



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE CHIMICHE

**DIPARTIMENTO DI AGRONOMIA, ANIMALI, ALIMENTI, RISORSE
NATURALI E AMBIENTE (DAFNAE)**

CORSO DI LAUREA IN SCIENZE E TECNOLOGIE PER L'AMBIENTE

**MONITORAGGIO DELLE INFESTAZIONI DI TIGNOLE DELLE DERRATE
(LEPIDOPTERA, PYRALIDAE) IN UNO STABILIMENTO ALIMENTARE
SOTTOPOSTO A CONTROLLO BIOLOGICO MEDIANTE
INOCULI DI ANTAGONISTI**

Relatore: Prof. Luca Mazzon

Correlatori:

Dott. Samuele Morao

Dott. Michele Ruzza

Laureando/a: Andrea Bonadiman

Matricola: 2009586

Anno Accademico 2022/2023

INDICE

RIASSUNTO	III
ABSTRACT	III
1. INTRODUZIONE	1
1.1. INFESTAZIONI NELLE INDUSTRIE AGROALIMENTARI	1
1.2. INTEGRATED PEST MANAGEMENT	2
1.2.1. ANTAGONISTI NATURALI	2
1.3. SPECIE TARGET	3
1.3.1. TIGNOLE DELLE DERRATE	3
1.3.2. DESCRIZIONE E CICLO BIOLOGICO DI <i>Plodia interpunctella</i>	3
1.4. PARASSITOIDI	5
1.4.1. DESCRIZIONE E CICLO BIOLOGICO DI <i>Habrobracon hebetor</i>	5
1.4.2. DESCRIZIONE E CICLO BIOLOGICO DI <i>Trichogramma evanescens</i>	6
2. SCOPO DELLA TESI	7
3. MATERIALI E METODI	8
3.1. AZIENDA PILOTA	8
3.2. ALLEVAMENTO TIGNOLE	9
3.3. ALLEVAMENTO E PREPARAZIONE DI <i>H. hebetor</i> e <i>T. evanescens</i>	9
3.4. INOCULO IN AZIENDA E MONITORAGGIO	10
3.5. ANALISI STATISTICHE	12
4. RISULTATI E DISCUSSIONE	13
5. CONCLUSIONI	16
BIBLIOGRAFIA	20

RIASSUNTO

Magazzini e prodotti alimentari possono essere infestati da insetti e altri parassiti come acari e topi, i quali causano notevoli perdite economiche ad aziende di vario tipo. La presenza di questi insetti infatti può causare danni ai macchinari e contaminazione dei prodotti. Di solito, la lotta contro questi organismi si basa sull'utilizzo di prodotti sintetici, ma a causa dei rischi associati, molti importanti biocidi utilizzati in passato sono stati revocati dall'Unione Europea, pertanto, è considerata sempre di più necessaria la ricerca di metodi sicuri, sostenibili e non tossici per il controllo dei parassiti. Si è sviluppato quindi l'Integrated Pest Management (IPM), un approccio basato sull'utilizzo di metodi ecosostenibili per il controllo dei parassiti in agricoltura e nelle industrie. Tra i parassiti più comuni delle derrate alimentari (cereali, pasta, farine, frutta secca) vi sono le tignole. Per limitare la presenza di questi insetti, possono essere adottate diverse tecniche fisiche, chimiche e biologiche, compreso l'utilizzo di antagonisti naturali; due di questi antagonisti sono *Habrobracon hebetor* e *Trichogramma evanescens* che parassitizzano rispettivamente larve e uova delle tignole. Nello studio seguente, abbiamo cercato di valutare l'impatto di tali parassitoidi sulle popolazioni di *P. interpunctella* all'interno di un'azienda pilota, Alfrus srl, sita a Coseano (UD) e adibita alla lavorazione di mandorle. Durante il processo si sono presentate diverse criticità, riportate a fine trattato insieme ad altri consigli su come implementare tali strategie di lotta più efficientemente in futuro. Considerando il breve intervallo di tempo indagato (due mesi e mezzo) l'impatto dei parassitoidi non è risultato statisticamente significativo.

ABSTRACT

Warehouses and food products can be infested by insects and other pests such as mites and rodents, which can cause significant economic losses to various types of companies. The presence of these insects can lead to damage to machinery and product contamination. Typically, the battle against these organisms relies on synthetic products, but due to associated risks, many key biocides used in the past have been revoked by the EU. Therefore, there is an increasing need for the research of safe, sustainable, and non-toxic methods for pest control. Hence, the Integrated Pest Management (IPM) has been developed, an approach based on the use of eco-friendly methods for pest control in agriculture and industries. Among the most common pests in foodstuffs (such as cereals, pasta, flour, and dried fruits), there are moths. To limit the presence of these insects, various techniques can be employed, including the use of natural antagonists. Two of these antagonists are *Habrobracon hebetor* and *Trichogramma evanescens*, which parasitize the larvae and eggs of moths, respectively. In the following study, we ought to evaluate the impact of these parasitoids on the populations of *P. interpunctella* within a pilot company, Alfrus Ltd., (Udine, IT) and engaged in almond processing. Several challenges arose during the process, which are reported at the end of this treatise, along with other recommendations on how to implement these control strategies more efficiently in the future. Considering the short time interval investigated (2,5 months), the impact of the parasitoids did not yield statistically significant results.

1. INTRODUZIONE

1.1. INFESTAZIONI NELLE INDUSTRIE AGROALIMENTARI

Le aziende alimentari sono in genere strutture complesse di grandi dimensioni, con molti punti sensibili alle infestazioni da parte soprattutto di artropodi e roditori. Tali aziende sono diverse tra loro per funzione, struttura, materie prime ospitate, prodotti finiti, apparecchiature, posizione geografica, ambiente circostante e altri fattori ancora [1] pertanto possono essere soggette ad attacco da parte di organismi infestanti molto diversi, i taxa più importanti e ricorrenti nelle aziende agroalimentari sono Tisanuri, Blattoidei, Imenotteri Formicidi, Lepidotteri, Coleotteri, Ditteri, Acari e Roditori [2]. Per quanto riguarda gli insetti, quasi mille specie in tutto il mondo sono state associate ai prodotti conservati, di cui la maggior parte appartiene ai Coleotteri (60%) e ai Lepidotteri (8-9%) [3]. Ogni anno, circa il 18-20% della produzione agricola mondiale, stimata di un valore superiore a 470 miliardi di dollari statunitensi [4] ed il 40% delle derrate conservate [5] vengono persi a causa dell'attacco di insetti dannosi.

Tra i lepidotteri vi sono le tignole dei cereali, tra cui *Plodia interpunctella*, oggetto di questo studio. Le larve di *P. interpunctella* attaccano una vasta gamma di prodotti, tra cui cereali, prodotti a base di cereali, frutta secca, noci, fave di cacao e cioccolato e possono attaccare sia chicchi interi che sani [6]. Come in altre specie di questa famiglia, la contaminazione del prodotto infestato avviene anche a causa della grande quantità di seta che viene prodotta dalle larve, la quale crea, insieme al materiale fecale e al prodotto stesso, un substrato ideale per la crescita di muffe [7]. Il controllo di questa tignola è spesso difficile perché le larve mature tendono ad impuparsi nel mezzo del prodotto alimentare, rendendo l'insetto inaccessibile alle normali applicazioni di insetticidi di contatto [6].

Nel dopo guerra, in seguito all'evidente efficacia del DDT, lo sviluppo di nuovi principi attivi insetticidi di sintesi è stato un ambito di notevole interesse per la ricerca, dal DDT sono stati così sviluppati altri cloroderivati, hanno seguito poi i fosfororganici e i carbammati, tutte sostanze con moderati effetti acuti sui vertebrati [8]. Tra gli anni '50 e '80 è stato indicato un consumo di fito-farmaci decuplicato su scala mondiale. In Italia, per i soli insetticidi-acaricidi, si è passati da poco meno di 5.000 t del 1940 a quasi 52.000 t intorno al 1980 [9]. In concomitanza con l'introduzione dei principi attivi di sintesi si è assistito però ad una crescita molto significativa dei casi di resistenza agli insetticidi [10]; troviamo quindi, anche tra gli insetti delle derrate, resistenza di tipo comportamentale (dovuta al cambiamento delle abitudini), metabolico (dovuta all'azione di sistemi enzimatici che interferiscono con i principi attivi) e causata dall'insensibilità del sito bersaglio [11].

L'Integrated Pest Management (IPM) è stata sviluppata per l'appunto come risposta all'aumento costante dell'uso di pesticidi che ha portato a crisi nel controllo di agenti infestanti (proliferazione di infestanti secondari e sviluppo di resistenza) e alla crescente consapevolezza ed evidenza dei costi complessivi per la salute umana e per l'ambiente derivanti dall'uso intensivo di tali sostanze [12].

1.2. INTEGRATED PEST MANAGEMENT

“Integrated Pest Management (IPM) indica la ponderata considerazione di tutte le tecniche di controllo degli infestanti disponibili e l'integrazione successiva delle misure appropriate che scoraggiano lo sviluppo delle popolazioni di infestanti, mantengono i pesticidi e altri interventi a livelli economicamente giustificati e riducono o minimizzano i rischi per la salute umana e l'ambiente.

