



RELAZIONE SCIENTIFICA FINALE

Progetto “Difesa fitosanitaria nei confronti dello scoltide del carrubo *Xylosandrus compactus* (Eichhoff)”

La presente relazione illustra le attività svolte dal Dipartimento di Agricoltura, Alimentazione e Ambiente (Di3A), nell’ambito del Progetto “Difesa fitosanitaria nei confronti dello scoltide del carrubo *Xylosandrus compactus* (Eichhoff)” in Sicilia.

Il progetto esecutivo è stato approvato dall’Assessorato dell’Agricoltura nell’ambito dell’accordo tra pubbliche amministrazioni con D.D.G. n. 3130 del 19/10/2017. Il Responsabile scientifico del progetto è la dott.ssa Giovanna Tropea Garzia, in servizio presso la sezione di Entomologia applicata di codesta Università. Su istanza di questo Dipartimento, in data 19/10/2019 è stata accolta la richiesta di proroga della data di conclusione delle attività dell’accordo sottoscritto; le attività sarebbero dovute essere ultimate alla fine del mese di marzo 2020 ma, in considerazione dell’emergenza sanitaria Covid-19, le spese sono state autorizzate e rimodulate entro il mese di maggio 2020 (prot. 15332 dell’8 aprile 2020).

Per raggiungere gli obiettivi previsti sono state scelte 4 linee di ricerca prioritarie, suddivise temporalmente così come di seguito riportato:

- 1) Distribuzione sul territorio e piante ospiti
- 2) Diagnosi, biologia e comportamento
- 3) Valutazione degli aspetti fitopatologici
- 4) Controllo delle infestazioni

DISTRIBUZIONE SUL TERRITORIO E PIANTE OSPITI

Durante il primo anno d’indagine è stata accertata la distribuzione delle aree carrubetate infestate da *X. compactus* in Sicilia sud orientale, nel territorio di iniziale infestazione (Ragusa) e a più riprese nelle zone limitrofe in tutte le direzioni cardinali. Sono stati altresì effettuati sopralluoghi in aree di altre zone dell’isola (Agrigento, Trapani, Palermo, Messina, Catania e Siracusa). E’ stato quindi possibile predisporre una mappa con la localizzazione delle zone con assenza e/o presenza di infestazioni (figure 1-2).

Difficile è risultato il calcolo della consistenza delle aree carrubetate infestate, in quanto oltre alcune zone dove la pianta è coltivata più densamente, esistono una moltitudine di carrubi isolati o molto distanti tra loro siti spesso in luoghi inaccessibili. Si può solamente stimare che dove la coltivazione rappresenta un investimento unitario maggiore, all’interno della zona infestata circa il 90% dei carrubi è stato infestato.

La stessa attività è stata svolta nel corso del secondo anno di studio. La presenza dello scoltide è stata osservata in ulteriori aree carrubetate situate lungo il litorale ragusano soprattutto in direzione ovest rispetto alle località iniziali. Inoltre alcuni rinvenimenti del fitofago sono stati effettuati un po’ più verso la zona più interna (figura 2).

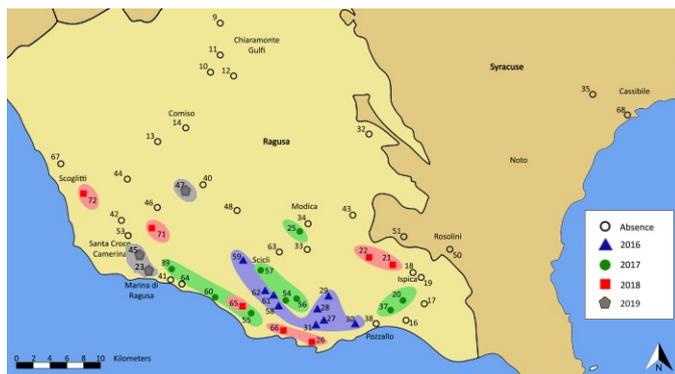
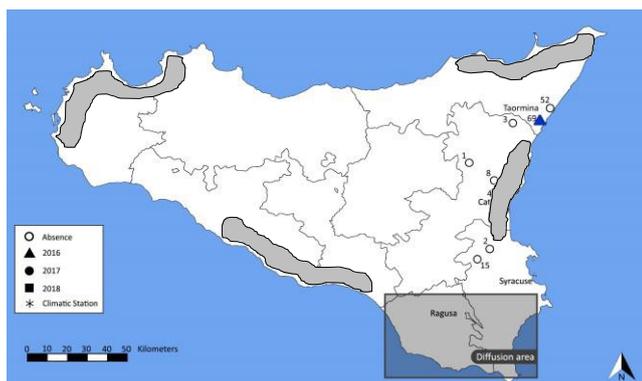
E’ importante notare che gli alberi presenti nelle zone infestate nel corso del tempo hanno “reagito” in maniera positiva, ricoprendosi di nuova vegetazione. Questa reazione presumibilmente è dovuta a diversi fattori, quali la nota rusticità della pianta di carrubo e le variabili condizioni termo-igrometriche o eventi climatici che in qualche modo hanno condizionato lo sviluppo del fungo simbiote o causato mortalità delle popolazioni infestanti.

In particolare, la presenza di più flussi vegetativi/anno possono aver consentito una maggiore velocità di rivestimento fogliare di alberi che avendo subito attacchi da parte dell’insetto, oltre alle altre cause sopra indicate, si erano parecchio spogliati della chioma.

Una tabella comprensiva delle località monitorate nel primo anno d'indagine si trova nella pubblicazione dal titolo "First data on the flight activity and distribution of the ambrosia beetle *Xylosandrus compactus* (Eichhoff) on carob trees in Sicily." In EPPO Bulletin, 49(2): 340–351, mentre quelle localizzate successivamente sono state aggiunte alla mappa.

Figura 1. Aree della Sicilia monitorate.

Figura 2. Area della provincia di Ragusa infestata negli anni 2017-2018 e 2019).



Un'ulteriore attività ha riguardato lo studio della flora associata al Carrubo e in particolare quella suscettibile di infestazione nota in letteratura (tabella 1).

Tabella 1. Lista delle specie associate a carrubo in diversi siti siciliani

Note come ospiti di <i>X. compactus</i>	<i>Pistacia lentiscus</i> , <i>Olea europaea europaea</i> , <i>Laurus nobilis</i> , <i>Quercus ilex</i> , <i>Phyllirea sp.</i>
Non note come ospiti di <i>X. compactus</i>	<i>Asparagus acutifolius</i> , <i>Prasium majus</i> , <i>Teucrium fruticans</i> , <i>Rubia peregrina</i> , <i>Euphorbia dendroides</i> , <i>Arisarum vulgare</i> , <i>Smilax aspera</i> , <i>Daphne gnidium</i> , <i>Eucalyptus globulus</i> , <i>Rhamnus alaternus</i> , <i>Calicotome infesta</i> , <i>Phillyrea latifolia</i> , <i>Cistus creticus</i> , <i>Chamaerops humilis</i> , <i>Ampelodesmos mauritanicus</i> , <i>Rosmarinus officinalis</i> , <i>Asphodelus ramosus</i> , <i>Lonicera implexa</i> , <i>Eucaliptus sp.</i> , <i>Nerium oleander</i>

Le uniche specie che sono state rinvenute attaccate dal fitofago sono:

- Alloro, in siepi di recinzione di villette o terreni privati, anche distanti da alberi d Carrubo (con frequenza, figura3);
- Olivo, unicamente in un sito di C.da Piombo (Ragusa) (un solo albero, figura 4);
- Oleandro e Eucalipto, a Marina di Modica in un giardino pubblico a stretto contatto con Carrubo; tuttavia in questo caso l'attività di scavo del fitofago è stata ostacolata dall'emissione di essudati gommosi da parte delle essenze vegetali.

Figura 3. Siepe di alloro fortemente infestata



Figura 4. Danno su olivo



Nel secondo anno di analisi le indagini sono state indirizzate anche a vivai di piante ornamentali della provincia di Ragusa, in special modo verso quelle ubicate nella fascia infestata dallo scolitide.

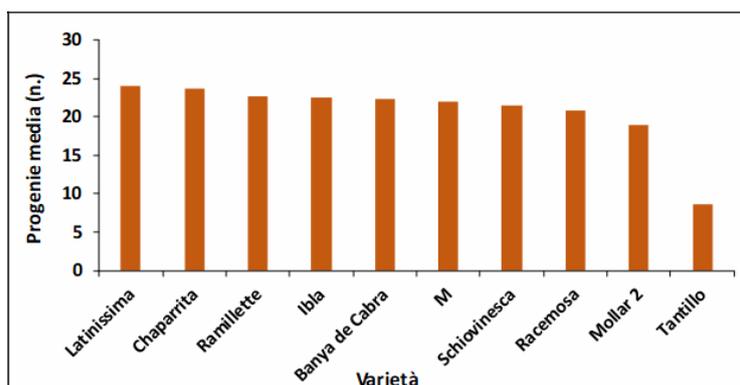
Sono stati ispezionati, insieme al Dr. Giuseppe Salomone dell'Unità fitosanitaria di Vittoria collaborazione (Servizio Fitosanitario regionale), 5 vivai di piante ornamentali nella provincia di Ragusa.

In particolare si tratta dei Vivai Iacono, Cintoli, Spazio Verde, Cappellaris ed Esperia. Durante i sopralluoghi, del 15 maggio e 25 giugno 2019, sono state osservate le specie vegetali suscettibili all'attacco da parte dello scolitide, facendo particolare attenzione a quelle di carrubo e alloro. Nei primi tre casi sono stati riscontrati segni di infestazioni pregresse di *X. compactus*, a volte rinvenendo popolazioni già morte, quasi sicuramente in conseguenza dei ripetuti trattamenti fitosanitari con insetticidi ad ampio spettro d'azione che vengono effettuati nelle aziende.

