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e nutriti con una miscela 4:1 di saccarosio e lievito liofilizzato in polvere. Ogni Bug Dorm, oltre alle piastre Petri contenenti il cibo, era dotata di abbeveratoi per l'acqua (Figura 3.1 B).

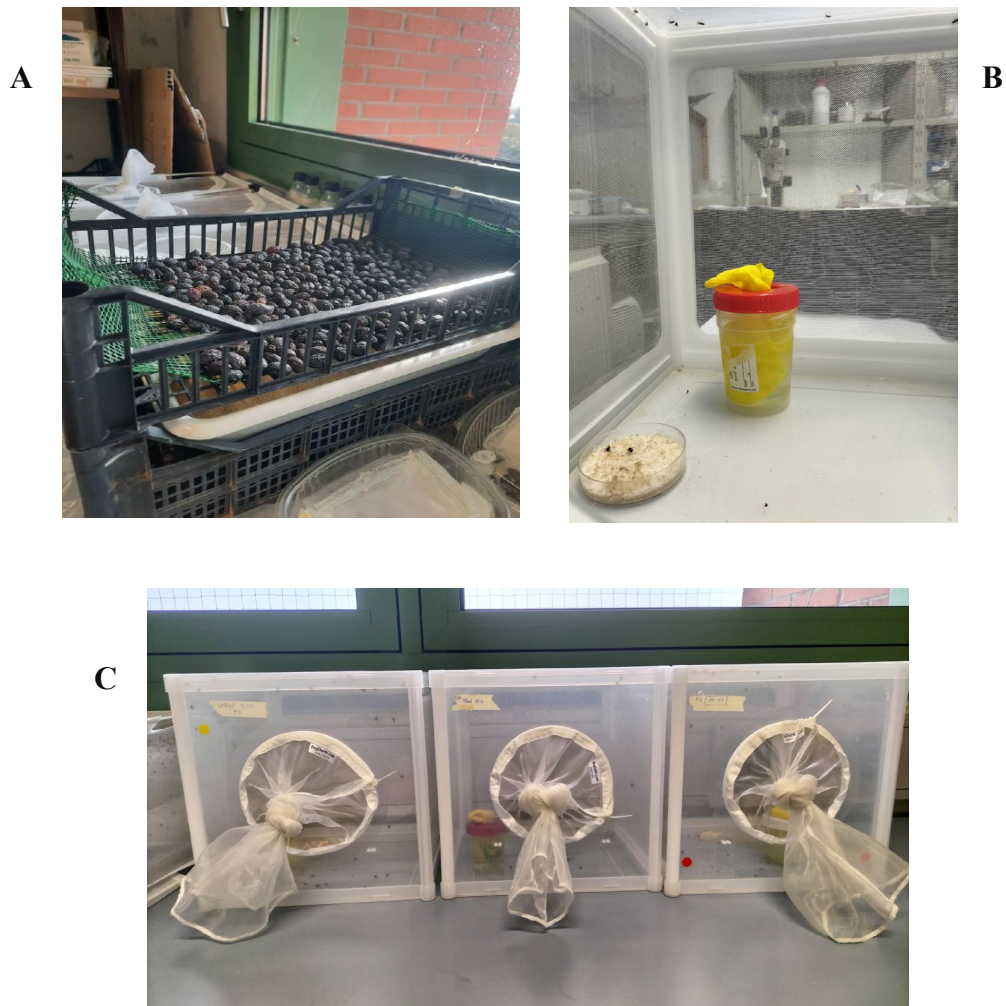


Figura 3.1, A: Vassoio per impupamento larve; B: Piastre Petri per il cibo e abbeveratoio; C: mosche sfarfallate allevate in Bug Dorm (foto Sofia Vita).

3.2 Prodotti antimicrobici testati

Al fine di verificare la possibilità di ostacolare l'acquisizione del batterio simbionte *Ca. E. dacicola* (presente sul corion dell'uovo) da parte della larva è stato testato un prodotto (Dentamet®) ad azione antimicrobica registrato su olivo come concime fogliare (biostimolante). Dentamet® è un biocomplesso di rame e zinco complessata con acido citrico (sotto forma di idracido) in grado di correggere situazioni di carenza anche gravi. La formulazione è in liquido solubile con composizione: rame solubile in acqua 2% e zinco

solubile in acqua 4% (www.fertilgest.com). L'azione del prodotto è stata confrontata con quella di una soluzione a base di ipoclorito di sodio (NaClO 1%) per la sua nota attività antibatterica e con un controllo non trattato.

3.3 Schema sperimentale ed esecuzione dei trattamenti

Come materia prima per l'esposizione alle mosche femmine sessualmente mature sono state selezionate delle olive sane precedentemente controllate, assicurandosi di esporre olive con dimensioni diverse tra loro. Il numero di olive esposte è sempre stato pari a circa il doppio delle femmine a cui venivano esposte. Il tempo di esposizione per permettere l'ovideposizione è stato di circa 24 ore per ogni ciclo di trattamento. Trascorse le 24 ore, sono state selezionate grazie all'ausilio di stereoscopi le olive con massimo 2 punture di ovideposizione. Le olive selezionate sono state divise per ottenere lo stesso numero di punture per trattamento: olive non trattate, olive trattate con acqua, olive trattate con ipoclorito di sodio 1% e olive trattate con Dentamet® a concentrazione 5, 47 ml/hl. Sono state poste su setacci di metallo e i prodotti sono stati spruzzati fino al gocciolamento delle olive, facendo attenzione a muovere il setaccio per assicurarsi che tutta la superficie fosse uniformemente bagnata. La scelta della nebulizzazione del prodotto è stata effettuata per ricreare nel modo più simile possibile i trattamenti in campo. Le olive trattate sono state poi trasferite ad asciugare in contenitori aperti dotati di rete (Figura 3.3 A). Una volta asciutte, le olive venivano messe dentro dei contenitori di plastica divisi per ogni tesi, con data (Figura 3.3 B). Gli esperimenti sono stati replicati per 5 volte per un totale di 195 punture di ovideposizione.