L'IPM enfatizza la crescita di colture sane con il minimo possibile disturbo agli agroecosistemi e incoraggia i meccanismi di controllo naturale delle infestanti”

(definizione FAO)

L'IPM incoraggia perciò il produttore a considerare e utilizzare la gamma completa delle migliori opzioni di controllo disponibili, tenendo conto di prospettive economiche, ambientali e sociali; è una strategia che combina pratiche di gestione biologiche, chimiche e fisiche e si basa sull'ecologia e sul concetto di ecosistema e perciò sull'obiettivo di sostenere e promuovere le funzioni naturali proprie degli ecosistemi stessi [12].

Una componente fondamentale della gestione integrata delle infestazioni è senza dubbio il monitoraggio, attraverso il quale, anche mediante l'utilizzo di modelli previsionali adeguati, si possono individuare le soglie di danno, la densità critica di popolazione e le tempistiche di intervento, parametri che permettono di contrastare l'infestazione nel modo più efficiente, ottimizzando tempi e risorse. A tal riguardo, l'operatore deve conoscere bene sia l'ambito produttivo in cui andrà ad intervenire sia l'ecologia delle specie coinvolte nell'infestazione, ciò comporta inevitabilmente che il programma di difesa sia specifico per singola filiera produttiva. Una difficoltà dell'applicazione di strategie di lotta integrata è appunto la mancanza di conoscenza delle dinamiche di popolazione degli infestanti in azienda e la mancanza di dati quali soglie di trattamento o livelli di danno tollerabili [1]. Tra le metodologie di lotta ai patogeni previste dall'IPM vi è l'utilizzo di antagonisti naturali, ovvero organismi predatori, parassitoidi o agenti microbici in grado di causare la morte o parassitizzare le specie dannose da combattere [13].

1.2.1. ANTAGONISTI NATURALI

Negli ultimi dieci anni sono stati pubblicati numerosi studi scientifici su applicazioni di controllo biologico contro artropodi dannosi per gli alimenti, il 70% dei quali si basa sull'impiego di predatori e/o parassitoidi [14]. Alcuni esempi di parassitoidi utilizzabili in lotta biologica sono *Anisopteromalus calandrae* [15], *Lariophagus distinguendus* [16], *Cephalonomia waterstoni* [17], un esempio che si può poi prendere in considerazione per dimostrare la grande efficacia di alcuni parassitoidi come mezzi di controllo è quello di *Theocolax elengans* (Westwood) (Hymenoptera, Pteromalidae), questa specie in particolare è in grado di attaccare *Rhizopertha dominica*, il comune cappuccino dei cereali, e di ridurne la popolazione dal 50 al 99% a seconda della temperatura [18]. L'impiego di antagonisti naturali per il

controllo dei più comuni parassiti rinvenibili nelle industrie recentemente sta riscuotendo un sempre maggior interesse da parte della comunità scientifica anche grazie ai numerosi vantaggi dell'impiego di tali tecniche. Tra gli atti dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia, A. Russo e P. Suma riportano i principali vantaggi e svantaggi di tali metodi, in particolare, tra i vantaggi:

- il controllo biologico è particolarmente interessante per gli impianti di trasformazione che non intendono interrompere il ciclo di lavorazione per intervenire nel controllo degli infestanti;
- l'impiego è sicuro, non vi è infatti nessuna tossicità per operatori, consumatori e ambiente;
- vari antagonisti sono estremamente efficaci, sono spesso specifici e possono attivamente ricercare l'ospite (anche quando presente a bassa densità di popolazione);
- i rischi dell'insorgenza di fenomeni di resistenza sono pressoché nulli.

Tra gli svantaggi bisogna tenere conto che:

- i nemici naturali possono potenzialmente contaminare i prodotti immagazzinati;
- la maggior parte di essi, essendo specifici per determinati agenti dannosi, richiede all'operatore o disinfestatore di conoscere esattamente la o le specie causa dell'infestazione al fine di selezionare gli antagonisti adeguati;
- le tempistiche del loro rilascio devono essere accuratamente programmate, così da sincronizzare il loro sviluppo con la crescita della popolazione dei parassiti;
- non possono essere usati con successo se la densità di popolazione degli infestanti ha raggiunto livelli troppo elevati (diversamente dai fumiganti);
- poche specie di parassitoidi e predatori sono attualmente disponibili in commercio. [19]

1.3. SPECIE TARGET

1.3.1. TIGNOLE DELLE DERRATE

Il termine "tignola" si riferisce perlopiù a lepidotteri appartenenti alla famiglia dei Tineidi, piccole farfalle cosmopolite che vivono nelle abitazioni e nei magazzini [20], ma si usa comunemente per indicare anche altri lepidotteri, appartenenti ad altre famiglie quali Gelechiidae, Tortricidae [21] e Pyralidae, tale famiglia è la più importante nell'ambito dei prodotti immagazzinati poiché include le cosiddette "tignole delle derrate", ovvero specie quali *Ephestia cautella*, *E. kuehniella*, *E. elutella*, [22] (il cui nome comune è, rispettivamente, tignola della frutta secca, tignola grigia della farina e tignola del cacao) e *P. interpunctella*. Su quest'ultimo lepidottero in particolare si concentrerà il seguente studio poiché, dal programma di monitoraggio eseguito nel 2022 in azienda Alfrus srl, è emersa la predominanza di tale infestante.

1.3.2. DESCRIZIONE E CICLO BIOLOGICO DI *Plodia interpunctella*

P. interpunctella (Hübner, 1813) comunemente conosciuta come tignola fasciata del grano, è un

lepidottero infestante diffuso in tutto il mondo, appartiene alla famiglia Pyralidae, sottofamiglia Phycitinae. Può infestare una grande varietà di prodotti ed è forse l'insetto parassita economicamente più importante per i cibi processati [23]. L'uovo è grigio-biancastro, con una lunghezza che varia da 0,3 a 0,5 mm e forma ovale, la superficie, al microscopio, risulta granulosa (figura 1). Le larve appena schiuse sono lunghe poco più di un millimetro, una volta mature sono molto variabili in dimensioni e colorazione [24]. Lo sviluppo larvale si svolge in cinque stadi, distinti perlopiù per dimensione, tuttavia, altri autori hanno indicato che il numero di stadi larvali varia tra cinque e sette, a seconda della fonte di cibo e della temperatura; la durata dei diversi stadi è variabile e quello di durata maggiore è il quinto stadio [25]; quando sono completamente sviluppate in media misurano circa 13 millimetri di lunghezza (fig. 2). Il Dipartimento di Agricoltura degli Stati Uniti (USDA) ha fornito una descrizione accurata dei vari stadi vitali: la maggior parte delle larve è di un bianco sporco, ma molte possono avere sfumature tendenti al rosa-marrone o verde, queste variazioni di colore sono probabilmente dovute in gran parte al tipo di alimentazione. L'intero corpo è scarsamente coperto da lunghi peli sottili. La pupa è di colore marrone chiaro e la sua lunghezza varia dai 6 agli 11 mm, ha una superficie lucida in tutto il suo sviluppo, con le suture segnate da linee sottili di colore più scuro e generalmente, la metà posteriore è più scura. L'insetto adulto ha una colorazione distintiva, l'apertura alare media è di circa 16 mm, la metà prossimale delle ali anteriori è di colore bianco argenteo o grigio con occasionali piccoli punti scuri, la parte distale è di colore bronzo-rossiccio con bande scure irregolari. Le ali posteriori sono uniformemente grigio-argentee con una lunga frangia di seta sul perimetro esterno. L'addome è di colore grigio-marrone mentre il torace è appena più scuro. Le antenne leggermente coniche sono sottili e misurano circa due terzi della lunghezza del corpo.

Secondo quanto osservato da J.C. Pérez, Il ciclo di vita di *P. interpunctella* dalla schiusa dell'uovo fino alla morte dell'adulto è in media di circa 44 giorni per le femmine e di 47 giorni per i maschi. Il periodo larvale, fase in cui l'insetto esplica la sua dannosità nei confronti delle derrate alimentari, rappresenta approssimativamente la metà del ciclo di vita dell'individuo della specie.

P. interpunctella sverna, generalmente, allo stadio di larva, protetta nei ricoveri tra le derrate o in prossimità di queste, si impupa in bozzoli in mezzo alla farina ed altri residui alimentari. L'insetto può compiere da due a quattro generazioni all'anno a seconda delle temperature ambientali [26], mentre in cattività è in grado di compiere un numero di generazioni ancora superiore.



Figura 1: uova di *P. interpunctella* (foto di Samuele Morao)



Figura 2: larva di *P. interpunctella* (foto di Samuele Morao)



Figura 3: esemplari adulti di *P. interpunctella* durante l'accoppiamento (foto di Samuele Morao)

1.4. PARASSITOIDI

1.4.1. DESCRIZIONE E CICLO BIOLOGICO DI *Habrobracon hebetor*

Habrobracon hebetor (Say, 1836) è un imenottero appartenente alla famiglia Braconidae, è un ectoparassitoide gregario e idiobionte (che impedisce lo sviluppo dell'ospite una volta parassitizzato), è un insetto cosmopolita in grado di attaccare numerose larve di lepidotteri, principalmente falene della famiglia Pyralidae [27]. *H. hebetor* appare come una piccola vespa la cui lunghezza media è di circa 3 mm (antenne escluse), con dorso scuro e addome ventralmente più chiaro, la testa e le zampe mostrano alcune sfumature marrone-giallastre mentre le ali sono trasparenti e membranose, caratteristica peculiare degli imenotteri. Le antenne sono lunghe quasi quanto l'intero corpo nei maschi, sono invece più corte nelle femmine. Il dimorfismo sessuale è poi evidenziato dalla presenza, nelle femmine, dell'ovopositore (fig. 7). Le uova sono di colore bianco opaco, lisce ed affusolate, con una lunghezza media di circa 0,52 mm [28] e vengono deposte in numero variabile su o in prossimità delle larve dopo essere state paralizzate [29] [30] (fig. 4). Nell'allevamento, come misurato da A. Kabore, la durata della vita degli adulti sia maschi che femmine può aumentare significativamente da circa 4 a circa 32 giorni quando alimentati con soluzioni di zucchero o miele in assenza di larve ospiti. Per quanto riguarda il tempo di incubazione delle larve, nello stesso studio, condotto su *Corcyra cephalonica* e *Heliocheilus albipunctella*, si è osservato che lo sviluppo delle vespe è durato all'incirca 13 giorni dal momento dell'ovideposizione [31].