Inoltre, l'11 luglio 2019 è stata condotta un'indagine nella Riserva Naturale Integrale Complesso Speleologico Villasmundo - S. Alfio di Melilli (SR), affidata in gestione al centro di ricerca Cutgana dell'Università di Catania. Nel caso in questione sono stati esaminati gli alberi di Carrubo presenti nell'area, i quali non mostravano né sintomi né stadi biologici dell'insetto.

Test di laboratorio riguardanti il comportamento a carico di diverse varietà di Carrubo da parte dello scolitide sono stati avviati impiegando rami di: Latinissima; Chaparrita; Ramillette; Ibla; Banya de Cabra; M; Schiovinesca; Racemosa; Mollar 2 e Tantillo, presenti nella collezione varietale della sezione di Arboricoltura e Genetica agraria del Di3A. I risultati illustrati graficamente in figura 5 (ancora preliminari) mostrano una possibile minore suscettibilità da parte di alcune varietà, tuttavia ulteriori indagini dovrebbero essere condotte per confermare questo dato.

Figura 5. Progenie media ottenuta da femmine mature di *Xylosandrus compactus* allevate in condizioni di laboratorio su diverse varietà di Carrubo.





DIAGNOSI, BIOLOGIA E COMPORTAMENTO

Le indagini per la caratterizzazione delle popolazioni del fitofago e la valutazione della presenza di altre specie (in corso di identificazione) sono state condotte in campo e in laboratorio, raccogliendo rametti con evidenti segni di attacco e presenza di popolazioni entomatiche. Gli esemplari raccolti sono stati analizzati in laboratorio e discriminati morfologicamente.

In pieno campo, la popolazione dell'insetto è stata monitorata nell'areale di prima diffusione in provincia di Ragusa, individuando gli spostamenti degli adulti dall'ospite verso nuovi siti di infestazione. Inoltre sono stati valutati la longevità e il numero di generazioni che l'insetto riesce a compiere alle nostre latitudini.

Le prime indagini sono state volte allo studio dell'attività di volo di *X. compactus* nell'areale infestato e alla valutazione dell'insolito comportamento biologico a carico di branche e tronchi di carrubo.

L'attività di volo di *X. compactus* è stata studiata tra il 2017 e il 2018 in differenti siti della Sicilia sud orientale, caratterizzati dalla presenza di un elevato numero di alberi di carrubo coltivati. Il monitoraggio è stato condotto tramite l'impiego di trappole cromotropiche a croce di colore rosso (Rebell Rosso della ditta CBC Biogard), costituite da due pannelli adesivi (20,5 cm × 15,0 cm). Queste trappole venivano innescate con attrattivo a base di etanolo al 96%, posto all'interno di bottiglie bianche forate (appese sotto le trappole) e riempite per 1/3 (figura 6). Queste ultime presentavano due fori ($\varnothing = 3$ cm) sulla parte alta, in modo da consentire l'evaporazione dell'attrattivo. L'intento era quello di catturare gli insetti sulla superficie delle trappole adesive utilizzando l'etanolo solo come attrattivo. Sono state posizionate quattro trappole per ogni sito, a 1,5 metri di altezza e ad una distanza di 50 metri l'una dall'altra. Le trappole venivano controllate ogni 7 giorni e sostituite ogni 14 giorni. Gli adulti catturati venivano identificati e contati. È stata quindi studiata la correlazione tra l'andamento dei voli e i dati climatici locali, forniti dalle stazioni del SIAS (Servizio Informativo Agrometeorologico Siciliano).

I risultati dell'attività di volo hanno dimostrato che nell'ambiente monitorato, rappresentato tipicamente da flora mediterranea, dove il carrubo è ampiamente diffuso, le femmine svernanti di *X. compactus* vanno a colonizzare i nuovi rametti in primavera. Le catture nelle trappole (figura 7) mostrano infatti che il primo volo di *X. compactus* avviene quando le temperature massime giornaliere si stabilizzano per più giorni al di sopra dei 20 °C. Inoltre, è stato possibile individuare i picchi principali di volo tra la primavera e l'estate. Le catture si sono interrotte nel mese di ottobre, quando le temperature sono nuovamente diminuite, in maniera costante, al di sotto dei 20 °C.

Nel secondo anno, nel sito di Donnafugata, sono state installate alcune trappole di nuova realizzazione (commercializzate dalla ditta spagnola Econex) con un diffusore di cairomoni con durata di 60 giorni ed erogatore di etanolo (figura 8). Nelle trappole sono state rinvenute numerose specie di altri insetti xilofagi, la cui presenza non è direttamente riconducibile ad attacchi su Carrubo.

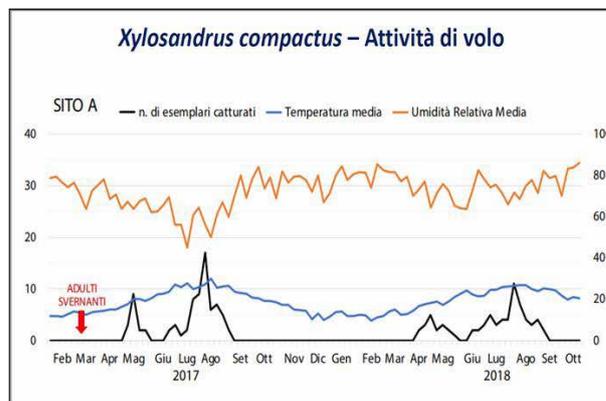
Figura 6. Trappola CBC Biogard



Figura 8. Trappola Econex



Figura 7. Andamento dei voli degli adulti di *Xylosandrus compactus* nel sito A.



Nel corso delle indagini è stato notato un comportamento anomalo da parte di *X. compactus* a carico del carrubo, rappresentato dalle pesanti infestazioni su tronchi e branche. Tale rilievo è stato condotto in 5 siti della Sicilia Sud Orientale ubicati in diversi ambienti (naturale e semi-urbano) e nei due anni d'indagine (2017 e 2018).

I risultati hanno mostrato che *X. compactus* è capace di infestare con successo branche e tronchi di alberi di carrubo con diametro superiore a 20 e 60 cm rispettivamente (figura 9). Questo comportamento si è ripetuto in ambienti e anni diversi. I risultati delle indagini sono illustrati nella pubblicazione dal titolo "Unusual behavior of *Xylosandrus compactus* (Coleoptera: Scolytinae) on carob trees in a Mediterranean environment" on line su Insects nel 2019.

Figura 9. Segni di infestazione di *X. compactus* a carico di rametti, branche e tronco di alberi di carrubo.





La biologia della popolazione di *X. compactus* su Carrubo durante l'anno è stata determinata aprendo 20 ramoscelli sicuramente infestati, poiché presentavano i tipici fori di entrata dell'adulto, con cadenza bimestrale dalla prima settimana di novembre 2017 fino all'ultima settimana di novembre 2018. I campionamenti sono stati infatti effettuati ogni 15 giorni, in modo tale da intercettare i differenti stadi biologici di ogni generazione di BTB, considerando che questo coleottero completa il suo ciclo di sviluppo in circa un mese. I rami per il campionamento sono stati tagliati in maniera casuale dalla chioma (a circa 1,5-2 m dal suolo) di 5 diversi alberi (4 rami per ogni albero secondo i quattro punti cardinali) del sito monitorato, distanti almeno 50 m l'uno dall'altro.

Ciascun campionamento comprendeva due tipi di rami infestati, il primo era rappresentato da 10 piccoli rami con diametro esterno inferiore a 7 mm e il secondo da 10 rami più grandi con diametro esterno superiore o uguale a 8 mm. La scelta di osservare due tipi di rami era basata sulla consapevolezza che i piccoli rami erano generalmente infestati da una singola femmina che provocava la rapida morte dell'intero ramoscello, mentre i rami più grandi di solito erano attaccati da diverse femmine e mostravano la presenza di tessuto necrotico in prossimità della galleria, probabilmente causa dell'appassimento delle foglie terminali (osservazione personale).

I rami sono stati tagliati con diversi strumenti quali utensili per la potatura, forbici da giardinaggio o forbici estensibili, successivamente sono stati trasferiti in laboratorio e aperti lo stesso giorno in condizioni ambientali (temperatura media esterna 26 ± 2 ° C e umidità relativa del $65 \pm 5\%$). Gli esemplari trovati all'interno di ciascuna galleria di ovideposizione sono stati contati allo stereoscopio e gli adulti sono stati osservati per l'identificazione di caratteristiche morfologiche tramite chiavi dicotomiche.

Per ciascuno dei rami infestati sono stati registrati il diametro (in corrispondenza dei fori di ingresso); la distanza tra i fori di ingresso; il numero di individui per ogni stadio biologico (uova, larve, pupe e adulti) in ogni galleria. Sono stati contati all'interno delle gallerie anche gli eventuali esemplari morti.

Il campionamento di rametti infestati ha permesso di individuare una fluttuazione del numero di individui dei diversi stadi biologici (figura 10). Le osservazioni sono state condotte in laboratorio.

Tenendo conto del numero di uova, trovate all'interno delle gallerie, il risultato è che non sono state registrate ovideposizioni dalla seconda metà di novembre fino alla prima metà di aprile. Dopodiché sono stati registrati 5 picchi con numeri di uova molto elevati: durante la prima metà di maggio (41,8% del totale di stadi biologici), la seconda metà di giugno (20,5%), la seconda metà di luglio (25,4%) e la prima metà di settembre (23,3%) e all'inizio di ottobre (21,1%).