Figura 3.3 A: Olive trattate in asciugatura (*foto* Sofia Vita).

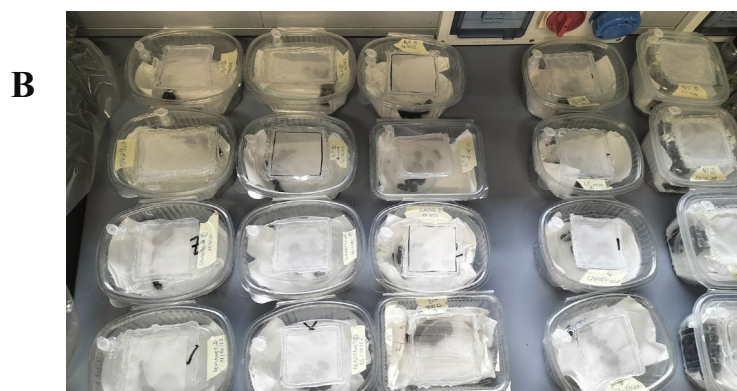


Figura 3.3 B: Scatole contenenti le olive dopo le cinque repliche di trattamento (*foto* Sofia Vita).

3.4 Determinazione del tasso di impupamento e di sfarfallamento

Le olive utilizzate negli esperimenti sono state controllate a partire da 13 gg dopo il trattamento per osservare e quantificare il numero di pupe sviluppate e dopo 24 gg dopo il trattamento per osservare e quantificare il numero di adulti sfarfallati nel corso dei cinque cicli di trattamento. Nel periodo compreso tra il trattamento e il campionamento delle pupe e degli adulti sfarfallati c'è stata un'attenta osservazione delle olive trattate e quelle con presenza evidente di muffa o marcescenza venivano eliminate.

I dati relativi alla sopravvivenza delle pupe e allo sfarfallamento degli adulti sono stati confrontati per evidenziare o meno differenze significative tra le olive trattate con Dentamet®, ipoclorito di Na 1% e acqua e il controllo non trattato. L'efficacia del prodotto è stata valutata quindi in base al tasso di impupamento e al tasso di sfarfallamento.

3.5 Analisi statistiche

Per quanto riguarda il tasso di impupamento e il tasso di sfarfallamento è stato utilizzato un modello di regressione lineare (ANOVA ad una via) seguito dal test di Tukey. La variabile risposta è rappresentata dal numero di pupe (rapportato al numero di punture iniziali) e adulti sfarfallati (rapportato al numero di pupe formate). La variabile esplicativa (categorica) invece è rappresentata dai 4 diversi trattamenti (tesi). Tutte le analisi sono state effettuate tramite il software R (R Code Team, 2021).

4. RISULTATI

I risultati dell'osservazione degli esemplari impupati e gli adulti sfarfallati dai trattamenti con i diversi prodotti confrontato con il numero di punture per ciclo evidenziano una diminuzione del numero totale delle pupe e degli adulti sopravvissuti ai trattamenti con il Dentamet® (Tabella 4.1A; Figura 4.1A) e con l'ipoclorito di Na 1% (Tabella 4.1B; Figura 4.1B) rispetto ai trattamenti con acqua (Tabella 4.1C; Figura 4.1C) e al controllo non trattato (Tabella 4.1D; Figura 4.1D).

Ciclo	Trattamento	Pupa	Adulti	Punture	4.1A
1	Dentamet	3	1	11	
2	Dentamet	5	1	32	
3	Dentamet	10	5	35	
4	Dentamet	11	4	63	
5	Dentamet	14	7	51	

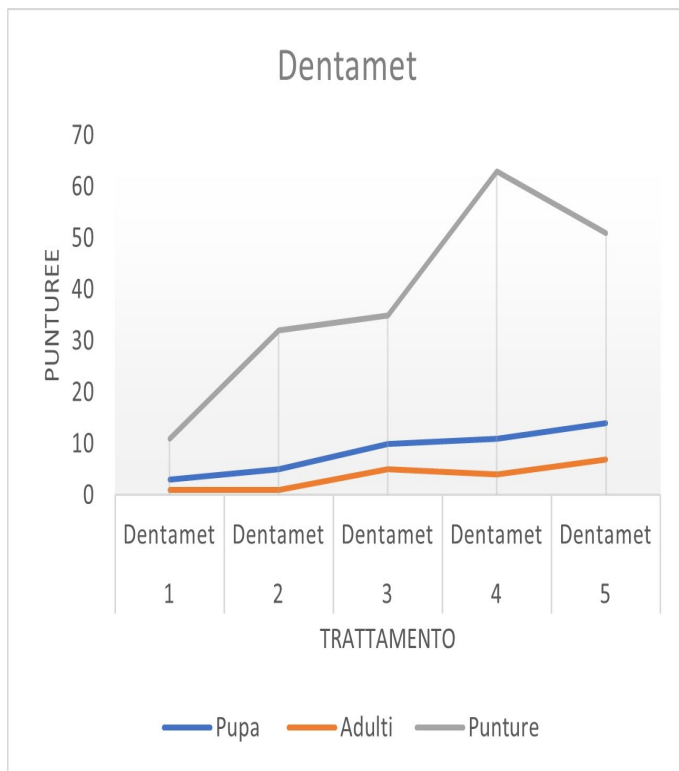
Ciclo	Trattamento	Pupa	Adulti	Punture	4.1B
1	Ipoclorito di Na 1%	9	5	11	
2	Ipoclorito di Na 1%	7	2	32	
3	Ipoclorito di Na 1%	9	4	35	
4	Ipoclorito di Na 1%	18	5	63	
5	Ipoclorito di Na 1%	13	7	51	

Ciclo	Trattamento	Pupa	Adulti	Punture	4.1C
1	Acqua	8	4	11	
2	Acqua	8	4	32	
3	Acqua	9	2	35	
4	Acqua	19	5	63	
5	Acqua	24	13	51	