Figura 4: uovo di *H. hebetor* su larva di *E. cautella* (foto di Ivana Carofano)



Figura 5: larve di *H. hebetor* su larva di *E. cautella* (foto di Ivana Carofano)



Figura 6: pupa di *H. hebetor* con resti di larva di *E. cautella* (foto di Ivana Carofano)



Figura 7: maschio adulto di *H. hebetor* a sinistra e femmina adulta di *H. hebetor* a destra (foto di Ivana Carofano)

1.4.2. DESCRIZIONE E CICLO BIOLOGICO DI *Trichogramma evanescens*

Trichogramma evanescens (Westwood, 1833) (Hymenoptera, Trichogrammatidae) [32] è un piccolo insetto lungo circa 0,5 mm, noto come parassitoide delle uova già dal 1829. Ad oggi sono conosciute numerose specie di insetti appartenenti a gruppi diversi le cui uova vengono attaccate e distrutte da tale imenottero [33]. Lo sviluppo di *T. evanescens* all'interno delle uova dell'ospite varia da 7 a 25 giorni circa a seconda della specie attaccata e della temperatura ambientale [34]. In uno studio condotto da S. E. Flanders su *Estigmene acraea* si è notato che nelle uova parassitizzate, mantenute a una temperatura abbastanza costante di circa 27°C, il periodo di incubazione dell'uovo è di circa 22 ore e che ci sono tre stadi larvali. Circa 26 ore dopo la schiusa, la larva si trova nel secondo stadio e ha consumato tutto il nutrimento disponibile nell'ospite. La larva entra così nella fase di pre-pupa circa 12 ore dopo aver smesso di nutrirsi. Questa fase dura due giorni e mezzo ed è caratterizzata dalla formazione di cristalli di acido urico di colore bianco latte, uniformemente distribuiti sotto il derma. Allo stadio di pre-pupa segue il periodo pupale, che dura circa tre giorni e mezzo [35]. I tre stadi larvali differiscono nella forma del corpo e nella lunghezza e curvatura delle mandibole (fig. 8): La giovane larva del primo stadio, osservata per la prima volta è allungata con lati quasi paralleli e munita di un paio di minute mandibole rette lunghe circa 3 µm [36]. Con lo sviluppo le mandibole si allungano e assumono una forma sempre più ricurva fino a raggiungere, di norma, i 21 µm nel terzo stadio [37]. L'adulto è di colore marrone-oro e quasi interamente ricoperto da setae rade. Le antenne sono corte, le ali membranose e gli ommatidi sono rossi e ben distinguibili (fig. 9).

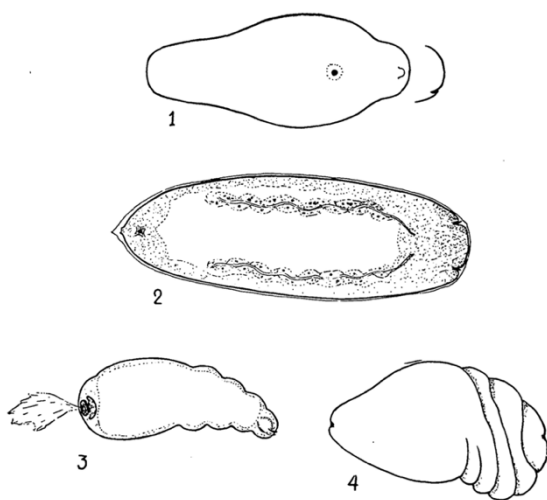


Figura 8: rappresentazione di: 1) uovo di *T. evanescens*; 2) I stadio larvale; 3) II stadio larvale; 4) III stadio larvale



Figura 9: adulto di *T. evanescens* (fonte: fitogest.com)

2. SCOPO DELLA TESI

Gli scopi del lavoro sono stati:

- Messa a punto di tecniche per l'impiego di antagonisti naturali (in particolare di *H. hebetor* e *T. evanescens*) nella lotta alle tignole delle derrate alimentari da implementare all'interno di programmi di lotta integrata e/o biologica nel contesto di aziende agroalimentari;
- Messa a punto delle modalità di monitoraggio dell'insetto ospite;
- Individuazione delle criticità legate a liberazioni e monitoraggi nel percorso di lotta contro le tignole.

Allo scopo, per l'effettuazione delle sperimentazioni, è stata individuata una azienda pilota agroalimentare che stocca e lavora mandorle.

3. MATERIALI E METODI

3.1. AZIENDA PILOTA

Lo studio si è svolto in collaborazione con l'azienda Colkim srl tra maggio e settembre 2023, nelle provincie di Padova e Udine; a Padova, nello specifico al dipartimento di agronomia, animali, alimenti, risorse naturali e ambiente (DAFNAE) di Legnaro si è svolta la parte preparativa del lavoro ovvero l'allevamento delle tignole e dei parassitoidi, mentre a Coseano (UD) si è svolta la parte pratica dello studio, qui infatti sono stati liberati i parassitoidi in azienda, il primo inoculo è avvenuto in data 09/06/23, l'ultimo in data 25/08/23. Si è poi effettuato il monitoraggio della popolazione di *P. interpunctella* i cui ultimi dati risalgono al 1° settembre.

L'azienda pilota dell'esperimento in cui è stato possibile svolgere questo studio è Alfrus srl sede di Coseano (UD), via dell'Industria 16. Alfrus è stata fondata nel 1998 e possiede ad oggi due sedi, quella principale è situata nel comune di Modugno (BA) in via degli Oleandri 25; il suo fatturato ha raggiunto il picco di 118milioni di euro nel 2019 (registroaziende.it). È un'azienda che si occupa di processare mandorle e produrre, oltre a mandorle intere e pelate pronte al consumo, altri prodotti tra cui granelle, farine e marzapane. Alfrus è attivamente coinvolta nella ricerca per l'implementazione di tecnologie alternative e sostenibili, come dichiarato dall'azienda stessa:

“In Alfrus trasformiamo e commercializziamo mandorle da sempre, dando garanzia di qualità, sicurezza ed affidabilità, nel pieno rispetto della sostenibilità ambientale e sociale (...) Grazie alla collaborazione con prestigiosi istituti universitari di ricerca intendiamo migliorare le nostre performance su consumo idrico ed energetico nel processo produttivo. Siamo impegnati in test e valutazioni per l'ottimizzazione dei processi per la lavorazione di pelatura con l'ausilio di tecnologie alternative”. (alfrus.it)

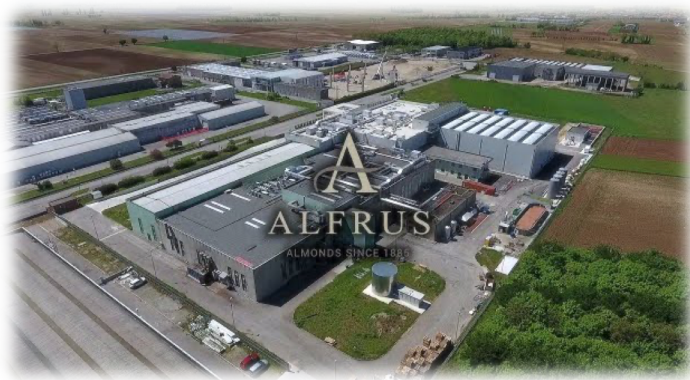


Figura 10: foto aerea della sede Alfrus di Coseano (fonte ALFRUS S.r.l.; yt)



Figura 11: a destra impianto produttivo di Alfrus (fonte Alfrus.it)

3.2. ALLEVAMENTO TIGNOLE

La prima fase del processo, indispensabile ad ottenere il nutrimento necessario per allevare i parassitoidi è l'allevamento delle tignole stesse. Da alcuni studi effettuati all'interno dell'università, si è visto che *H. hebetor* attacca sia *P. interpunctella* che *E. Cautella* (oltre che altre specie note in letteratura) ma *E. cautella* sembrerebbe la specie più adatta alla produzione massale poiché quella considerata di più agevole allevamento grazie al buon tasso di riproduzione. Si è scelto perciò di concentrarsi su tale specie. La fase di allevamento di *E. cautella* è articolata in diversi passaggi:

- a) Preparazione di barattoli da 0,5 l contenenti il substrato in cui porre le uova di tignola. Il substrato, ossia l'alimento delle larve di *E. cautella* veniva preparato mescolando farina di mais (50%), farina di grano tenero (25%), miele (20%), crusca (2,5%), granola (2,5%), lievito (circa 8 mg per ogni kg di alimento) e glicerolo (100 ml per ogni kg di alimento); il tutto veniva unito insieme aggiungendo per ultimi e gradualmente miele e glicerolo, mescolando meticolosamente così da ottenere un substrato uniforme e privo di grumi.
- b) Preparato il substrato di allevamento, distribuivamo le uova nei barattoli con l'ausilio di un micro cucchiaino in grado di contenere 150-200 uova.
- c) Una volta schiuse le uova e dopo circa 25-30 giorni necessari allo sviluppo delle larve, procedevamo con la ricerca e il prelievo di alcuni esemplari abbastanza grandi e in salute da esporre a femmine fecondate di *H. hebetor* per la parassitizzazione.
- d) Le larve nei barattoli non destinate alla parassitizzazione venivano lasciate libere di crescere e completare il ciclo, proseguivamo perciò raccogliendo le tignole adulte sfarfallate e spostando le stesse all'interno di appositi contenitori per la raccolta delle uova; tali contenitori erano provvisti di due parti a cui veniva interposta una rete zanzariera, nella parte alta vi erano gli insetti che, deponendo le uova, le facevano cadere attraverso la rete nel contenitore alla base.
- e) Per terminare il ciclo, le uova venivano raccolte all'interno di un'unica capsula petri, mediante l'utilizzo di un setaccio per filtrare le impurità depositatesi insieme ad esse, il tutto avveniva sotto cappa e con l'utilizzo di una mascherina per evitare la diffusione nell'ambiente e l'inalazione delle numerose scaglie alari presenti nel barattolo.

3.3. ALLEVAMENTO E PREPARAZIONE DI *H. hebetor* e *T. evanescens*

Gli esemplari di *H. hebetor* non destinati all'impiego in azienda venivano mantenuti in laboratorio per permettere loro di riprodursi e proseguire l'allevamento; essendo lo stadio adulto di *H. hebetor* di breve durata, gli esemplari venivano semplicemente mantenuti all'interno di barattoli in cui venivano poste alcune gocce di miele come sostentamento; in tali barattoli avveniva poi la fecondazione delle femmine: perché la quale avvenga con sufficiente certezza, le stesse devono rimanere nel medesimo ambiente dei maschi per almeno i tre giorni successivi allo sfarfallamento; va posta attenzione al fatto che le femmine

di *H. hebetor*, se non fecondate, vanno incontro a partenogenesi arrenotoca producendo pertanto solamente figli maschi. Per la produzione delle pupe abbiamo utilizzato delle petri da 60 x 8 mm, al cui interno ponevamo quindici larve di *E. cautella* per ciascuna, dopodiché con l'ausilio di un aspiratore entomologico prelevavamo 4 esemplari femmina di *H. hebetor* fecondati e li ponevamo all'interno delle petri insieme alle larve, in questa fase non è necessario predisporre ulteriore nutrimento ai parassitoidi poiché si nutriranno dell'emolinfa delle larve attaccate (host feeding). Dopo quattro giorni si può ragionevolmente supporre che tutte le femmine abbiano ovideposto e che di conseguenza tutte le larve di tignola siano state parassitizzate, si possono perciò prelevare i parassitoidi (a questo punto gli stessi possono essere conservati a 5°C per essere utilizzati successivamente per la riproduzione). Da questo momento si hanno a disposizione circa 13-14 giorni prima dello sfarfallamento degli adulti (questo è quindi il frangente di tempo in cui spedire e disporre le pupe in azienda).

Per l'ottenimento delle pupe di *T. evanescens* ricorrevamo alla preparazione di foglietti di carta quadrettata (0,5 cm) all'interno dei quali ponevamo gomma arabica come collante per farvi aderire le uova di tignola, al termine disponevamo così di pezzi di carta con 12 cm² di superficie ricoperti di circa 3000 uova; fatto questo collocavamo le cartine sotto i raggi UV a 254 nm per 30 minuti ad una distanza di circa 15 cm per sterilizzare le uova ed evitare la nascita indesiderata di qualche individuo. Infine procedevamo con la parassitizzazione, disponevamo dunque tali cartine all'interno di provette falcon da 50 ml contenenti cartine parassitizzate in precedenza e di conseguenza anche gli adulti di *T. evanescens*. I parassitoidi attaccano prontamente le uova di tignola e da questo momento passeranno soltanto 10 giorni dai primi sfarfallamenti della nuova generazione di *T. evanescens*, al termine dei quali è bene che i nuovi individui dispongano già di nuove uova pronte alla parassitizzazione.

3.4. INOCULO IN AZIENDA E MONITORAGGIO

Per la realizzazione dello studio, seguito in prima linea dall'azienda Colkim srl, si è preventivamente effettuato un programma di monitoraggio degli infestanti in azienda Alfrus nell'anno 2022, da cui è emerso che l'infestante principale è *P. interpunctella* e che le zone a maggior infestazione sono "selezionatura", "produzione" e "magazzino"; si è deciso di conseguenza di effettuare i successivi test all'interno di tali zone.

Per prima cosa, data l'individuazione di larve o di punti ricchi di residui di lavorazione soggetti all'ovideposizione da parte di *P. interpunctella*, sono stati determinati dei punti strategici in cui disporre i parassitoidi. Gli inoculi sono iniziati il 9 giugno 2023 e sono proseguiti a cadenza bisettimanale; Il quantitativo di insetti inoculati variava a seconda della disponibilità di produzione.

Zona	Tipologia	9-giu	16-giu	23-giu	30-giu	7-lug	14-lug	21-lug	28-lug	4-ago	11-ago	25-ago	1-set
CARICO LINEA	<i>H. hebetor</i>	400		500		400			500			1200	
	<i>T. evanescens</i>			7500		7500			10000			20000	

Tabella 1: Individui di *H. hebetor* e *T. evanescens* liberati per ogni data d'inoculo

Per *T. evanescens* venivano posizionate le cartine con uova di *E. cautella* parassitizzate da cui sarebbero sfarfallati i parassitoidi adulti, per quanto riguarda *H. hebetor*, gli inoculi sono avvenuti sia con la diretta liberazione di esemplari sia con le pupe. Nel fare questo abbiamo mantenuto un settore dell'impianto come controllo, all'interno del quale abbiamo posizionato le trappole per il monitoraggio ma non abbiamo inoculato i parassitoidi, così da poter riscontrare un'eventuale differenza nel numero di individui di tignola in una zona e nell'altra in fase di analisi dei dati. Nello specifico, il locale individuato per gli inoculi è stato il locale "P6-Carico Linea" della dimensione di 498m², il settore utilizzato come controllo invece è stato il locale "P8-Essiccazione" di dimensioni 772m². (Nell'immagine sotto la planimetria della sezione aziendale coinvolta).

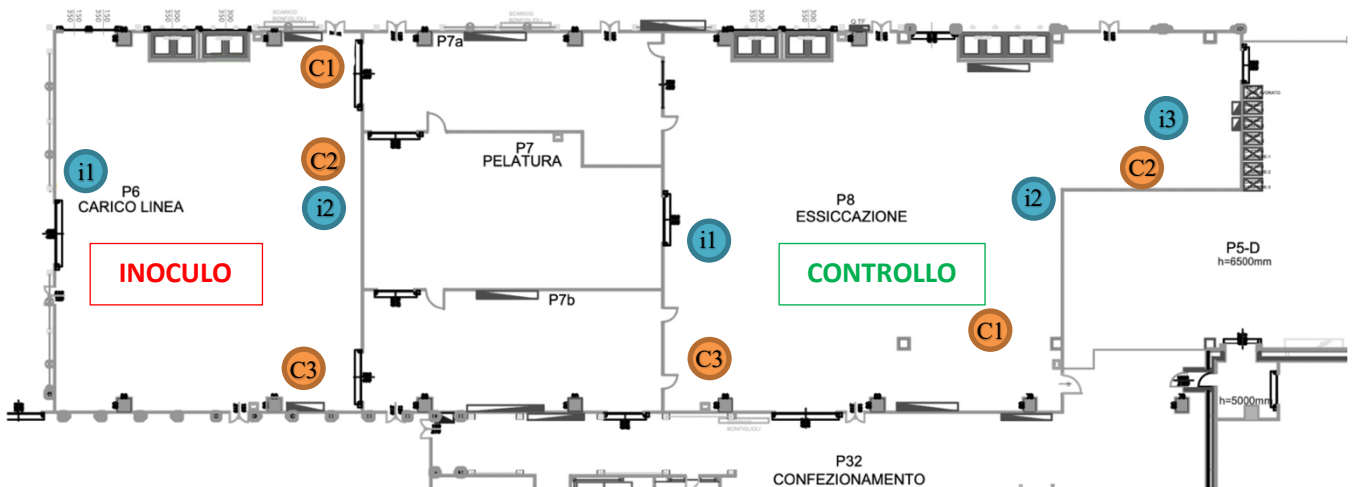


Figura 12: Planimetria aziendale di Alfrus srl con messe in evidenza l'area P6 (sottoposta a inoculi), l'area P8 (controllo) e la posizione delle trappole per il monitoraggio. C=collante, i=imbuto.