Osservando il numero di larve individuato e considerando che, ovviamente la loro presenza è legata alla presenza di uova del campionamento precedente, questo stadio biologico risulta quindi assente dalla prima metà di dicembre fino alla seconda metà di aprile. Anche in questo caso, dunque, sono stati individuati 5 picchi corrispondenti: alla seconda metà di maggio (33,9% del totale di stadi biologici), alla seconda metà di giugno (39,2%), alla prima metà di agosto (57%), alla seconda metà di settembre (33,8%) e uno alla fine di ottobre (21,2%).

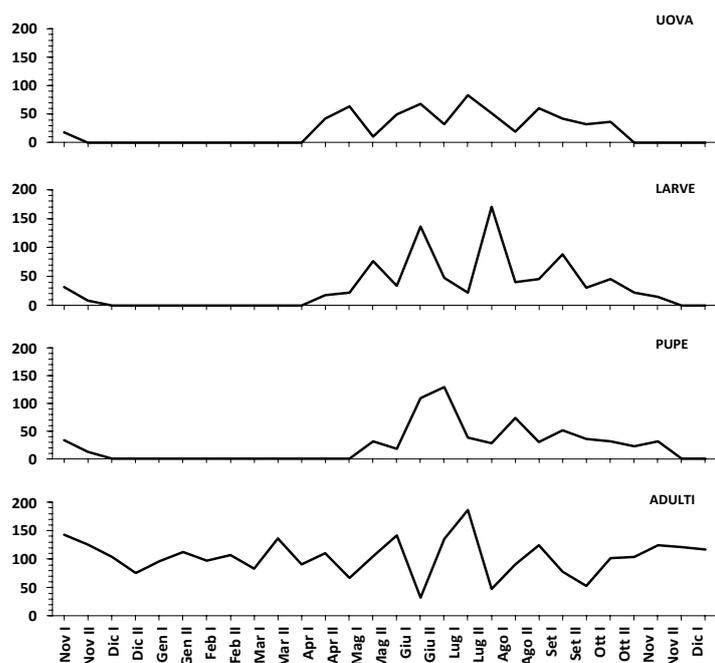
Per quanto riguarda le pupe, invece, sono stati registrati due picchi molto vicini nella seconda metà del mese di giugno (31,7% del totale di stadi biologici) e nella prima metà di luglio (37,6%), uno nella seconda metà di agosto (33%) e uno durante la seconda metà di settembre (20%).

Gli adulti, a differenza degli altri stadi biologici, sono stati sempre presenti su ogni tipo di ramo aperto e per tutto il periodo del campionamento. Dalla prima metà di dicembre alla prima metà di aprile gli adulti sono stati trovati, all'interno delle gallerie, sempre in numeri elevati, da un minimo di 76 individui, maschi e femmine, a un massimo di 137. Per tutto l'inverno il 100% degli individui trovati nei rami era costituito da adulti.

Tramite il rilevamento del diametro dei rametti a livello dei fori è stata ottenuta la media, per ogni gruppo di rami campionati ogni 15 giorni. Nell'intero anno di campionamento il diametro medio dei rami infestati

variava da un minimo di 4,50 mm, relativo alla seconda metà di giugno, fino a un massimo di 10,86 mm, relativo alla seconda metà di marzo. La media annuale dei diametri dei rami infestati è stata quindi di 6,63 mm.

Figura 10. Andamento della presenza degli stadi biologici di *Xylosandrus compactus* nel corso di un anno.



Al fine di allevare e quindi disporre di esemplari in numero cospicuo e coetanei per le prove di laboratorio, sono state saggiate due modalità di allevamento per lo studio della biologia della specie in condizioni controllate (su rametti di Carrubo e su dieta artificiale).

Inizialmente la biologia di *X. compactus* è stata studiata in condizioni di laboratorio, procedendo alla messa a punto di un protocollo sperimentale che permettesse l'infestazione in condizioni controllate, da parte di femmine mature dello scolitide, di rametti sani di Carrubo.

Di seguito vengono riportate le varie fasi del protocollo (per le immagini vedi la relazione della borsa di ricerca del primo anno):

- Selezione di rami di carrubo sani con diametro compreso tra 5 e 9 mm;
- Preparazione di sezioni di ramo prive di nodi con lunghezza di circa 10 cm;
- Copertura delle estremità tagliate con parafilm e immersione in apposita soluzione;
- Asciugatura sotto cappa per 30 minuti;
- Inserimento delle singole porzioni di ramo in tubi di vetro (25 mm Ø e 20 cm lunghi);
- Introduzione di un numero standard di femmine mature per tubo;
- Incubazione in condizioni controllate.

La tecnica di allevamento è risultata valida ed ha permesso di allevare *X. compactus* in condizioni di laboratorio e di valutare i tempi di sviluppo della progenie al variare della temperatura. I risultati hanno dimostrato che lo sviluppo della progenie prodotta da singole femmine mature dello scolitide dipende strettamente dalle temperature. In particolare, alla temperatura costante di 28 °C gli esemplari della nuova generazione sono emersi tra il trentunesimo e il trentottesimo giorno dall'inoculo della femmina madre. Tempi più lunghi sono stati invece registrati a 25 e 22 °C rispettivamente.



Risultati (non definitivi) indicano inoltre che la progenie media per femmina ottenuta nell'allevamento di laboratorio, su rametti di Carrubo opportunamente preparati (come da protocollo sopra descritto), variava mediamente da 20 a 28.

I valori relativi ai tempi di sviluppo e alla progenie media per femmina sono risultati simili per numerose generazioni successive, confermando la riuscita della tecnica di allevamento anche se in alcuni casi le porzioni legnose potevano subire delle contaminazioni. Per questo motivo, nell'ambito degli studi effettuati nel periodo dicembre-marzo si è voluto provare ad allevare le popolazioni su dieta artificiale (vedi relazione borsa di ricerca Dr C. Cavallaro).

VALUTAZIONE DEGLI ASPETTI FITOPATOLOGICI

Con riferimento agli aspetti fitopatologici, è stata valutata la frequenza di rinvenimento con la quale i microrganismi fungini venivano isolati da gallerie in associazione alle infestazioni dello scoltide *X. compactus* ed in minor misura dall'esoscheletro dell'insetto morto.

In totale sono stati raccolti 60 isolati principalmente da carrubo (51 isolati) alloro (8 isolati) e olivo (1). Si è proceduto ad una prima caratterizzazione morfologica di tutti gli isolati e di una parziale caratterizzazione molecolare che riguardava il sequenziamento della regione ITS dei primi 25 isolati. Sulla scorta dei risultati ottenuti sono stati identificati 10 generi fungini diversi. Tra le specie più ricorrenti sono stati rinvenuti i) *Ambrosiella xylebori*; ii) *Fusarium solani*; iii) *Clonostachys rosea*; e iv) *Xenoacremomium recifei*.

In accordo con quanto riportato in letteratura le prime due specie (*A. xylebori* e *F. solani*) sono state isolate esclusivamente da gallerie e con una maggiore frequenza, facendo pertanto presupporre il ruolo essenziale svolto di tali miceti e/o simbionti primari che costituiscono solitamente il pabulum per l'insetto e che vengono trasportati in strutture apposite chiamate "micangi".

Con particolare riferimento alle ultime due specie, mai rinvenute in associazione con questo scoltide, si sta attualmente valutando il ruolo svolto (*pabulum* o fungo parassita).

Si prevede contestualmente di analizzare le sequenze di altre regioni geniche per una più approfondita identificazione.

Nel secondo anno di studi si è proceduto alla caratterizzazione molecolare dei restanti isolati fungini rinvenuti da gallerie e da insetto morto attraverso il sequenziamento della regione ITS e per alcuni isolati di altre regioni geniche quali RPB2, LSU, TEF e TUB2. Le analisi hanno confermato che *Ambrosiella xylebori*, *Fusarium solani*, *Clonostachys rosea* e *Xenoacremomium recifei* rappresentano le specie più ricorrenti in associazione alle infestazioni dell'insetto mentre in misura minore sono stati rinvenuti *Aureobasidium pullulans* e specie dei generi *Acremonium*, *Cytospora* e *Penicillium*.

Inoltre, sono state avviate diverse prove preliminari al fine di valutare il ruolo di alcune di queste specie fungine isolate ed in particolare l'attività di antagonismo *in vitro* nei confronti del principale simbionte *Ambrosiella xylebori*.

CONTROLLO DELLE INFESTAZIONI

Sono state avviate attività di laboratorio al fine di saggiare l'efficacia di biocidi di sintesi o di derivazione naturale (autorizzate comunque in regime di agricoltura biologica) che potrebbero in futuro rappresentare uno strumento per la tutela di singoli alberi, previa autorizzazione concessa dal Ministero della Salute.

Inoltre sono stati messi a punto i protocolli per lo sviluppo di altre linee d'intervento volte a contenere le popolazioni fungine associate e/o simbionti dello scoltide.

Nei due anni d'indagine, a seguito di prelievi di campioni di rametti infestati, non è emersa la presenza di antagonisti naturali indigeni adattati alla specie appena introdotta.



Sulla base delle osservazioni condotte non sono emerse evidenze su potenziali fattori correlabili con il livello di infestazione ed in particolare con la forma di conduzione dei carrubeti e di eventuali colture consociate erbacee o arboree.

Considerate le difficoltà applicative del controllo chimico nei confronti dello scoltide, dato che quest'ultimo trascorre la maggior parte del proprio ciclo biologico all'interno delle gallerie di covata scavate nel legno; si è proceduto alla valutazione dell'impiego di alcuni microrganismi antagonisti dell'insetto o del simbiote. In particolare, è stata valutata l'efficacia di batteri antagonisti del genere *Bacillus*, di funghi micoparassitici del genere *Trichoderma* e del fungo entomopatogeno *Beauveria bassiana*.