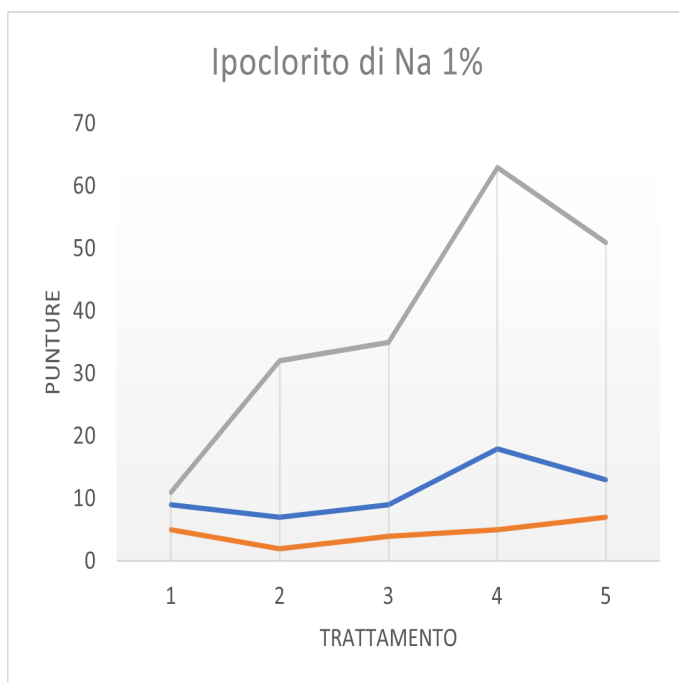
Ciclo	Trattamento	Pupa	Adulti	Punture	4.1D
1	Non trattato	5	2	11	
2	Non trattato	5	2	32	
3	Non trattato	12	5	35	
4	Non trattato	21	6	63	
5	Non trattato	17	2	51	

Tabelle 4.1 A, B, C, D: Numero di pupe e adulti risultati dai cinque cicli di trattamento con i prodotti Dentamet®, ipoclorito di Na 1%, acqua e il controllo non trattato, confrontato con il numero di punture iniziali per ciclo.

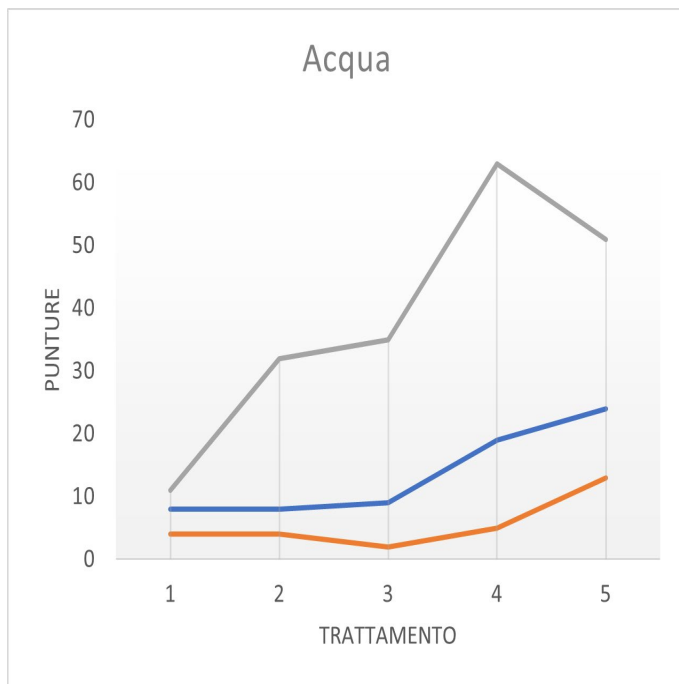
4.1A



4.1B



4.1C



4.1D

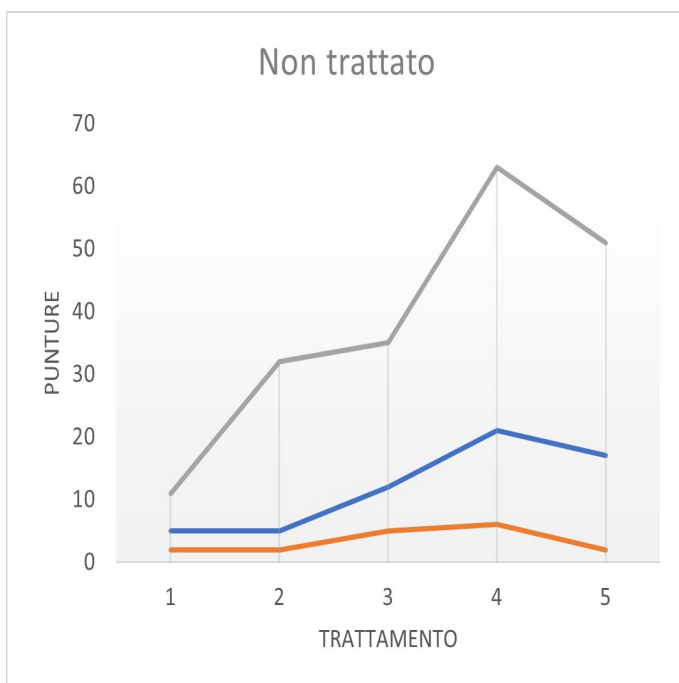


Figura 4.1 A, B, C, D: Grafici relativi alle Tabelle 4.1 A, B, C, D

Per quanto riguarda le analisi in merito al **tasso di impupamento**, si osserva che nei trattamenti con il prodotto Dentamet® e con l'ipoclorito di sodio 1% i risultati della variabile risposta ottenuti con il test di Tukey, ovvero il rapporto tra gli esemplari impupati e il numero di punture iniziali, è visibilmente minore rispetto a quelli degli altri trattamenti e del controllo non trattato (Tabella 4.4; Figura 4.4). Non si presentano risultati significativi, essendo risultato sia dall'analisi della varianza ad una via (ANOVA) (Tabella 4.2) sia dal test di Tukey un p value > 0,05 per tutte le coppie di trattamenti analizzati, ma si può osservare una tendenza alla significatività data dai valori del p value per le coppie Dentamet vs Non trattato (p value=0,16) e Dentamet vs Acqua (p value=0,16), significativamente minori delle altre coppie (Tabella 4.3).