Per quanto riguarda i monitoraggi, le trappole sono state posizionate per lo più sopraelevate sui soppalchi adibiti all'accesso e alla manutenzione dei macchinari; l'attrezzatura posizionata è stata la seguente:

- 3 trappole collanti pronto uso nel locale P6 e 3 nel locale P8, modello *Storgard III Quick-Change Ultra Combi* (fig. 13), costituito da un cartone teso e plastificato ad "arco" con base adesiva e griglia di monitoraggio. Risulta pre-attivato con kairomone e feromone sessuale specifico per le specie oggetto di monitoraggio che garantisce cattura di individui adulti di lepidotteri delle derrate quali *P. interpunctella*, *E. küeniella*, *E. elutella*, *E. cautella* e tignola dei fichi secchi (*C. figulilella*) e di coleotteri delle derrate quali anobio del tabacco (*Lasioderma serricone*) e trogoderma dei cereali (*Trogoderma granarium*); il raggio attrattivo della trappola è di 15-20 m.

Figura 13: Trappola collante modello Storgard III Quick-Change Ultra Combi; fonte: trece.com



- 2 trappole a cattura a imbuto (fig. 14) nel locale P6 e 3 nel locale P8, armate con *feromone COMBI* (*Imm+4-CB3*) che garantisce cattura di individui adulti di lepidotteri delle derrate quali *P. interpunctella*, *E. küeniella*, *C. figulella*, *E. elutella*, *E. cautella* e di coleotteri delle derrate quali *L. serricone*.

Figura 14: Trappola a cattura a imbuto armata con feromone COMBI; (foto di Andrea Bonadiman)



La conta delle catture avveniva una volta a settimana, il cambio dei feromoni attrattivi delle trappole, invece, è avvenuto a cadenza mensile come da operatività tipica delle aziende. Per il controllo aziendale delle tignole, oltre agli inoculi, è stato applicato anche un trattamento adulticida con piretro naturale nel giorno 23 luglio, vista l'eccessiva proliferazione degli infestanti registrata il 21/07/23.

3.5. ANALISI STATISTICHE

I dati sono stati analizzati tramite il software R (R Code Team, 2021). Per confrontare i dati si è scelto di applicare un modello lineare misto con variabile di risposta il numero di catture raccolte durante i monitoraggi. Le variabili esplicative categoriche sono rappresentate dalla tipologia di tesi, ossia la zona in cui sono state effettuate le catture (zona in cui sono stati effettuati gli inoculi e zona di controllo), la data di campionamento e l'interazione tra queste due variabili. L'effetto random è rappresentato dal codice univoco della trappola. Successivamente è stata eseguita l'analisi della varianza (ANOVA a 2 vie) per controllare la significatività degli effetti dovuti alla differenza di zona e al giorno dei monitoraggi. L'analisi tra questi due fattori è stata fatta attraverso il calcolo delle medie marginali stimate (EMMs).

4. RISULTATI E DISCUSSIONE

Qui di seguito (tab. 2) sono riportati i dati delle catture di *P. interpunctella* registrati da tutte le trappole all'interno dei due settori aziendali: il settore P6 di inoculo (CARICO LINEA) e il settore P8 di controllo (ESSICCAZIONE) con relativi grafici (grafici 1 e 2).

Zona	Tipologia	16-giu	23-giu	30-giu	7-lug	14-lug	21-lug	28-lug	4-ago	11-ago	25-ago	1-set
CARICO LINEA	Collante	37	37	76	84	82	125	67	82	94	57	82
CARICO LINEA	Collante	42	41	83	45	68	97	59	57	54	53	32
CARICO LINEA	Collante	34	45	8	53	58	76	18	71	52	44	19
CARICO LINEA	Imbuto	2	1	5	5	12	0	4	9	4	2	0
CARICO LINEA	Imbuto	0	7	3	9	34	16	12	32	34	11	5
ESSICCAZIONE	Collante	32	64	47	61	68	83	58	61	61	53	/
ESSICCAZIONE	Collante	52	51	59	50	54	79	78	65	55	44	70
ESSICCAZIONE	Collante	32	38	43	26	63	65	70	70	54	69	56
ESSICCAZIONE	Imbuto	0	1	5	2	9	1	5	11	8	12	4
ESSICCAZIONE	Imbuto	0	8	20	24	39	9	4	53	17	23	21
ESSICCAZIONE	Imbuto	1	10	12	22	13	19	14	27	19	22	35

Tabella 2: dati di catture di *P. interpunctella* registrati da tutte le trappole durante l'intero periodo

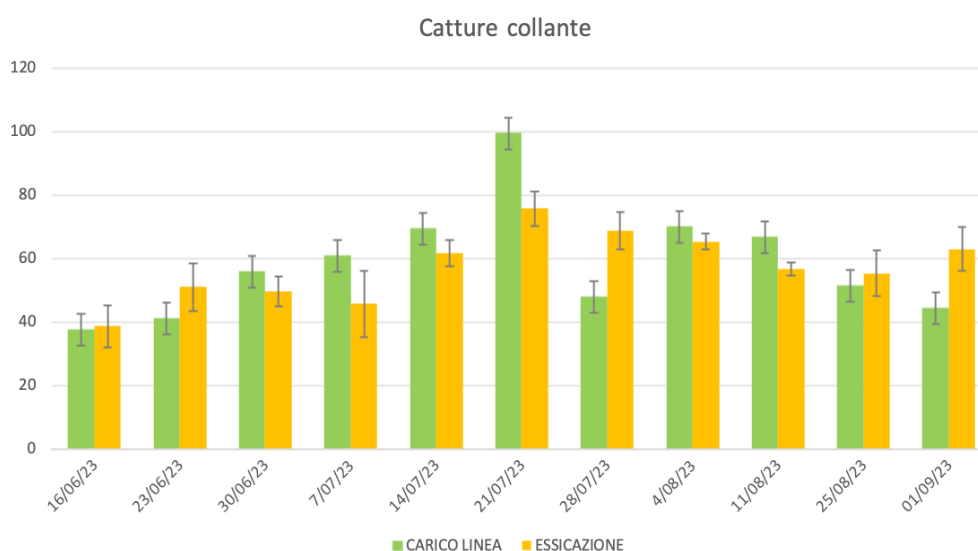


Grafico 1: andamento catture di *P. interpunctella* nei settori "carico linea" ed "essiccazione" registrate dalle trappole a collante

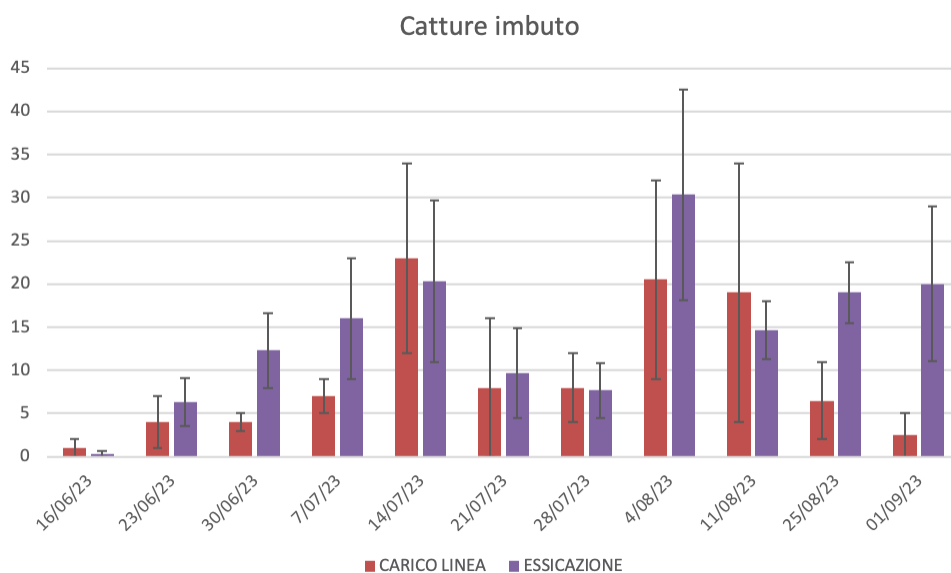


Grafico 2: andamento catture di *P. interpunctella* nei settori "carico linea" ed "essiccazione" registrate dalle trappole a imbuto

Le catture qui riportate (grafici 1 e 2) fanno riferimento a dati “grezzi”, ottenuti dalla semplice conta degli individui di *P. interpunctella* ritrovati nelle trappole. Dalle analisi effettuate è emerso che l’interazione tra i fattori zona e data di monitoraggio non è significativa, pertanto non è stata considerata per le analisi successive. Confrontando le catture settimanali è emerso che la differenza di catture nella zona di inoculo e di controllo risulta sempre non significativa ($p\text{-value} > 0,05$). Visto però che i due settori oggetto del test hanno dimensioni sensibilmente diverse fra loro, il reparto essiccazione ha infatti una superficie a terra del 55% più grande rispetto al reparto carico linea, si è vista la necessità di rapportare i dati a delle superfici di riferimento. Qui sotto si riportano la tabella (tab. 3) e i grafici (grafici 3 e 4) con i dati normalizzati ad una superficie ipotetica di 100m².