Elenco dei formulati commerciali (disponibili come biofungicidi e bioinsetticidi) saggiati:

- *Bacillus subtilis* strain QST 713 (SERENADE MAX® - 5,13 x 10¹⁰ CFU/g)
- *Bacillus amyloliquefaciens* strain D747 (AMYLO-X® - 5 x 10¹⁰ CFU/g)
- *Trichoderma asperellum* T25 + *Trichoderma atroviride* T11 (TUSAL® - 1 x 10⁸ UFC/g)
- *Trichoderma asperellum* ICC 012 + *Trichoderma gamsii* ICC 080 (REMEDIER® - 3 x 10⁷ UFC/g)
- *Trichoderma harzianum* T-22 (TRIANUM-P® - 1 x 10⁹ UFC/g)
- *Trichoderma asperellum* T34 (T-34 BIOCONTROL® - 1 x 10⁹ UFC/g)
- *Trichoderma atroviride* SC1 (VINTEC® - 1 x 10¹³ UFC/Kg)
- *Beauveria bassiana* (NATURALIS® - strain ATCC 74040 - 0,019% a.i.)

I singoli formulati sono stati impiegati a diverse concentrazioni tenendo conto delle indicazioni fornite dal produttore. Tutte le soluzioni sono state preparate utilizzando Twin 80 come tensioattivo e il controllo era costituito da acqua. Le prove sono state condotte trattando rametti di carrubo con diverse dosi di ogni formulato prima dell'inoculo di femmine mature. I rametti trattati e fatti asciugare per qualche minuto, venivano posti all'interno di tubi di vetro. Sono state introdotte 5 femmine mature per tubo (replica) per un minimo di 8 repliche per concentrazione saggiata. I tubi venivano quindi posti in condizioni controllate (25 ± 1 °C e 60 ± 10% U.R.) per 14 giorni.

Trascorse le due settimane i rametti venivano aperti longitudinalmente al fine di intercettare le gallerie infestate e valutare i seguenti parametri:

- Mortalità a 48h e al 14°giorno (%);
- Formazione galleria (%);
- Presenza del simbiote (%);
- Presenza di progenie (%);
- Numero medio di progenie per femmina (n).

I risultati sono presentati nelle figure 11 e 12. Nello specifico, i formulati a base di *Trichoderma* hanno mostrato una buona attività antagonistica nei confronti del simbiote fungino; in particolare l'impiego di *T. atroviride* SC1 e *T. asperellum* T34 (impiegati a concentrazioni standard/campo) ha determinato una diminuzione significativa della progenie media per esemplare. Il fungo entomopatogeno *B. bassiana* ATCC 74044 ha determinato invece una elevata mortalità e riduzione della progenie media per femmina madre solo quando impiegato a concentrazioni nettamente più elevate di quelle suggerite (standard/campo).

Figura 11. Attività di biofungicidi a base di *Bacillus* spp. e *Trichoderma* spp., a concentrazione standard/campo su rametti di carrubo, nei confronti di *Xylosandrus compactus* e del suo simbiote *Ambrosiella xylebori* in laboratorio

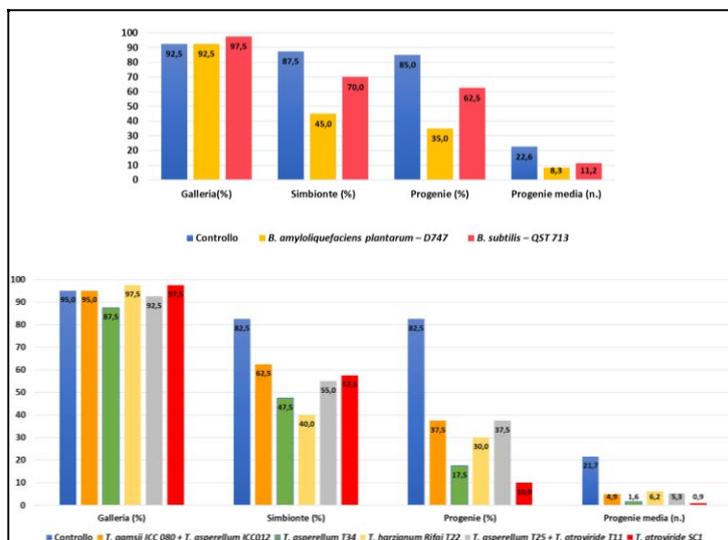
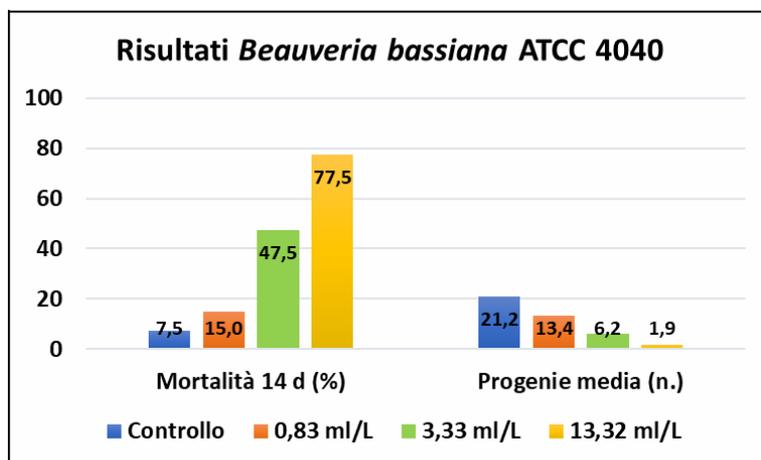


Figura 12. Attività del fungo entomopatogeno *Beauveria bassiana* ATCC 4040, impiegato a diverse concentrazioni su rametti di carrubo, nei confronti di *Xylosandrus compactus* in condizioni di laboratorio.



Sono state in ogni caso predisposte indicazioni sulle buone prassi per la gestione sostenibile del carrubeto con particolare riferimento alla proposizione di interventi agronomici (potatura) utili ai fini di un contenimento delle infestazioni da parte dello scoltide. Nello specifico risulta opportuno mantenere le piante in buone condizioni vegetative, quindi evitare lesioni al fusto ed alle branche, effettuare irrigazioni di soccorso ed eseguire opportune concimazioni. Risultano di fondamentale importanza le operazioni di potatura e l'immediata bruciatura dei rami infestati in quanto l'insetto è in grado di rimanere in vita all'interno dei tessuti vegetali dei residui della potatura. Si consiglia di effettuare la potatura a partire dalla fine della raccolta dei frutti (ottobre) e comunque di concluderla prima dell'inizio dello sfarfallamento degli adulti (aprile).

Inoltre, le prove di laboratorio concernenti gli esiti dei trattamenti con insetticidi illustrati nella relazione della borsa di ricerca svolta da dicembre 2019 a marzo 2020.

Infine, test olfattometrici sono stati condotti al fine di valutare l'attrattività o la repellenza di alcune sostanze volatili nei confronti delle femmine adulte di *X. compactus*. Nello specifico l'etanolo, già noto come attrattivo di diversi Ambrosia beetles, e il Verbenone, feromone di disaggregazione di alcuni scoltidi, sono stati testati rispettivamente per l'attrattività e per la repellenza.

La preferenza olfattiva di femmine coetanee di *X. compactus*, ottenute da allevamento di laboratorio, per le diverse fonti è stata testata tramite la realizzazione di biosaggi a doppia scelta (dual-choice) con un olfattometro a due vie (Y-tube).

Il dispositivo impiegato risulta costituito da un tubo di vetro a forma di Y di 1,5 cm di diametro, con un braccio di entrata lungo 18,5 cm e due bracci laterali di 18,5 cm di lunghezza e angolo di 70° ognuno dei quali era collegato ad una fonte odorosa, orientato in senso orizzontale.

Le prove sono state condotte in una stanza buia con l'olfattometro illuminato da una lampada a pantofago a luce bianca da 22 W.

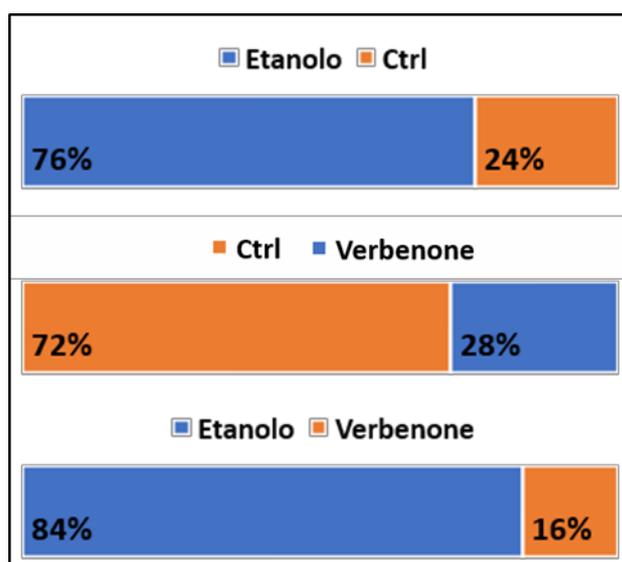
La scelta di ogni femmina testata è stata considerata valida quando ha raggiunto la fine di uno dei due bracci; le femmine che non hanno fatto alcuna scelta dopo 10 minuti sono state escluse dai risultati.

Sono state saggiate tre combinazioni di sostanze e registrate almeno 40 risposte per ogni combinazione:

- etanolo da solo a confronto con aria (ctrl)
- verbenone ((1S)-(-)-Verbenone) da solo a confronto con aria
- etanolo e verbenone tra di loro

I risultati (figura 13) hanno confermato l'attrattività dell'etanolo e la repellenza del verbenone nei confronti dello scoltide, tuttavia questi andrebbero confermati con ulteriori test, anche a confronto con altre sostanze volatili.