Source	Sum of squares SS	Degrees of freedom	Mean square MS	F statistic	p-value
Treatment	0,162	3	0,054	21,818	0,1300
Error	0,396	16	0,0247		
Total	0,558	19			

Tabella 4.2: Analisi della varianza ad una via (ANOVA)

treatments	Tukey HSD	Tukey HSD2	Tukey HSD3
pair	Q statistic	p-value	inference
Dentamet vs Non trattato	31,269	0,16	insignificant
Dentamet vs Ipoclorito di Na 1%	22,741	0,40	insignificant
Dentamet vs Acqua	31,269	0,16	insignificant
Non trattato vs Ipoclorito di Na 1%	0,8528	0,90	insignificant
Non trattato vs Acqua	0,0000	0,90	insignificant
Ipoclorito di Na 1% vs Acqua	0.8528	0.90	insignificant

Tabella 4.3: Tukey HSD results, in grassetto i confronti che evidenziano una tendenza alla significatività.

Trattamento	Dentamet	Ipoclorito di Na	Acqua	Non trattato
	0,2	0,8	0,7	0,5
	0,1	0,2	0,3	0,2
	0,2	0,2	0,3	0,4
	0,1	0,2	0,3	0,4
	0,2	0,2	0,5	0,4
	Dentamet	Ipoclorito di Na 1%	Acqua	Non Trattato
Media	0,16	0,32	0,42	0,38
Errore	0,027386128	0,134164079	0,089442719	0,054772256

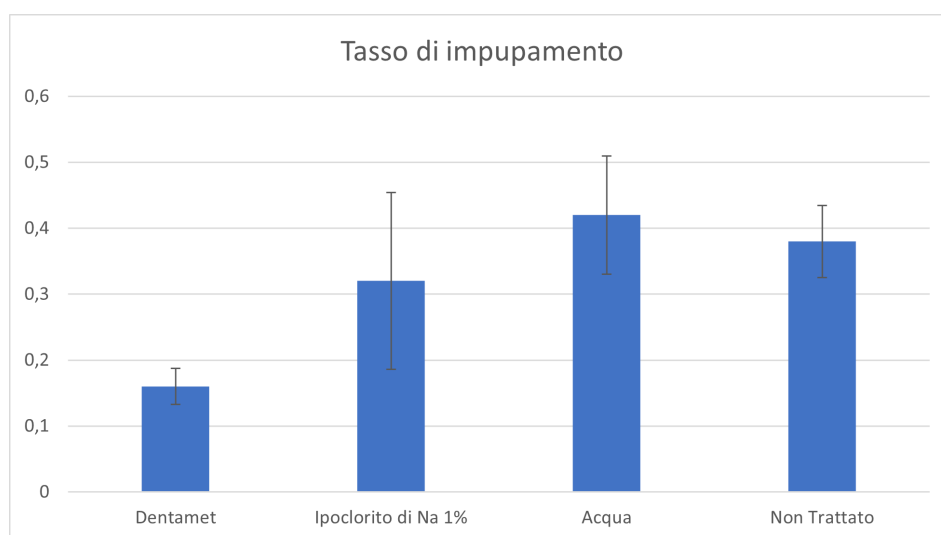


Tabella 4.4 e Figura 4.4: Tasso di impupamento (pupe/punture), con i risultati della media e dell'errore standard.

I risultati delle analisi del tasso di sfarfallamento (Tabella 4.5; Figura 4.5) e del rapporto tra adulti sfarfallati e punture iniziali (Tabella 4.6; Figura 4.6) riportano la stessa mancanza di significatività data dal risultato del p value > 0,05 nelle analisi statistiche, e non si evince nessuna tendenza alla diminuzione del tasso di sfarfallamento o di sopravvivenza degli adulti rispetto alle punture iniziali nei trattamenti con il Dentamet® confrontati con gli altri due trattamenti e il controllo non trattato.

Trattamento	Dentamet	Ipoclorito di Na 1%	Acqua	Non trattato
	0,333333333	0,555555556	0,5	0,4
	0,2	0,285714286	0,5	0,4
	0,5	0,444444444	0,222222222	0,416666667
	0,363636364	0,277777778	0,263157895	0,285714286
	0,5	0,538461538	0,541666667	0,117647059
	Dentamet	Ipoclorito di Na 1%	Acqua	Non trattato
Media	0,379393939	0,42039072	0,405409357	0,324005602
Errore	0,063069262	0,066738775	0,075105692	0,063337609

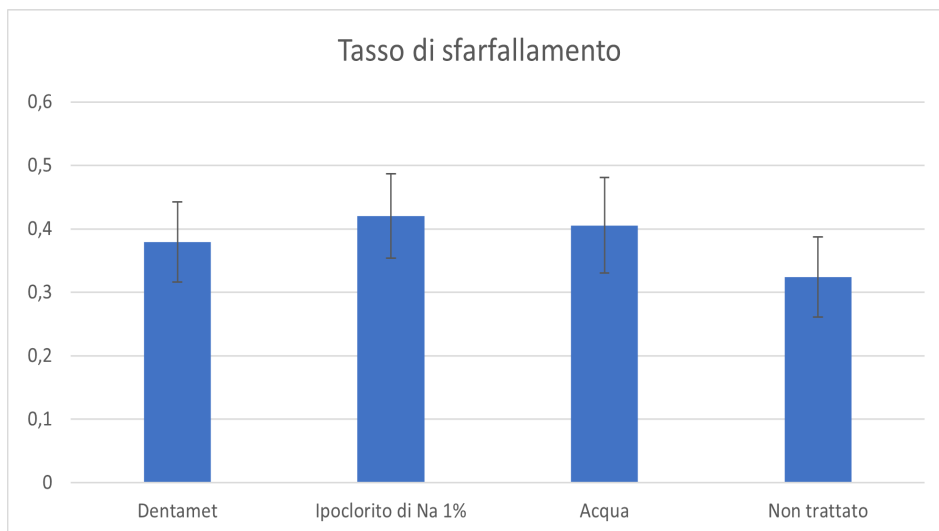


Tabella 4.5 e Figura 4.5: Tasso di sfarfallamento (adulti/pupe), con i risultati della media e dell'errore standard.