Settore	Tipologia	16-giu	23-giu	30-giu	7-lug	14-lug	21-lug	28-lug	4-ago	11-ago	25-ago	1-set
CARICO LINEA	Collante 1	7	7	15	17	16	25	13	16	19	11	16
CARICO LINEA	Collante 2	8	8	17	9	14	19	12	11	11	11	6
CARICO LINEA	Collante 3	7	9	2	11	12	15	4	14	10	9	4
CARICO LINEA	Imbuto 1	0,4	0,2	1,0	1,0	2,4	0,0	0,8	1,8	0,8	0,4	0,0
CARICO LINEA	Imbuto 2	0,0	1,4	0,6	1,8	6,8	3,2	2,4	6,4	6,8	2,2	1
ESSICAZIONE	Collante 1	4	8	6	8	9	11	8	8	8	7	/
ESSICAZIONE	Collante 2	7	7	8	6	7	10	10	8	7	6	9
ESSICAZIONE	Collante 3	4	5	6	3	8	8	9	9	7	9	7
ESSICAZIONE	Imbuto 1	0,0	0,1	0,6	0,3	1,2	0,1	0,6	1,4	1,0	2,0	1,0
ESSICAZIONE	Imbuto 2	0,0	1,0	2,6	3,1	5,1	1,2	0,5	6,9	2,2	3,0	3,0
ESSICAZIONE	Imbuto 3	0,1	1,3	1,6	2,8	1,7	2,5	1,8	3,5	2,5	3,0	5,0

Tabella 3: dati di catture di *P. interpunctella* riportati a 100mq, registrati da tutte le trappole sull'intero periodo

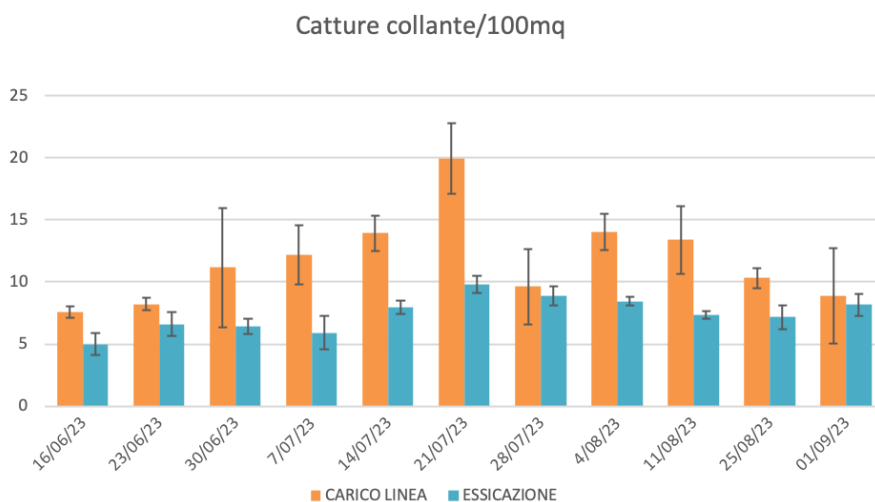


Grafico 3: Andamento catture collanti rapportate a 100mq nei settori "carico linea" ed "essiccazione"

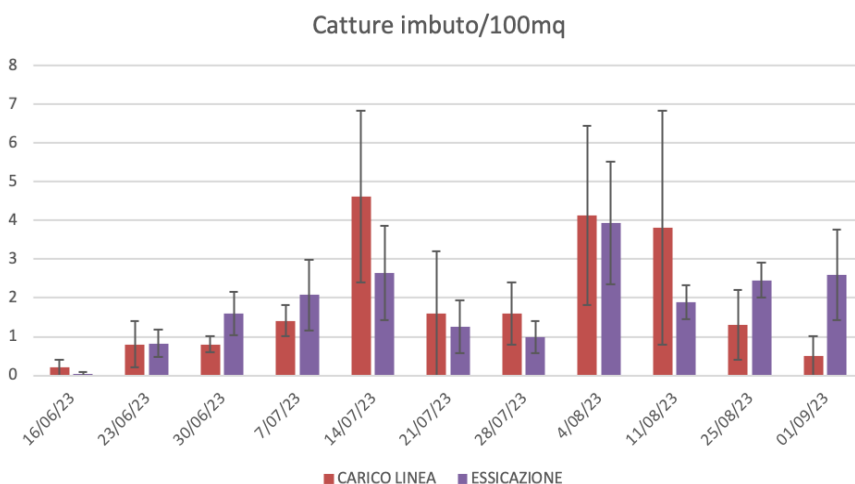


Grafico 4: Andamento catture imbuti rapportate a 100mq nei settori "carico linea" ed "essiccazione"

Nel grafico 3 si può notare come ci sia un picco di catture il giorno 21 luglio, in conseguenza del quale il protocollo operativo di Alfrus ha previsto ed effettuato un trattamento adalticida con piretro naturale, a seguito del quale si è raggiunto un minimo di catture per il reparto P6 nel giorno 28/07/23. Non è poi visibile una correlazione evidente tra la popolazione di tignole e gli inoculi dei parassitoidi nel primo periodo, poiché, nel settore d'inoculo, la popolazione di *P. interpunctella* cresce regolarmente fino al giorno del trattamento, al contrario nel settore di controllo sembra rimanere pressoché stabile oscillando sempre intorno a una media di 7,41 catture. Anche in questo caso, la differenza tra le catture durante il periodo di monitoraggio non è risultata significativa ($p\text{-value} > 0,05$), neppure considerando i soli dati successivi al trattamento con piretro.

5. CONCLUSIONI

In questo lavoro si presentano dati relativi alle liberazioni di antagonisti naturali di tignole quali *H. hebetor* e *T. evanescens* all'interno di uno stabilimento agroalimentare adibito alla lavorazione di mandorle. Sono state condotte complessivamente cinque liberazioni, nelle quali sono stati rilasciati circa 3000 individui di *H. hebetor* e circa 45000 esemplari di *T. evanescens*.

Bisogna rimarcare che le liberazioni sono avvenute nell'ambiente "carico linea" che dai dati di monitoraggio presentava livelli di infestazione superiori alla zona "essiccazione" mantenuta come controllo non trattato. Pertanto, va sottolineato che gli insetti utili liberati sono stati inseriti in un contesto maggiormente severo con livelli di infestazione maggiore.

Complessivamente le operazioni di liberazione e monitoraggio si sono condotte per un periodo di circa 2 mesi e mezzo (dal 15 giugno al 1° settembre). Considerando i dati di cattura delle trappole adesive, è risultato che nel locale trattato il livello di infestazione si è mantenuto sempre al di sopra rispetto al locale non trattato. Un trend a ribasso dell'infestazione, invece, è emerso considerando solo l'ultimo mese di attività. In quest'ultimo caso si può osservare come il locale d'inoculo presenti un livello di infestazione decrescente al contrario del locale non trattato nel quale l'infestazione tende a mantenersi costante (grafico 5). Nell'ultimo mese, l'effetto delle liberazioni sull'infestazione sembra evidente anche nelle catture delle trappole ad imbuto. In quest'ultimo caso infatti, l'infestazione del settore di controllo finisce con il superare quella del locale trattato nelle ultime due settimane (grafico 6). Differenze che però non risultano mai essere statisticamente significative.

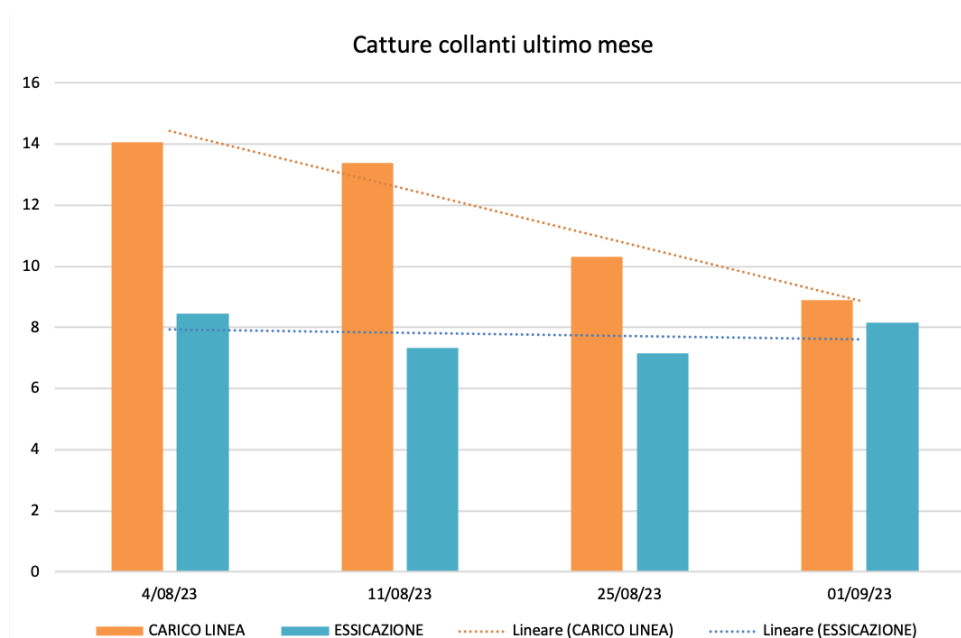


Grafico 5: Andamento catture delle trappole a collante nell'ultimo mese di monitoraggio, si può ben vedere come le catture tendano a scendere nel settore di inoculo mentre rimangono stabili nel settore di controllo