Figura 13. Risposta olfattometrica di femmine *Xylosandrus compactus* allevate in condizioni di laboratorio a diverse sostanze volatili





Completate tutte queste attività, che hanno previsto un notevole dispendio di energie e soprattutto di tempo, non è stato possibile applicare in egual misura i risultati in campo, per motivi di ordine diverso. Preliminarmente sono state effettuate delle prove per verificare la fattibilità di trattamenti fitosanitari su alberi di Carrubo. Allo scopo sono state svolte dei saggi per valutare la quantità di acqua necessaria a coprire la chioma di un albero di Carrubo di medie dimensioni; queste si aggiravano tra i 40-50 lt/albero in base allo sviluppo vegetativo dello stesso. Di conseguenza non sembra economicamente proponibile l'impiego di trattamenti generalizzati alla chioma, ma solo eventuali applicazioni mirate nel tempo e nello spazio.

I risultati delle sopra indicate attività sono esposti in maniera esaustiva nei lavori già pubblicati, in corso di stampa e nelle relazioni dei collaboratori che hanno svolto il lavoro nel corso della borsa di ricerca.

ATTIVITA' DI RICERCA E DIVULGATIVA

Sono state assegnate due borse di ricerca dal titolo:

- "Studi di campo e di laboratorio al fine di valutare la biologia, le potenziali strategie di controllo e l'attività biologica di sostanze volatili nei confronti di *Xylosandrus compactus*", con durata annuale dal 10.05.2018 al 09.05.2019 (Dr. Antonio Gugliuzzo)
- "Perfezionamento del protocollo di allevamento di *Xylosandrus compactus* e saggi di laboratorio di molecole insetticide", con durata trimestrale dal 1 dicembre 2019 al 1 marzo 2020 (Dr. Carmelo Cavallaro).

Sono stati redatti e già pubblicati n. 2 lavori scientifici:

- Gugliuzzo A., Criscione G., Siscaro G., Russo A. & Tropea Garzia G. (2019) First data on the flight activity and distribution of the ambrosia beetle *Xylosandrus compactus* (Eichhoff) on carob trees in Sicily. EPPO Bulletin, 49(2): 340–351. <https://doi.org/10.1111/epp.12564>.
- Gugliuzzo, A., Criscione, G., & Tropea Garzia, G. (2019). Unusual behavior of *Xylosandrus compactus* (Coleoptera: Scolytinae) on carob trees in a Mediterranean environment. Insects, 10(3), 82. doi:10.3390/insects10030082.

Sono stati pubblicati i seguenti lavori su riviste nazionali:

- Gugliuzzo A. & Tropea Garzia G. (2019) *Xylosandrus compactus* (Eichhoff) Emergenza fitosanitaria per i carrubi siciliani. Entomata (Rivista della Società Entomologica Italiana), 9: 21-26.
- Gugliuzzo A., Criscione G., Siscaro G., Russo A. & Tropea Garzia G. (2018) *Xylosandrus compactus* (Eichhoff): a serious threat to Carobs in Sicily. European PhD Network "Insect Science", IX Annual Meeting - 14-16 Novembre 2018, Università di Firenze.
- Francardi V. & Tropea Garzia G. (2020) *Xylosandrus compactus*: diffusione, comportamento e danni in Italia centrale e insulare. Incontro "EMERGENZE FITOSANITARIE IN SICILIA - Ricerca e divulgazione scientifica al centro della buona pratica agricola, Bagheria (PA) 25 febbraio 2020. Agrisicilia, 6: 18-20.

Sono in corso di stampa le seguenti pubblicazioni:

- Seasonal changes in population structure of the ambrosia beetle *Xylosandrus compactus* and associated fungi in a southern Mediterranean environment.
- Biological control of the ambrosia beetle *Xylosandrus compactus* (Coleoptera: Curculionidae) using mycoparasitic *Trichoderma* fungi and antagonistic *Bacillus* bacteria against the fungal symbiont *Ambrosiella xylebori*;



- Potential of biopesticides and synthetic insecticides for controlling the ambrosia beetle *Xylosandrus compactus*
- Life table parameters of the ambrosia beetle *Xylosandrus compactus* and susceptibility of different Mediterranean host trees to its attack.

Sono state svolte due tesi sperimentali con titolo:

- “*Xylosandrus compactus* (Eichhoff) una nuova specie esotica invasiva su Carrubo in Sicilia: distribuzione, attività di volo e biologia”.
- “Valutazione dell'efficacia di agenti di controllo microbiologico nei confronti di *Xylosandrus compactus* (Eichhoff) e dei suoi simbionti”.

Alcune unità di personale del Dipartimento hanno partecipato a Convegni con argomento Il Carrubo e la sua difesa, in particolare a Ragusa (16 giugno 2018), Modica (21 gennaio 2017) e Rosolini (22 dicembre 2018). Nel mese di febbraio il responsabile scientifico ha partecipato ad un Convegno organizzato dal CREA-DC sede di Bagheria nel mese di febbraio 2020.

E' stato progettato e realizzato un opuscolo divulgativo, il quale è stato inviato a questa Amministrazione in formato digitale e cartaceo per la successiva divulgazione tramite il sito regionale. Copie sono state distribuite durante il Convegno “Una minaccia per il nostro Carrubo” tenutosi a Rosolini (SR) il 22 dicembre 2018. Altre copie sono state divulgate a ditte e magazzini che lavorano e commercializzano Carrube, rivendite di prodotti fitosanitari e istituti tecnici agrari;

Sono stati preparati e stampati poster divulgativi per operatori del settore, studenti ed Enti pubblici; Sono state predisposte una Pagina Facebook (*Xylosandrus compactus* Emergenza Sicilia) e un indirizzo mail (segnalo.xylosandrus@gmail.com), dedicati alla raccolta di segnalazioni di piante infestate ed eventuale materiale fotografico al fine di aggiornare le mappe di rischio e/o individuare nuove piante ospiti.

Infine, è stato predisposto un report divulgativo finale sotto forma di booklet, per la fruizione di operatori del settore; il booklet si allega alla presente relazione in formato pdf e copie a stampa saranno inviate al SFR via posta.

Per ulteriori approfondimenti relativi alle ricerche sviluppate si rimanda alle relazioni delle borse di ricerca come proseguo delle presente relazione e alle pubblicazioni citate. Alcune di esse, sono già inserite tra i post della pagina Facebook dedicata.

Catania, 30 giugno 2020

Il Responsabile scientifico
D.ssa Giovanna Tropea Garzia



A SEGUIRE:

Relazione del dr. Antonio Gugliuzzo, assegnatario della borsa di ricerca da dal titolo **“Studi di campo e di laboratorio al fine di valutare la biologia, le potenziali strategie di controllo e l’attività biologica di sostanze volatili nei confronti di *Xylosandrus compactus*”**, con durata annuale dal 10 maggio 2018 al 9 maggio 2019.

Relazione del dr. Carmelo Cavallaro, assegnatario della borsa di ricerca da dal titolo **“Perfezionamento del protocollo di allevamento di *Xylosandrus compactus* e saggi di laboratorio di molecole insetticide”**, con durata trimestrale dal 1 dicembre 2019 all’1 marzo 2020.

IN FILES SEPARATI

Pdf della brochure divulgativa

Pdf del booklet divulgativo



UNIVERSITÀ
degli STUDI
di CATANIA



Relazione scientifica prodotta nell'ambito della borsa di ricerca:

**“Studi di campo e di laboratorio al fine di valutare la biologia,
le potenziali strategie di controllo e l'attività biologica di
sostanze volatili nei confronti di *Xylosandrus compactus*”**

Collaboratore di ricerca: Dott. Antonio Gugliuzzo

Responsabile Scientifico: Prof. ssa Giovanna Tropea Garzia

Programma di ricerca Regione Sicilia – Di3A (UniCt):
“Difesa fitosanitaria nei confronti dello scoltide del carrubo
Xylosandrus compactus (Eichhoff)” – DISCOCA

Indice

- 1. Studio della Biologia di *Xylosandrus compactus***
- 2. Valutazione delle potenziali strategie di controllo dello scoltide**
- 3. Valutazione dell'attività di alcune sostanze volatili nei confronti del fitofago**

A handwritten signature in black ink, located in the bottom right corner of the page. The signature is stylized and appears to be a single name or set of initials.

1. Studio della Biologia di *Xylosandrus compactus*

Data l'inusuale etologia mostrata da *X. compactus* nel nuovo ambiente infestato, dove l'insetto riesce ad attaccare pesantemente branche e tronchi di Carrubo (oltre che giovani rami), gli studi specifici, sia di campo che di laboratorio, sono stati condotti al fine di valutare i principali parametri biologici del fitofago.

a) Attività di campo

Numerosi campionamenti di materiale infestato sono stati condotti in Sicilia sud-orientale, diversi per tipologia di ambiente ed altitudine. Per ogni sito venivano registrati i parametri riguardanti: il tipo di organo vegetale infestato e il relativo diametro; la forma delle gallerie infestate; il tipo di stadi biologici presenti (uova, larve, pupe e adulti) e il loro numero.

I risultati hanno mostrato che *X. compactus* è stato capace di infestare branche e tronchi con diametro superiore a 20 cm e 60 cm rispettivamente e che non vi era differenza di comportamento tra le infestazioni avute su alberi in ambiente naturale ed alberi in ambiente semi-urbano.