Trattamento	Dentamet	Ipoclorito di Na	Acqua	Non trattato
	0,090909091	0,454545455	0,363636364	0,181818182
	0,03125	0,0625	0,125	0,0625
	0,142857143	0,114285714	0,057142857	0,142857143
	0,063492063	0,079365079	0,079365079	0,095238095
	0,137254902	0,137254902	0,254901961	0,039215686
	Dentamet	Ipoclorito di Na	Acqua	Non trattato
Media	0,09315264	0,16959023	0,176009252	0,104325821
Errore	0,023890724	0,080975513	0,064951546	0,029112974

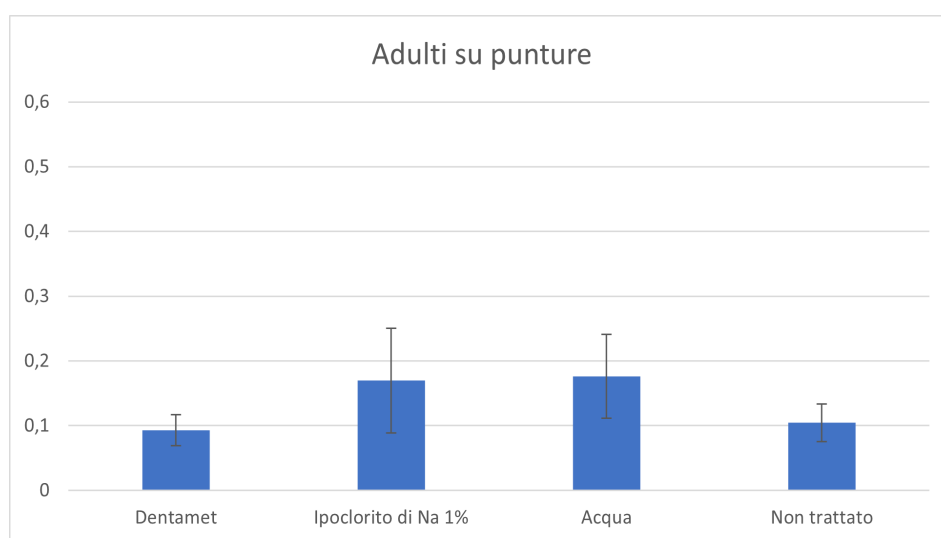


Tabella 4.6 e Figura 4.6: Rapporto tra adulti sfarfallati su punture iniziali, con i risultati della media e dell'errore standard.

6. DISCUSSIONE E CONCLUSIONE

B. oleae, dittero appartenente alla famiglia dei Tephritidae, è il principale fitofago dell'olivo ed è causa di notevoli perdite economiche sia per la produzione di olio sia nell'olivicoltura da mensa. A seguito delle recenti revoche del principio attivo imidacloprid (2018) e dimetoato (2020), due delle molecole più utilizzate nella lotta contro la mosca, la ricerca si sta focalizzando sullo sviluppo di nuove strategie sostenibili, con un focus sempre più crescente sul controllo simbiotico, al fine di interrompere la trasmissione verticale del simbionte *Ca. Erwinia dacicola*, batterio fondamentale per la vita della mosca in tutti gli stadi. Il presente lavoro ha avuto lo scopo di testare l'efficacia su olive infestate del prodotto Dentamet® (fertilizzante fogliare a base di rame, zinco e acido citrico), come prodotto antimicrobico. Tale attività è stata riportata in un lavoro precedente che riguardava il controllo simbiotico di *Halyomorpha halys* (Gonnella *et al.* 2019).

Il potere antimicrobico del prodotto contro i simbionti della mosca dell'olivo è stato valutato tramite l'analisi del tasso di sopravvivenza, di impupamento e di sfarfallamento, rispetto ad un controllo non trattato.

I risultati dell'osservazione del numero totale di esemplari impupati e di adulti sfarfallati, confrontati con il numero di punture, evidenziano una diminuzione degli esemplari sopravvissuti nei trattamenti con Dentamet® e ipoclorito di Na 1%. Per quanto riguarda le analisi statistiche, dato l'ampio valore della varianza non ci sono stati risultati significativi. L'efficacia dell'antimicrobico sembra migliore dall'analisi dei dati relativi al tasso di impupamento (rapporto pupe/punture). In particolare, il numero di larve che sono riuscite a impuparsi risulta più ridotto nelle tesi trattate con Dentamet® ed il valore medio risulta vicino alla significatività ($p=0,16$) sia rispetto al trattato con acqua che con il non trattato. Sarà possibile, in esperimenti futuri, diminuire l'ampiezza della varianza aumentando il **numero di repliche** e/o aumentando le **concentrazioni delle dosi** utilizzate. Inoltre, durante questo lavoro,

la dose utilizzata è stata quella di etichetta suggerita per un impiego come fertilizzante fogliare e non antimicrobico. In futuro sarà opportuno dunque testare il prodotto a dosi diverse, al fine di valutare la sua azione anche come antimicrobico. Ulteriori variabili da tenere in considerazione in futuro sarà l'individuazione del **momento migliore** in cui eseguire l'applicazione dell'antimicrobico al fine di massimizzare la possibilità che possa penetrare attraverso le ferite di ovideposizione e raggiungere quindi l'uovo. Nel presente lavoro l'applicazione del prodotto è stata eseguita a 24 h dalla deposizione. A nostra conoscenza non ci sono indagini sull'evoluzione della ferita di ovideposizione in termini di ampiezza della ferita che ovviamente andrebbe ad influenzare la capacità del prodotto di entrare per capillarità. Potrebbe anche essere considerata l'aggiunta di **prodotti coadiuvanti** per aumentare la capacità del prodotto di penetrare per capillarità. Sarà fondamentale, soprattutto per le sperimentazioni in campo, la valutazione della stabilità dei prodotti considerando le caratteristiche chimiche e fisiche e le diverse condizioni ambientali. Alla luce di ciò, è possibile ritenere il Dentamet® un candidato valido per eventuali test futuri da effettuare in pieno campo, essendo questo già registrato su olivo.