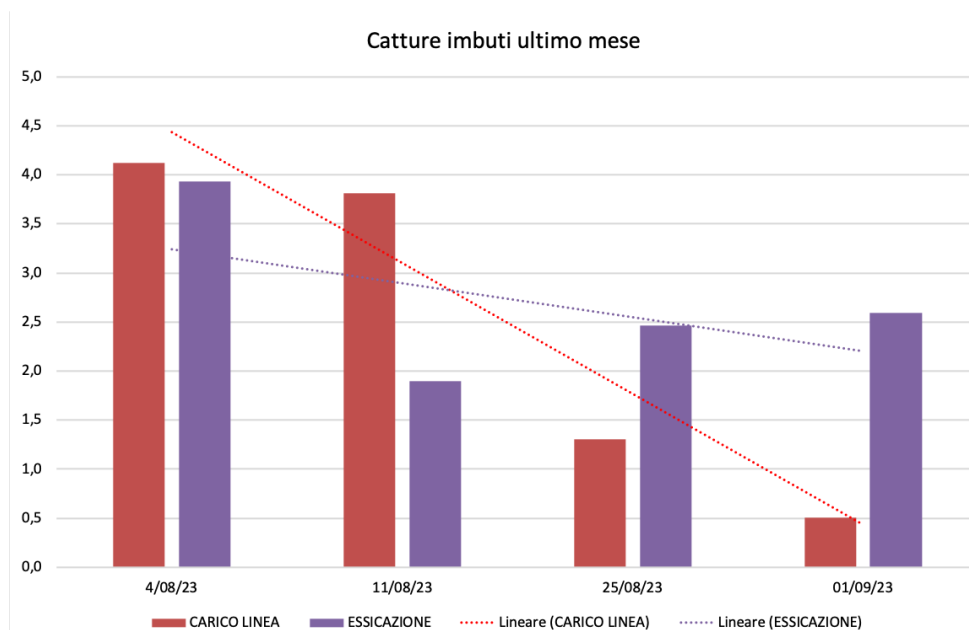


Grafico 6: Andamento catture delle trappole a imbuto nell'ultimo mese di monitoraggio, si può osservare come le catture tendano a scendere nel settore di inoculo mentre tendono a crescere nelle ultime tre date nel settore di controllo

Sebbene lo studio non abbia dimostrato una correlazione statistica definita nell'andamento della popolazione di infestanti aziendali e gli inoculi degli antagonisti, non si può dimostrare l'inefficacia di tali mezzi di controllo anche perché i dati, come appena mostrato, evidenziano nell'ultimo mese una correlazione a favore dell'efficacia dei parassitoidi. Due mesi e mezzo sono un lasso di tempo troppo corto per tale tipologia d'indagine, se lo studio si fosse protratto più a lungo è possibile che si sarebbe riscontrato un impatto significativo degli inoculi sulla popolazione infestante. Nello svolgimento dell'intero lavoro inoltre sono intervenuti molteplici fattori che hanno complicato lo studio e che possono aver interferito con l'attività dei parassitoidi o con la mobilità degli infestanti; tale tesi perciò è da considerarsi un trattato pioniere nell'ambito del controllo biologico mediante antagonisti naturali nelle aziende agroalimentari, visto che la letteratura a riguardo è ancora limitata e che tali tecniche sono ancora allo stadio embrionale, le informazioni qui contenute possono essere perciò utilizzate in ulteriori studi per evitare errori di vario tipo o approfondire determinati aspetti che potrebbero aver interferito con i processi di parassitizzazione. Tra le criticità incontrate durante lo svolgimento dello studio vi sono:

- Differenza nelle trappole; le due tecniche di monitoraggio adottate hanno catturato in modo molto diverso, in particolare le trappole adesive hanno rilevato livelli di infestazione sempre maggiori rispetto alle trappole a imbuto nonostante l'attrattivo feromonico impiegato fosse lo stesso. Le trappole a imbuto sembrerebbero più adatte a classificare le specie dato che permettono di catturare individui intatti, le trappole collanti al contrario, non garantiscono l'integrità degli individui catturati, complicano la classificazione delle specie e sembrano dunque più adatte a monitorare l'andamento della popolazione. Grazie all'ampia superficie adesiva infatti sono più inclini a catturare un gran numero di individui.
- Isolamento relativo dei settori aziendali e raggio d'azione dei feromoni; una delle problematiche

maggiori dell'esperimento è forse data dal poco isolamento dei settori aziendali, il settore "carico linea" infatti non risulta ermeticamente separato dalle stanze adiacenti, tantomeno dal corridoio, per accedere al quale vi è una grande serranda che viene aperta in continuazione per permettere il passaggio dei carrelli elevatori e del personale; anche da chiusa, oltretutto, la serranda non si può considerare impenetrabile per un insetto. Visto quindi l'ampio raggio d'azione dei feromoni è molto probabile che gli insetti siano stati attirati verso le trappole del settore P6 anche dal corridoio, in aggiunta ricco di materiali sensibili, poiché servente da deposito temporaneo e collegamento tra vari distretti aziendali. È importante poi sottolineare il fatto che il corridoio connette la quasi totalità dei locali aziendali e può perciò riunire insetti provenienti da ogni angolo dell'azienda. In conclusione le tecniche di monitoraggio adottate per l'insetto infestante potrebbero avere causato una sovrastima dell'infestazione.

- Problematiche legate ai metodi di spedizione e consegna degli insetti in azienda; ad oggi non esistono infatti modalità di spedizione appositamente studiate per il trasporto regolare e tempestivo di artropodi vivi, che rispettino tempistiche rigorose e/o che mantengano temperature adeguate alla sopravvivenza degli individui o che comunque non accelerino eccessivamente le loro attività metaboliche.
- Problematiche legate ai limiti di produzione dei parassitoidi; l'allevamento di *H. hebetor* e *T. evanescens* infatti è avvenuto all'interno di un laboratorio della DAFNAE, seguito dal Dott. Morao S. con l'eventuale aiuto di qualche tirocinante e non si può quindi considerare una produzione di livello industriale. Se ci fosse stata la possibilità di produrre e liberare un numero maggiore di parassitoidi, la parassitizzazione potrebbe aver avuto un impatto rilevabile maggiore sulla popolazione di *P. interpunctella*.
- Effetti legati al disturbo acustico; in entrambi i settori aziendali P6 e P8, vi è un fragoroso rumore dovuto all'azione dei macchinari e allo scorrimento delle mandorle nei canali d'acciaio, è possibile perciò, aspetto senz'altro da approfondire, che l'attività dei parassitoidi sia stata influenzata negativamente da tale condizione poiché, come espresso da L. Classen-Rodríguez, i rumori antropici possono interferire in molteplici modi con la comunicazione inter e intraspecifica degli insetti [38].

In prospettiva futura di implementazione di tali tecniche o di studi di approfondimento, si suggeriscono alcune migliorie da apportare nel processo:

- Nella presente indagine non sono state adottate misure di monitoraggio degli antagonisti liberati. Sarebbe molto consigliabile, in futuro, effettuare del monitoraggio anche sulla popolazione di insetti utili al fine di valutarne l'attività, esponendo un numero noto di larve e uova di ospite in ambiente confinato per valutare il grado di parassitizzazione subita.

- Nel presente studio sono stati considerati solo due ambienti: uno per le liberazioni e uno per il controllo ma in realtà, al fine di ottenere dati che possano essere statisticamente meglio supportati, sarebbe doveroso considerare un maggior numero di ambienti e di replicazioni.
- Controllo della temperatura aziendale; nell'ottica di uno studio futuro, sarebbe opportuno registrare le temperature all'interno dell'impianto durante il periodo di svolgimento dello studio, per individuare eventuali correlazioni con l'attività degli insetti. A temperature elevate infatti, le tignole tendono ad incrementare le loro attività vitali, raggiungendo la fecondità massima a 30°C [39] e aumentando il successo riproduttivo [40], i parassitoidi invece possono mostrare relazioni più complesse con la temperatura poiché, pur intensificando volo e attività locomotorie all'aumentare della temperatura [41], se trattati con basse temperature per diverso tempo possono, ad esempio, mostrare un incremento nel numero di ovarioli [42], inoltre, da altri studi come quello effettuato da J. De Boer su *Asaphes* spp. e *Dendrocerus* spp., due iperparassitoidi di afidi, si è visto come l'aspettativa di vita di entrambi gli imenotteri sia significativamente ridotta a 30°C rispetto a 22°C [43].

Bisogna infine considerare che i numeri registrati dalle trappole non sono pienamente rappresentativi della popolazione di tignole e la relazione tra individui catturati e popolazione effettiva è complicata. Il target dei parassitoidi e delle trappole è infatti diverso visto che le trappole attirano solo adulti mentre *H. hebetor* e *T. evanescens* attaccano rispettivamente larve e uova, per cui le trappole agiscono su una generazione di individui ospite con cui i parassitoidi hanno interagito 20-50 giorni prima.

In conclusione l'impatto misurato degli inoculi sulle tignole non è risultato significativo, probabilmente anche perché l'infestazione di partenza era eccessiva, in aggiunta, è possibile che nuove tignole arrivassero regolarmente in azienda trasportate dai nuovi carichi in entrata o dall'ambiente esterno attraverso aperture, attratte dal cibo. Da notare che, nonostante il trattamento con piretro, le catture sono continuate a pieno ritmo, seppur diminuite nei giorni immediatamente successivi. Giacché, come accennato nell'introduzione: "gli antagonisti naturali non possono essere usati con successo se la densità di popolazione degli infestanti ha raggiunto livelli troppo elevati" [19].