Inoltre, tutti gli stadi biologici dello scoltide erano presenti nelle gallerie dalla primavera all'autunno, mentre tutte le gallerie campionate in inverno mostravano solo adulti (Fig. 1). Tale risultato ha confermato l'ipotesi che *X. compactus*, nelle condizioni climatiche della Sicilia sud-orientale, sverna da adulto all'interno delle gallerie per riprendere l'attività di dispersione alla ricerca di nuovi ospiti nella primavera successiva.

Infine, un numero medio di circa 20 esemplari adulti/galleria è stato rinvenuto in gallerie scavate su branche e tronchi, risultando simile a quello di gallerie scavate nei rami. Tuttavia, le gallerie sulle branche mostravano forma irregolare e diverse ramificazioni a differenza di quelle scavate nei rami lungo un'unica direzione su entrambi i lati del foro di ingresso.

I risultati di questa attività di campo sono stati pubblicati sulla rivista scientifica *Insects*, nell'articolo dal titolo "Unusual Behavior of *Xylosandrus compactus* (Coleoptera: Scolytinae) on Carob Trees in a Mediterranean Environment".



Fig.1 - Infestazioni a carico di una branca di Carrubo (A) e di un ramo (B).

A handwritten signature in black ink, located in the bottom right corner of the page. The signature is stylized and appears to be the initials of the author.

b) Attività di laboratorio

Al fine di studiare la biologia di *X. compactus* in condizioni di laboratorio, si è proceduto alla messa a punto di un protocollo sperimentale che permettesse l'infestazione in condizioni controllate, da parte di femmine mature dello scolitide, di rametti sani di Carrubo.

Di seguito vengono riportate le varie fasi del protocollo (Figure 2 e 3):

- Selezione di rami di carrubo sani con diametro compreso tra 5 e 9 mm;
- Preparazione di sezioni di ramo prive di nodi con lunghezza di circa 10 cm;
- Copertura delle estremità tagliate con parafilm e immersione in apposita soluzione;
- Asciugatura sotto cappa per 30 minuti;
- Inserimento delle singole porzioni di ramo in tubi di vetro (25 mm \varnothing e 20 cm lunghi);
- Introduzione di un numero standard di femmine mature per tubo;
- Incubazione in condizioni controllate.



Fig. 2 – Fasi della preparazione delle porzioni di ramo



Fig. 3 – Introduzione delle porzioni di ramo nei tubi di vetro e inoculo di *Xylosandrus compactus*

La tecnica di allevamento è risultata valida ed ha permesso di allevare *X. compactus* in condizioni di laboratorio e di valutare i tempi di sviluppo della progenie al variare della temperatura. I risultati hanno dimostrato che lo sviluppo della progenie prodotta da singole femmine mature dello scoltide dipende strettamente dalle temperature. In particolare, alla temperatura costante di 28 °C gli esemplari della nuova generazione sono emersi tra il trentunesimo e il trentottesimo giorno dall'inoculo della femmina madre. Tempi più lunghi sono stati invece registrati a 25 e 22 °C rispettivamente (Fig. 4).

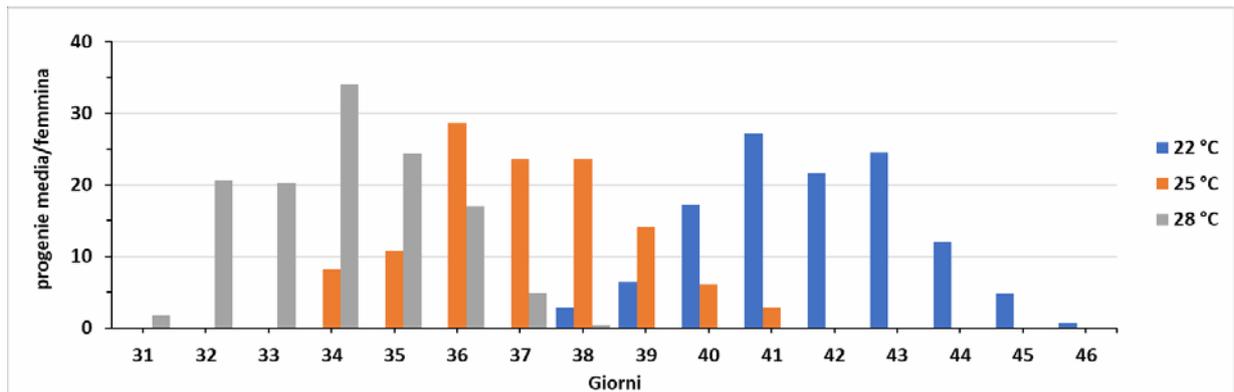


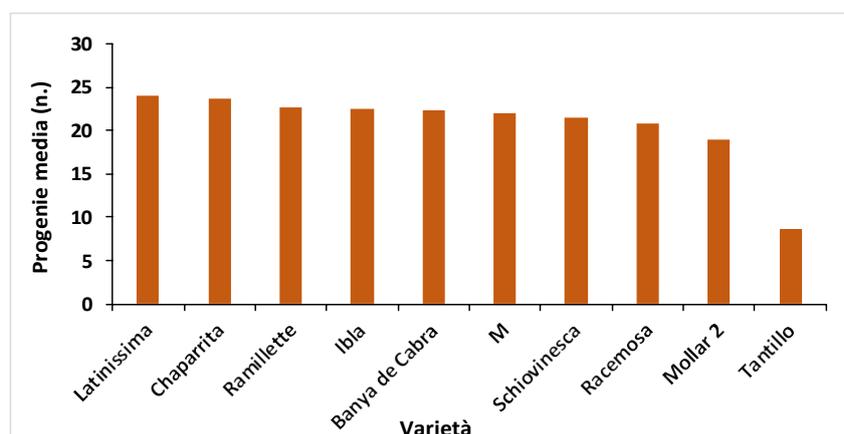
Fig. 4 – Tempi di sviluppo di *Xylosandrus compactus* in condizioni di laboratorio a diverse temperature

Risultati (non definitivi) indicano inoltre che la progenie media per femmina ottenuta nell'allevamento di laboratorio, su rametti di Carrubo opportunamente preparati (come da protocollo sopra descritto), variava mediamente da 20 a 28.

I valori relativi ai tempi di sviluppo e alla progenie media per femmina sono risultati simili per numerose generazioni successive, confermando la validità della tecnica di allevamento nonché la sua ripetibilità.

Test riguardanti il comportamento a carico di diverse varietà di Carrubo da parte dello scoltide sono stati avviati impiegando rami di: Latinissima; Chaparrita; Ramillette; Ibla; Banya de Cabra; M; Schiovinesca; Racemosa; Mollar 2 e Tantillo. I risultati in Fig. 5 (ancora preliminari) mostrano una possibile minore suscettibilità da parte di alcune varietà, tuttavia ulteriori indagini dovrebbero essere condotte per confermare questo dato.

Fig. 5 – Progenie media ottenuta da femmine mature di *Xylosandrus compactus* allevate in condizioni di laboratorio su diverse varietà di Carrubo



2. Valutazione delle potenziali strategie di controllo dello scoltide

Considerate le difficoltà applicative del controllo chimico nei confronti dello scoltide, dato che quest'ultimo trascorre la maggior parte del proprio ciclo biologico all'interno delle gallerie di covata scavate nel legno; si è proceduto alla valutazione dell'impiego di alcuni microrganismi antagonisti dell'insetto o del simbionte. In particolare, è stata valutata l'efficacia di batteri antagonisti del genere *Bacillus*, di funghi micoparassitici del genere *Trichoderma* e del fungo entomopatogeno *Beauveria bassiana*.

Elenco dei formulati commerciali (disponibili come biofungicidi e bioinsetticidi) saggiati:

- *Bacillus subtilis* strain QST 713 (SERENADE MAX® - $5,13 \times 10^{10}$ CFU/g)
- *Bacillus amyloliquefaciens* strain D747 (AMYLO-X® - 5×10^{10} CFU/g)
- *Trichoderma asperellum* T25 + *Trichoderma atroviride* T11 (TUSAL® - 1×10^8 UFC/g)
- *Trichoderma asperellum* ICC 012 + *Trichoderma gamsii* ICC 080 (REMEDIER® - 3×10^7 UFC/g)
- *Trichoderma harzianum* T-22 (TRIANUM-P® - 1×10^9 UFC/g)
- *Trichoderma asperellum* T34 (T-34 BIOCONTROL® - 1×10^9 UFC/g)
- *Trichoderma atroviride* SC1 (VINTEC® - 1×10^{13} UFC/Kg)
- *Beauveria bassiana* (NATURALIS® - strain ATCC 74040 - 0,019% a.i.)

I singoli formulati sono stati impiegati a diverse concentrazioni tenendo conto delle indicazioni fornite dal produttore. Tutte le soluzioni sono state preparate utilizzando Twin 80 come tensioattivo e il controllo era costituito da acqua. Le prove sono state condotte trattando rametti di carrubo con diverse dosi di ogni formulato prima dell'inoculo di femmine mature. I rametti trattati e fatti asciugare per qualche minuto, venivano posti all'interno di tubi di vetro. Sono state introdotte 5 femmine mature per tubo (replica) per un minimo di 8 repliche per concentrazione saggiata. I tubi venivano quindi posti in condizioni controllate (25 ± 1 °C e $60 \pm 10\%$ U.R.) per 14 giorni.

Trascorse le due settimane i rametti venivano aperti longitudinalmente al fine di intercettare le gallerie infestate e valutare i seguenti parametri:

- Mortalità a 48h e al 14° giorno (%);
- Formazione galleria (%);
- Presenza del simbionte (%);
- Presenza di progenie (%);
- Numero medio di progenie per femmina (n).