Per concludere, data l'importanza economica dell'olivicoltura, la contrazione delle molecole insetticide usabili in agricoltura e la crescente attenzione verso l'ambiente e verso la qualità degli alimenti è importante indirizzare gli sforzi della ricerca nell'individuazione di tecniche di controllo della mosca delle olive alternative agli insetticidi. In questo contesto il controllo simbiotico potrebbe rappresentare una valida strategia per il controllo non solo delle popolazioni di *B. oleae* ma anche di altre specie fitofaghe che presentano associazioni simbiotiche simili, operando nel rispetto e nel mantenimento degli equilibri biologici.

7. BIBLIOGRAFIA

Arul J. P., Ben- Yosef M., Jurkevitch E., Yuval B. (2019). Symbiotic bacteria affect oviposition behaviour in the olive fruit fly *Bactrocera oleae*, *Journal of Insect Physiology*, volume 117, ISSN : 0022-1910

Bagnoli B., Iannotta N. (2012). Principali insetti fitofagi e relativi metodi di controllo integrato, Accademia nazionale dell'olivo e dell'olio, volume XIV, ISSN 2281-4930, pp. 5-10, 12-14.

Ben-Yosef M., Pasternak Z., Jurkevitch E., Yuval B. (2014). Symbiotic bacteria enable olive flies (*Bactrocera oleae*) to exploit intractable sources of nitrogen. *J. Evol. Biol.*, 27: 2695-2705.

Bigiotti G., Sacchetti P., Pastorelli R., Lauzon C.R., Belcari A. (2021). Bacterial symbiosis in *Bactrocera oleae*, an Achilles' heel for its pest control. *Insect Science*, 28(4): 874-884.

Brescia G. (2018) *Bactrocera oleae* la mosca parassita dell'olivo strategie di controllo. pp. 3-5

Bueno A., Jones O. (2002). Alternative methods for controlling the olive fly, *Bactrocera oleae*, involving semiochemicals. *IOBC wprs Bull.* 25.

Calabrese P. (2019) Development of attractant devices and an automatic trap for the monitoring of the Olive fruit fly *Bactrocera oleae* (Rossi) (Diptera: Tephritidae). Tesi di Dottorato, pp. 35, 36, 38.

Caleca V., Rizzo R. (2007) Tests on the effectiveness of kaolin and copper hydroxide in the control of *Bactrocera oleae* (Gmelin). *IOBC/WPRS Bulletin*, 39(9): 111-117.

Caleca V., Rizzo R. (2009) Soglie di dannosità e strategie di controllo di *Bactrocera oleae* (Rossi) nell'olivicoltura biologica da tavola. In *Agricoltura Biologica: sistemi produttivi e modelli di commercializzazione e di consumo*, Palermo, pp. 359-362

Caleca V., Belcari A., Sacchetti P. (2012) Lotta alla mosca delle olive in olivicoltura integrata e biologica. *Protezione delle Colture*, 3: 27-32.

- Carofano I.** (2021) Valutazione dell'effetto ovideterrente ed antimicrobico di sostanze attive a basso impatto ambientale per il controllo di *Bactrocera Oleae* (Diptera: Tephritidae). Tesi di laurea Magistrale in Scienze e Tecnologie Agrarie, Università degli Studi di Padova
- Caruso G., Loni A., Raspi A., Canale A., Gucci R.** (2011) Evoluzione di acidità libera e numero di perossidi in oli ottenuti da olive con diversi livelli di infestazione da *Bactrocera oleae*. *Acta Italus Hortus*, 1: 291-294.
- Courtney W.G., Sinclair B.J., Meier R.** (2000) Morphology and terminology of Diptera larvae: 85-163. In Papp, L. & Darvas, B. (a cura di) *Contributions to a Manual of Palaearctic Diptera. Volume 1. General and Applied Dipterology. Science Herald, Budapest, Hungary. ISBN 963 04 8839 6*
- Daane K., Johnson M.** (2010). Olive Fruit Fly: Managing an Ancient Pest in Modern Times. *Annual review of entomology*. 55. 151-69. 10.1146/annurev.ento.54.110807.090553.
- Dallago G., Baldessari M.** (2018) *Afidi e neonicotinoidi: soluzioni a confronto. Cantina sociale di Trento*. Fondazione Edmund Mach, 4-26.
- Garantonakis N., Varikou K., Markakis E., Birouraki A., Sergeantani C., Psarras G., Koubouris G.C.** (2016) Interaction between *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae) infestation and fruit mineral element content in *Olea europaea* (Lamiales: Oleaceae) cultivars of global interest. *Applied Entomology and Zoology*, 51(2): 257-265.
- Giacalone C.** (2011). Il controllo di *Bactrocera oleae* (Rossi) e di altri carpo-fagi negli oliveti biologici in Sicilia e Sud Africa (Tesi di dottorato).
- Giacalone C., Maltese M., Caleca V.** (2011). Parassitizzazione di *Bactrocera oleae* su olivo coltivato e selvatico in Sicilia e nel Western Cape (Sud Africa). In Atti del XXIII Congresso Nazionale Italiano di Entomologia, Genova, 13-16 giugno 2011. (pp.338-338). Genova: erredi.