Bibliografia

- [1] P. Trematerra, «Strumenti decisionali e integrated pest management nelle filiere alimentari,» in *Atti Accademia Nazionale Italiana di Entomologia*, Firenze, 2019.
- [2] A. Belcari, *Gestione integrata degli animali infestanti nelle industrie alimentari*, Firenze: Firenze University Press, 2012.
- [3] FAO, «Introduction to general taxonomy and biology/ ecology of stored products insect pests,» [Online]. Available: <https://www.fao.org/3/x5048e/x5048E09.htm>. [Consultato il giorno 27 luglio 2023].
- [4] S. Sharma, R. Kooner e R. Arora, «Insect pests and crop losses,» in *Breeding insect resistant crops for sustainable agriculture*, Springer, 2017, pp. 45-66.
- [5] G. A. Matthews, *Application technology for crop protection*, Wallingford: CAB International, 1993, p. 360.
- [6] FAO, «Moths of economic importance infesting stored products: Selected notes on bionomics and identification,» [Online]. Available: <https://www.fao.org/3/x5048e/x5048E0c.htm#Moths%20of%20economic%20importance%20infesting%20stored%20products:%20Selected%20notes%20on%20bionomics%20and%20identification>. [Consultato il giorno 27 luglio 2023].
- [7] J.-K. Shim e K.-Y. Lee, «Chilling results in failure of silk secretion by wandering larvae of *Plodia interpunctella*,» *Journal of Asia-Pacific Entomology*, vol. 18, n. 3, pp. 483-487, 2015.
- [8] S. Barbagallo, «Il controllo degli insetti dannosi, un processo evolutivo tra chimica e biotecnologie» pp. 359-367.
- [9] G. Delrio, «Effetti sull'ambiente degli insetticidi a largo spettro d'azione,» in *Atti Società Italiana di Ecologia*, Sassari, 1988.
- [10] T. Sparks e R. Nauen, «IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management,» *Pest Biochemistry and Physiology*, vol. 121, pp. 122-128, 2015.
- [11] S. Boyer e L. G., «A review of control methods and resistance mechanisms in stored-product insects,» *Bulletin of Entomological Research*, vol. 102, pp. 213-229, 2012.
- [12] FAO, «fao.org,» [Online]. Available: <https://www.fao.org/pest-and-pesticide-management/ipm/integrated-pest-management/en/>. [Consultato il giorno 27 luglio 2023].
- [13] M. Ferrari, E. Marcon e A. Menta, *Fitopatologia, entomologia agraria e biologia applicata*, Milano: RCS Libri S.p.A., 2006, pp. 179-181.
- [14] J. Riudavets, «Biological control of stored products pests» *IOBC/WPRS Bulletin*, vol. 130, pp. 107-109, 2018.
- [15] P. Suma, S. Bella, A. La Pergola e A. Russo, «Risposte olfattometriche di imenotteri ectoparassitoidi degli infestanti dei cereali in post raccolta,» *Dipartimento di Gestione dei Sistemi Agroalimentari e Ambientali (Di Ge. SA), sez. Entomologia applicata, Università degli Studi di Catania*.
- [16] S. Bedini, P. Farina e B. Conti, «Bioattività degli oli essenziali: luci e ombre del loro utilizzo nella gestione degli insetti dannosi,» in *Atti Accademia Nazionale Italiana di Entomologia*, Firenze, 2019.
- [17] P. W. Flinn e D. W. Hagstrum, «Simulation model of *Cephalonomia waterstoni* (Hymenoptera: Bethyilidae) parasitizing the rusty grain beetle (Coleoptera: Cucujidae),» *Environmental Entomology*, vol. 24, pp. 1608-1615, 1998.
- [18] M. D. Toews, T. W. Phillips e G. W. Cuperus, «Effects of wheat cultivar and temperature on suppression of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) by the parasitoid *Theocolax elegans* (Hymenoptera: Pteromalidae),» *Biological Control*, vol. 21, pp. 120-127, 2001.
- [19] A. Russo e P. Suma, «Biological control in food industries,» in *Accademia Italiana Nazionale di Entomologia*, Firenze, 2019.
- [20] Enciclopedia Treccani, «treccani.it,» [Online]. Available: <https://www.treccani.it/vocabolario/tignola/>. [Consultato il giorno 4 settembre 2023].
- [21] T. Visigalli, «Efficacia di alcuni insetticidi nel contenimento delle popolazioni di tignola orientale del

pesco (*Cydia molesta* Busck.) nel veronese,» *L'informatore Agrario*, vol. 21, pp. 85-88, 2000.

- [22] A. Nencetti, D. Bacciotti, P. Macchione e U. Giancetti, I principali Artropodi parassiti degli alimenti, 2012, pp. 73-115.
- [23] S. Mohandass, F. H. Arthur, K. Y. Zhu e J. E. Throne, «Biology and management of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) in stored products,» *ScienceDirect*, pp. 1-2, 2006.
- [24] J. C. Hamlin, W. D. Reed e M. E. Phillips, «Biology of the indian-meal moth on dried fruits in california,» *United States department of agriculture*, n. 242, pp. 2-3, 1931.
- [25] J. Pérez, S. Ramírez e M. Suris, «Biología de *Plodia interpunctella* Hubner sobre garbanzo (*Cicer arietinum* L.) en condiciones de laboratorio,» *Revista de Protección Vegetal*, vol. 27, n. 2, 2012.
- [26] M. Ferrari, E. Marcon e A. Menta, Fitopatologia, entomologia agraria e biologia applicata, Milano: RCS Libri S.p.A., 2006, p. 443.
- [27] P. A. Eliopoulos e G. J. Stathas, «Life Tables of *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) Parasitizing *Anagasta kuehniella* and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae): Effect of Host Density,» *ResearchGate*, vol. 101, n. 3, p. 982, 2008.
- [28] C. Pezzini, S. Mundstock Jahnke e A. Köhler, «Morphological characterization of immature stages of *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera, Braconidae) ectoparasitoid of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera, Pyralidae),» *Journal of Hymenoptera Research*, vol. 60, pp. 157-171, 2017.
- [29] M. F. Antolin e M. R. Strand, «Variable sex ratio and ovicide in an out breeding parasitic wasp,» *Animal Behaviour*, vol. 17, pp. 1-7, 1995.
- [30] G. C. Ulyett, «Distribtion of progeny by *Microbracon hebetor* Say.,» *Journal of the Entomological Society of Southern Africa*, vol. 8, pp. 123-131, 1945.
- [31] A. Kabore, N. M. Ba, C. Dabire-Binso e A. Sanon, «Towards development of a parasitoid cottage industry of the parasitoid wasp *Habrobracon hebetor* (say): optimum rearing and releases conditions for successful biological control of the millet head miner *Heliocheilus albipunctella* (De Joannis) in the Sahel,» *International Journal of Tropical Insect Science*, 2019.
- [32] G. V. S. Laudonia, Interviewee, *Le specie italiane di Trichogramma (Hymenoptera: Trichogrammatidae), con un commento sullo stato della tassonomia del genere*. [Intervista].
- [33] H. Schulze, «Über die fruchtbarkeit der schlupfwespe *Trichogramma evanescens* Westwood,» *Zeitschrift Für Morphologie Und Ökologie Der Tiere*, vol. 6, n. 3, p. 554, 1926.
- [34] A. Haque, S. Islam, A. Bari, A. Hossain, C. G. Athanassiou e M. Hasan, «Cold storage-mediated rearing of *Trichogramma evanescens* Westwood on eggs of *Plodia interpunctella* (Hübner) and *Galleria mellonella* L.,» *PloS One*, vol. 16, n. 6, 2021.
- [35] S. E. Flanders, «Notes on the life history and anatomy of *Trichogramma*,» *Annals Entomological Society of America*, vol. XXX, pp. 304-307, 1937.
- [36] F. Silvestri, «Contribuzioni alia conoscenza biologica degli imenotteri parassiti,» *Bollettino del Laboratorio di Zoologia generale e agraria di Portici*, vol. 2, pp. 46-57, 1908.
- [37] H. L. Parker, «Recherches sur les formes post-embryonnaires des Chalcidiens,» *Annales de la Société entomologique de France*, vol. 93, pp. 262-379, 1924.
- [38] L. Classen-Rodríguez, R. Tinghitella e K. Fowler-Finn, «Anthropogenic noise affects insect and arachnid behavior, thus changing interactions within and between species,» *Current opinion in insect science*, *ScienceDirect*, vol. 47, pp. 142-153, 2021.
- [39] G. N. Mbata, «Some physical and biological factors affecting oviposition by *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Phycitidae),» *Insect Science and its Application*, vol. 6, pp. 597-604, 1985.
- [40] C. H. Bell, «Effects of temperature and humidity on development of four pyralid moth pests of stored products,» *Journal of Stored Products Research*, vol. 11, pp. 167-175, 1975.
- [41] P. Barbosa e E. A. Frongillo, «Influence of light and temperature on the locomotory and flight activity of *Brachymeria intermedia* (Hym.: Chalcididae) a pupal parasitoid of the gypsy moth,» *Entomophaga*, vol. 87, pp. 175-180, 1977.
- [42] D. S. Grosch, R. G. Kratsas e R. M. Petters, «Variation in *Habrobracon juglandis* ovariole number. I.

Ovariolo number increase induced by extended cold shock of fourth-instar larvae,» *J. Embryol. Exp. Morph.*, vol. 40, pp. 245-251, 1977.

- [43] J. d. Boer e G. Jetske, «Effects of temperature and food source on reproduction and longevity of aphid hyperparasitoids of the genera *Dendrocercus* and *Asaphes*,» *BioControl*, vol. 64, pp. 277-290, 2019.