I risultati sono presentati in Fig. 6 e 7. Nello specifico, i formulati a base di *Trichoderma* hanno mostrato una buona attività antagonistica nei confronti del simbionte fungino; in particolare l'impiego di *T. atroviride* SC1 e *T. asperellum* T34 (impiegati a concentrazioni standard/campo) ha determinato una diminuzione significativa della progenie media per esemplare. Il fungo entomopatogeno *B. bassiana* ATCC 74044 ha determinato invece una elevata mortalità e riduzione della progenie media per femmina madre solo quando impiegato a concentrazioni nettamente più elevate di quelle suggerite (standard/campo).

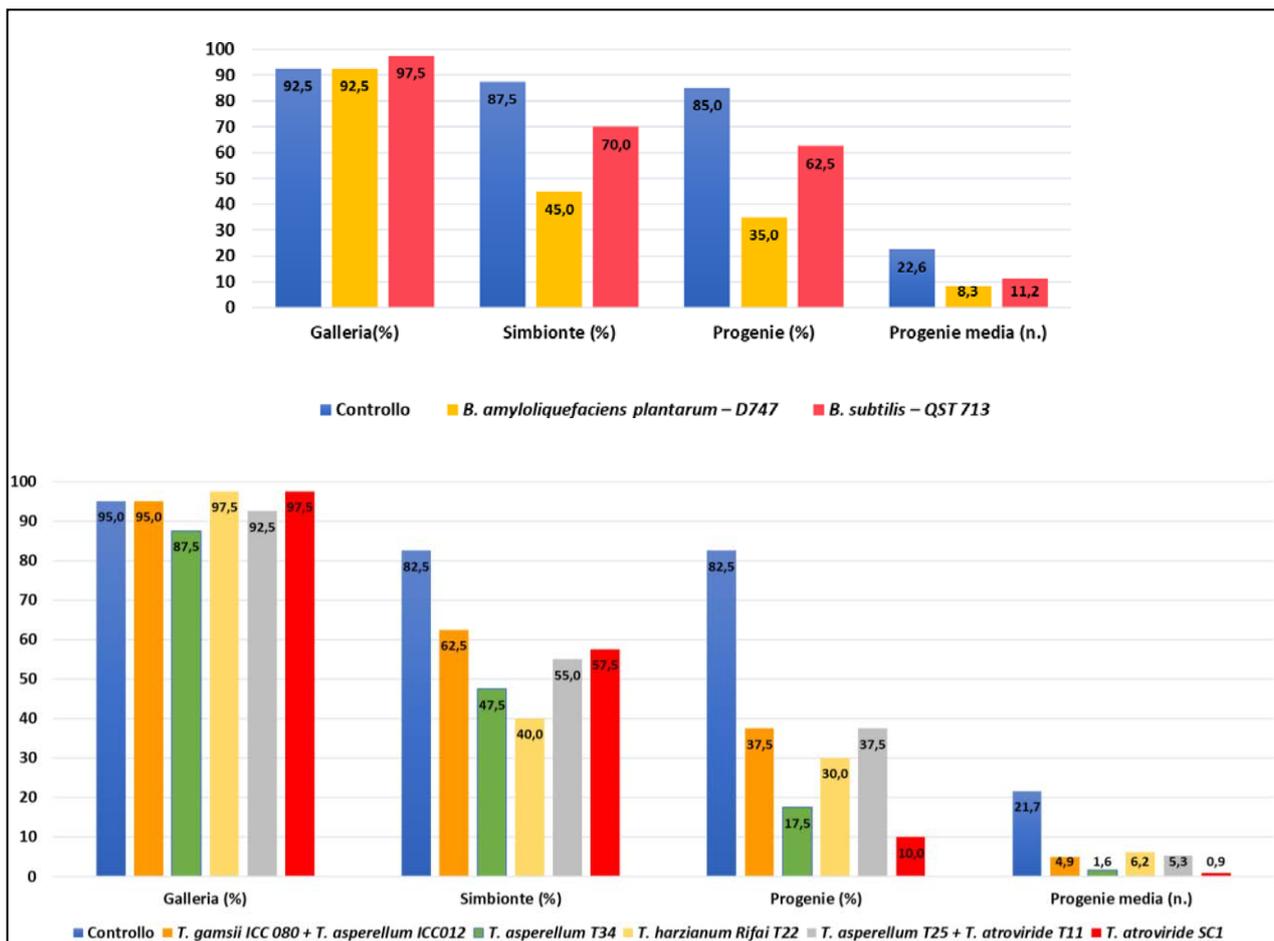


Fig. 6 – Attività di bio-fungicidi a base di *Bacillus* spp. e *Trichoderma* spp., impiegati a concentrazione standard/campo su rametti di carrubo, nei confronti di *Xylosandrus compactus* e del suo simbiote *Ambrosiella xylebori* in condizioni di laboratorio

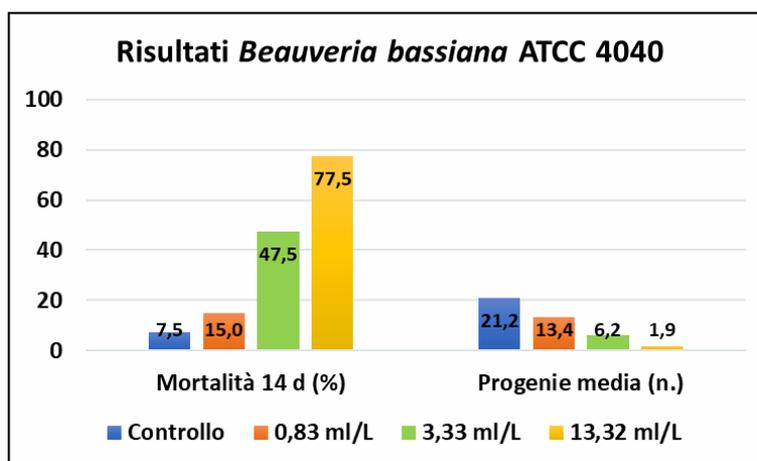


Fig. 7 – Attività del fungo entomopatogeno *Beauveria bassiana* ATCC 4040, impiegato a diverse concentrazioni su rametti di carrubo, nei confronti di *Xylosandrus compactus* in condizioni di laboratorio

3. Valutazione dell'attività di alcune sostanze volatili nei confronti del fitofago

Test olfattometrici sono stati condotti al fine di valutare l'attrattività o la repellenza di alcune sostanze volatili nei confronti delle femmine adulte di *X. compactus*. Nello specifico l'etanolo, già noto come attrattivo di diversi Ambrosia beetles, e il Verbenone, feromone di disaggregazione di alcuni scolitidi, sono stati testati rispettivamente per l'attrattività e per la repellenza. La preferenza olfattiva di femmine coetanee di *X. compactus*, ottenute da allevamento di laboratorio, per le diverse fonti è stata testata tramite la realizzazione di biosaggi a doppia scelta (dual-choice) con un olfattometro a due vie (Y-tube).

Il dispositivo impiegato risulta costituito da un tubo di vetro a forma di Y di 1,5 cm di diametro, con un braccio di entrata lungo 18,5 cm e due bracci laterali di 18,5 cm di lunghezza e angolo di 70° ognuno dei quali era collegato ad una fonte odorosa, orientato in senso orizzontale. Le prove sono state condotte in una stanza buia con l'olfattometro illuminato da una lampada a pantofago a luce bianca da 22 W.

La scelta di ogni femmina testata è stata considerata valida quando ha raggiunto la fine di uno dei due bracci; le femmine che non hanno fatto alcuna scelta dopo 10 minuti sono state escluse dai risultati.

Sono state saggiate tre combinazioni di sostanze e registrate almeno 40 risposte per ogni combinazione:

- etanolo da solo a confronto con aria (ctrl)
- verbenone ((1S)-(-)-Verbenone) da solo a confronto con aria
- etanolo e verbenone tra di loro

I risultati (Fig. 8) hanno confermato l'attrattività dell'etanolo e la repellenza del verbenone nei confronti dello scolitide, tuttavia questi andrebbero confermati con ulteriori test, anche a confronto con altre sostanze volatili.

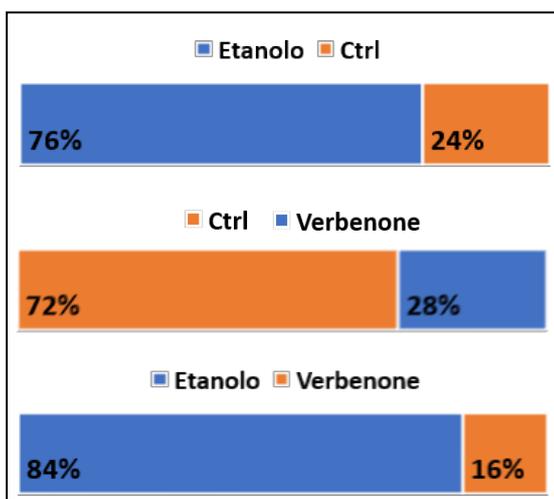


Fig. 8 – Risposta olfattometrica di femmine *Xylosandrus compactus* allevate in condizioni di laboratorio a diverse sostanze volatili

Antonio Fuglito

Visto

Il Responsabile scientifico

Giovanna Tropea



UNIVERSITÀ
degli STUDI
di CATANIA



Relazione scientifica prodotta nell'ambito della borsa di ricerca:

**“Perfezionamento del protocollo di allevamento
di *Xylosandrus compactus* e saggi di laboratorio
di molecole Insetticide”**

Collaboratore di ricerca: Dott. Carmelo Cavallaro

Responsabile Scientifico: Prof. ssa Giovanna Tropea Garzia

Programma di ricerca Regione Sicilia – Di3A (UniCt):
"Difesa fitosanitaria nei confronti dello scoltide del carrubo
Xylosandrus compactus (Eichhoff)" – DISCOCA

Indice

- 1. Perfezionamento del protocollo di allevamento di *Xylosandrus compactus***
- 2. Saggi di laboratorio con molecole insetticide**

1. Perfezionamento del protocollo di allevamento di *Xylosandrus compactus*

L'attività è stata mirata al perfezionamento del protocollo sperimentale precedentemente messo a punto e che prevedeva l'impiego di rametti sani di Carrubo da esporre alle femmine dello scoltide.