- Giansante L., Del Re P., Pietrangeli F., Pollastri L., Di Giacinto L. (2021)** Controllo fitosanitario e qualità degli oli di oliva in areale invaso da *Bactrocera oleae*, La rivista italiana delle sostanze grasse VOL XCVIII pp 1-7
- Gonella E., Orrù B., Alma A. (2019)** Egg masses treatment with micronutrient fertilizers has a suppressive effect on newly-emerged nymphs of the brown marmorated stink bug *Halyomorpha halys*. Entomologia Generalis doi: 10.1127/entomologia/2019/0819.
- Gucci R., Adamo P., Baldoni L., Benalia S., Bernardi B., Falsone G., Germinara G. (2020)** Intensificazione sostenibile per la filiera olivicolo-olearia: approfondimenti sulle filiere di interesse per l'ambiente mediterraneo. *Buone pratiche di intensificazione sostenibile - Strumento per lo sviluppo del sistema agroalimentare italiano*, 12-27.
- Gucci R., Caruso G., Canale A., Loni A., Raspi A., Urbani S., Taticchi A., Esposto S., Servili M. (2012)** Qualitative changes of olive oils obtained from fruits damaged by *Bactrocera oleae* (Rossi). HortScience, 47(2) pp 301-306.
- Gutierrez A.P., Ponti L., Neteler M., Suckling D.M., Cure J.R. (2021)** Invasive potential of tropical fruit flies in temperate regions under climate change. Commun Biol. 30;4(1):1141. doi: 10.1038/s42003-021-02599-9. PMID: 34593969; PMCID: PMC8484444.
- Ferrari M., Marcon E., Menta A. (2006)** Fitopatologia, entomologia agraria e biologia applicata ISBN-10 : 8852900632
- Ferrari A. (2020)** Efficacia di prodotti alternativi agli insetticidi di sintesi per il controllo di *Bactrocera oleae* (Rossi) (Diptera, Tephritidae). Tesi di Laurea Magistrale in Scienze e Tecnologie Agrarie, Università degli Studi di Padova.
- Han H.Y., Choi D.S., Ro K.E. (2017)** Taxonomy of Korean *Bactrocera* (Diptera: Tephritidae: Dacinae) with review of their biology. Journal of Asia-Pacific Entomology, 20(4): pp 1321-1332.

- Martínez-Pertíñez A., Vélez P.M., (2020)** A *Bactrocera oleae* (Rossi) damage estimation model to anticipate pest control strategies in olive production, *Crop Protection*, Vol 137, 105281, ISSN 0261-2194, (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0261219420302143>)
- Mazzarino G, (2012)** Storia della Gastronomia- L'olio e l'olivo nell'antichità (I) in *Alceo Salentino*. Anno X n. 2 Dicembre 2012: 39 - 41
- Mazzon L., Martinez-Sañudo I., Simonato M., Girolami V. (2017)** Considerazioni filogenetiche e biogeografiche su “*Candidatus Erwinia dacicola*” e prospettive per l'allevamento di *Bactrocera oleae* (Rossi), *Atti accademia internazionale di entomologia* 85-91.
- Medjkouh L., Tamendjari A, Keciri S., Santos J., Nunes M.A, Oliveira M.B.P.P. (2016)** The effect of the olive fruit fly (*Bactrocera oleae*) on quality parameters, and antioxidant and antibacterial activities of olive oil, *Food Funct.*,7, 2780
- Nardi F., Carapelli A., Dallai R., Roderick G. K., Frati F. (2005)** Population structure and colonization history of the olive fly, *Bactrocera oleae* (Diptera, Tephritidae). *Mol. Ecol.* 14, 2729–2738.
- Pereira J.A., Alves M.R., Casal S., Oliveira M.B.P.P. (2004)** Effect of olive fruit fly infestation on the quality of olive oil from cultivars Cobrancosa, Madural and Verdeal Transmontana. *Italian Journal of Food Science*, 3(16): 355-365.
- Petacchi R., Rizzi I., Guidotti D. (2003)** The ‘lure and kill’ technique in *Bactrocera oleae* (Gmel.) control: effectiveness indices and suitability of the technique in area-wide experimental trials. *International Journal of Pest Management*, 49(4): 305-311.
- Petri L. (1909)** *Ricerche Sopra i Batteri Intestinali della mosca olearia. Memorie della Regia Stazione di Patologia Vegetale*. Roma: Tipografia nazionale di G. Bertero.

Ricciolini M., Rizzo D. (2010) Avversità dell'olivo e strategie di difesa in Toscana. *Arsia*, pp. 15-60.

Sacchetti P., Liscia A., Pastorelli R., Bigiotti G., Guidi R. & Belcari A. (2017) Le simbiosi batteriche nella mosca delle olive, *Bactrocera oleae*: dalla ricerca di base allo sviluppo di nuove strategie di controllo. *Atti Accademia Nazionale Italiana di Entomologia*, 64 (2016): 93-98.

Schoch C.L., Ciufo S., Domrachev M., Hotton C.L., Kannan S., Khovanskaya R., Leipe D., Mcveigh R., O'Neill K., Robbertse B., Sharma S., Soussov V., Sullivan J.P., Sun L., Turner S., Karsch-Mizrachi I. (2020) NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. Database (Oxford). 2020 Jan 1;2020:baaa 062. doi: 10.1093/database/baaa062. PMID: 32761142; PMCID: PMC7408187.

Sime K. R., Daane K. M., Kirk A., Andrews J. W., Johnson M. W., & Messing R. H. (2007) *Psytalia ponerophaga* (Hymenoptera: Braconidae) as a potential biological control agent of olive fruit fly *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae) in California. *Bulletin of entomological research*, 97(3), 233-242.

Solinas M., Rebora M., De Cristoforo M., Rotundo G, Girolami V., Mori N., Di Bernardo A. (2001). Functional morphology of *Bactrocera oleae* Gmel. (Diptera: Tephritidae) tarsal chemosensilla involved in interactions with the host-plant. *Entomologia*, Bari, pp. 103-123

Tamendjari A., Angerosa F., Bellal M.M. (2004) Influence of *Bactrocera oleae* infestation on olive oil quality during ripening of Chemlal olives. *Italian Journal of Food Science*, 16(3): 43-54.

Tamendjari A., Angerosa F., Mettouchi S., Bellal M. M. (2009) The Effect of Fly Attack (*Bactrocera Oleae*) on the Quality and Phenolic Content of Chemlal Olive Oil. *grasas aceites* pp 60, 509-515.

Thompson C.F. (1999) Introduction in Fruit Fly Expert System and Systematic Information Database, Thompson, F. C. (ed.), pp. 9-47.

Tremblay E. (2005) Entomologia applicata, Liguori Editore, vol. 3, parte seconda, 2a edizione, pp. 133, 135, 136, 145.

Torres-Villa L.M., Rodriguez-Molina M.C., Martinez J.A. (2003) Olive fruit fly damage and olive storage effects on paste microflora and virgin olive oil acidity. *Grasas y Aceites*, 54(3): 285-294.

Torres-Villa L.M., Sanchez A., Ponce F., Delgado E, Aza M.C., Barrena F., Rodriguez F. (2006) Dinámica poblacional de *Bactrocera oleae* Gmelin en Extremadura: fluctuación estacional en el estado reproductivo y en el tamaño imaginal. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*, 32, pp. 57-69

Van Asch B., Pereira-Castro I., Rei F.T., da Costa LT. (2015) Marked Genetic Differentiation between Western Iberian and Italic Populations of the Olive Fly: Southern France as an Intermediate Area.

Voulgaris S., Stefanidakis M., Floros A., Avlonitis M. (2013) Stochastic modeling and simulation of olive fruit fly outbreaks *Procedia Technol.*, 8 (605), pp. 580-586

Yasin S., Rempoulakis P., Nemny-Lavy E., Levi-Zada A., Tsukada M., Papadopoulos N.T., Nestel D. (2014) Assessment of lure and kill and mass-trapping methods against the olive fly, *Bactrocera oleae* (Rossi), in desert-like environments in the Eastern Mediterranean, *Crop Protection*, Volume 57, 63-70

Zwölfer H. (1983) Life systems and strategies of resource exploitation in tephritids. Fruit flies of economic importance. Proceedings of the CEC/IOBC International Symposium, Athens, Greece, 16-30. AA Balkema.

(2020) Regolamento di esecuzione (UE) 2020/1643 della Commissione, relativo alla revoca dei prodotti fitosanitari contenenti le sostanze attive *imidacloprid*, *zeta-cypermethrin* per mancato sostegno della domanda di rinnovo della loro approvazione. Ministero della Salute

“Direzione generale per l’igiene e la sicurezza degli alimenti e la nutrizione” Ufficio 7, Sicurezza e regolamentazione dei prodotti fitosanitari.

(2019) Regolamento di esecuzione (UE) 2019/190 della Commissione del 26 giugno 2019, relativo al mancato rinnovo dell’approvazione della sostanza attiva dimetoato, in conformità al regolamento (CE) n. 1107/2009 del Parlamento europeo e del Consiglio relativo all’immissione sul mercato di prodotti fitosanitari, e che modifica l’allegato del regolamento di esecuzione (UE) n. 540/2011 della Commissione. Ministero della Salute “Direzione generale per l’igiene e la sicurezza degli alimenti e la nutrizione” Ufficio 7, Sicurezza e regolamentazione dei prodotti fitosanitari.

8. SITOGRAFIA

- <https://olivoelio.edagricole.it/agrofarmaci-difesa/estate-2022-calda-e-asciutta-ha-ridotto-rischio-mosca-delle-olive-in-oliveto/>
- <https://www.blog-it.elaisian.com/post/i-danni-della-mosca-sulla-produzione-di-olio-di-qualit%C3%A0>
- <https://lesequoie.it/2019/07/02/olio/>
- <https://www.alceosalentino.it/storia-della-gastronomia-l-olio-e-l-olivo-nell-antichit%C3%A0.html>
- <https://www.frantoionline.it/uliveti-e-olio/produzione-olio-di-oliva-nelle-regioni-italiane.html#:~:text=Il%20patrimonio%20olivicolo%20italiano%20%C3%A8,superficie%20di%201.165.458%20ha.>
- <https://www.georgofili.info/contenuti/le-mosche-delle-giuggiole/2121>
- <https://ojs.cimedoc.uniba.it/index.php/entomol/article/view/734>
- <http://www.sar.sardegna.it/documentazione/agro/moscaolive.asp#:~:text=Sono%20letali%20temperature%20superiori%20ai,superiori%20ai%2016%C2%B0C.>
- <https://fertilgest.imaginenetwork.com/>
- <https://www.consulenteagricolo.it/come-eliminare-la-mosca-dell-olivo/>
- <https://www.fruitjournal.com/wp-content/uploads/2021/11/GUARIO-2-Strategie-di-controllo-MOSCA-OLIVE.pdf>

RINGRAZIAMENTI

In primis devo ringraziare il Prof. Luca Mazzon per la disponibilità a seguirmi in questo progetto di tesi. Ringrazio infinitamente la Dott.ssa Ivana Carofano e la Dott.ssa Isabel Martinez Sañudo per il tempo dedicatomi e per aver reso, insieme a S., che altresì ringrazio, l'esperienza del tirocinio un periodo leggero e stimolante. Ringrazio tutti i membri del G.S., senza l'* qual* probabilmente non avrei mai visto la conclusione del mio percorso universitario. Ringrazio l* amic* del Nord, del Centro, del Sud e di tutto il mondo, che mi fanno sempre sentire abbracciata da ogni direzione, con un pensiero particolare per J., ti aspettiamo tutti con impazienza.

Ringrazio F. per tutto, ma in particolare per mettermi sempre nella condizione di esprimere anche quello che non so di me stessa. Ringrazio l'amore in tutte le sue forme. Ringrazio nonna L. e nonno G., perché il vostro affetto e il vostro credere in me era così forte che so che lo sentirò per sempre. Ringrazio me stessa, perché nonostante mi abbia tenuta a un centimetro dal fondo non ha mai mollato la presa. L'ultimo ringraziamento speciale va ai miei genitori, a mio fratello e a tutta la mia famiglia per tutto il sostegno (morale, emozionale, economico) che mi ha dato durante il mio percorso, non solo accademico ma anche personale, di Vita.