Il precedente protocollo prevedeva:

1. Selezione di rami di carrubo sani con diametro compreso tra 5 e 9 mm;
2. Preparazione di sezioni di ramo prive di nodi con lunghezza di circa 10 cm;
3. Copertura delle estremità tagliate con parafilm e immersione in apposita soluzione;
4. Asciugatura sotto cappa per 30 minuti;
5. Inserimento delle singole porzioni di ramo in tubi di vetro (25 mm Ø e 20 cm lunghi);
6. Introduzione di un numero standard di femmine mature per tubo;
7. Incubazione in condizioni controllate.

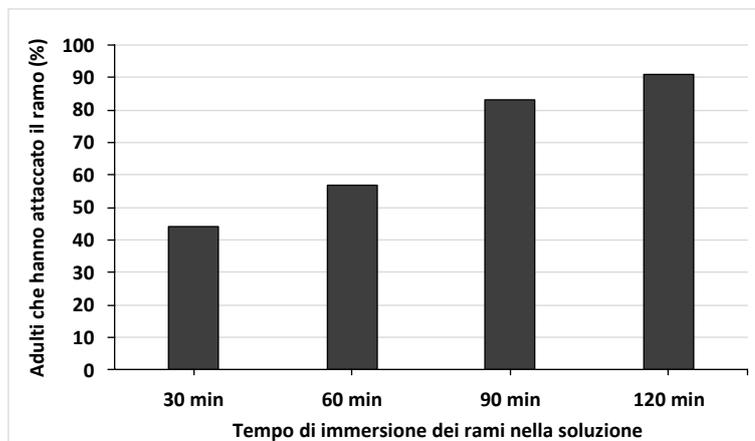
Nello specifico, si è proceduto a valutare:

- La corretta durata dell'immersione delle porzioni di ramo in apposita soluzione in grado di indurre l'attacco dello scoltide (di cui al punto 3);
- Il numero ideale di femmine mature di *X. compactus* da introdurre per ogni tubo di allevamento (di cui al punto 6);
- La possibilità di realizzare l'allevamento, impiegando lo stesso protocollo, su altri ospiti vegetali noti e nello specifico a carico di rami di alloro.

Valutazione del tempo di immersione delle porzioni di ramo in apposita soluzione

Considerata l'attrattività dell'etanolo per il fitofago, si è scelto di realizzare una soluzione acquosa di etanolo al 10%. Si è quindi proceduto all'immersione, nella soluzione realizzata, di quattro diversi gruppi di porzioni di ramo di Carrubo (ognuno costituito da dieci unità) per un tempo di 30, 60, 90 o 120 minuti. Dopo l'immersione, le sezioni di ramo sono state fatte asciugare ed esposte agli adulti dello scoltide. È stata quindi calcolata la percentuale di adulti che a 24 ore dall'esposizione ha attaccato i rami scavando il foro d'ingresso (Fig. 1).

Fig. 1 – Percentuale di femmine mature di *Xylosandrus compactus* che ha attaccato i segmenti di ramo di Carrubo, tenuti in immersione per 30, 60, 90 o 120 minuti, entro 24 ore dall'esposizione.

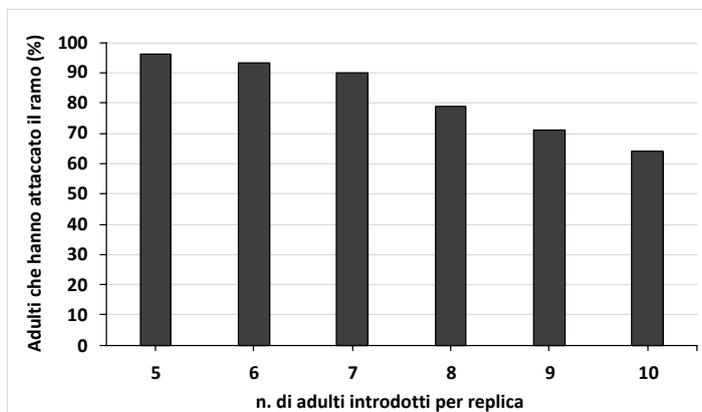


I risultati mostrano che la durata dell'immersione nella soluzione attrattiva influenza in maniera rilevante l'attrattività delle porzioni di ramo per *X. compactus*. Nello specifico, tempi di immersione pari a 90 e 120 minuti hanno determinato percentuali di attacco superiori all'80 e al 90% rispettivamente.

Valutazione del numero ideale di esemplari di *X. compactus* da introdurre per ogni replica

Al fine di individuare il numero congruo di femmine mature dello scolitide da introdurre all'interno di ogni tubo contenente una porzione di ramo si è proceduto ad inoculare un numero crescente di adulti e specificatamente da 5 a 10 per replica. È stata quindi calcolata la percentuale di adulti che a 48 ore dall'esposizione ha attaccato i rami scavando il foro d'ingresso (Fig. 2).

Fig. 2 – Percentuale di femmine mature di *Xylosandrus compactus* che, introdotte in gruppi di numero variabile da 5 a 10 per replica, ha attaccato i segmenti di ramo di Carrubo a 48 ore dall'esposizione.



I risultati mostrano che il numero ideale di adulti da introdurre all'interno di ogni tubo, contenente una porzione di ramo, varia da 6 a 7. Infatti, anche incrementando il numero di esemplari introdotti si ottiene un aumento del numero di adulti che non scava il foro di ingresso e che rimane vagante senza attaccare il ramo.

Replicabilità del protocollo realizzato impiegando altri ospiti vegetali suscettibili

Al fine di valutare la replicabilità della tecnica di allevamento di *X. compactus* su altri ospiti vegetali si è scelto di impiegare rami di alloro, in quanto pianta già nota come ospite dello scolitide anche in prossimità delle aree carrubetate siciliane. Nello specifico, l'allevamento è stato condotto con le stesse modalità previste dal protocollo ma impiegando come ospite vegetale rametti sani di alloro. La prova è stata condotta in condizioni di laboratorio ($T= 25\pm 1^\circ\text{C}$ ed $\text{U.R.} = 60\pm 10\%$).

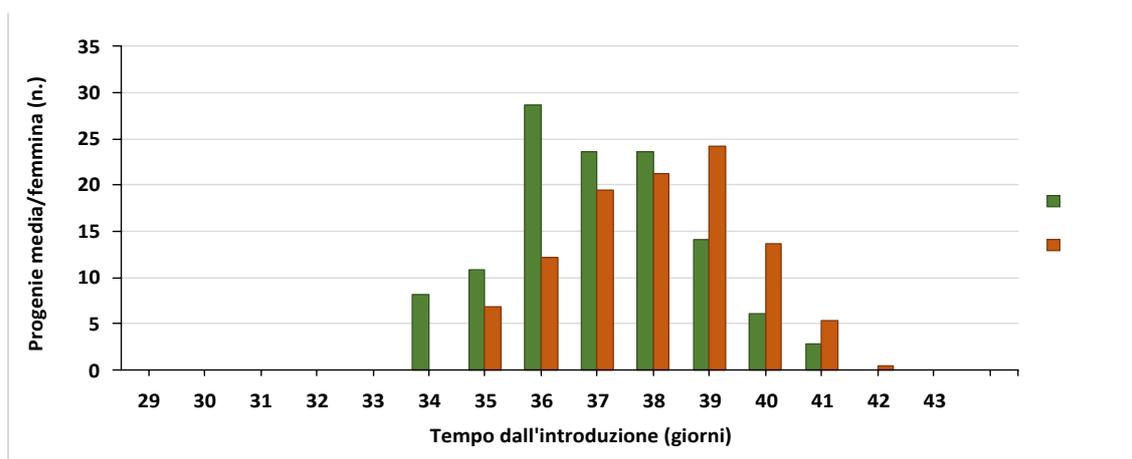


Fig. 3 – Tempi di sviluppo di *Xylosandrus compactus* in condizioni di laboratorio su rami di carrubo e alloro.

I risultati (Fig. 3) indicano una leggera differenza nel tempo di sviluppo delle colonie dello scolitide tra i diversi ospiti. Tuttavia, è stata dimostrata la possibilità di condurre l'allevamento di laboratorio, ottenendo livelli di progenie del tutto simili, anche a carico di rametti di alloro.

Infatti, i valori relativi ai tempi di sviluppo e alla progenie media sono risultati simili nelle generazioni successive, confermando la validità della tecnica di allevamento nonché la sua ripetibilità.

2. Saggi di laboratorio con molecole insetticide

Considerata la scarsa presenza di informazioni reperibili in letteratura scientifica sul controllo chimico dello scolitide; si è proceduto alla valutazione dell'impiego di alcune molecole insetticide, privilegiando quelle autorizzate in biologico. Queste sono state inoltre confrontate con molecole chimiche di sintesi tradizionalmente impiegate sia in campo che in vivaio. In particolare, è stata valutata l'efficacia di tre insetticidi autorizzati in agricoltura biologica e di tre insetticidi di sintesi.

Elenco dei formulati commerciali saggiati:

- AZADIRACTIN (Neemazal[®]-T/S - 10 g/L)
- SPINOSAD (Laser[®] - 480 g/L)
- PYRETHRINS (Biopiren plus[®] - 18.6 g/L)
- THIAMETHOXAM (Actara 25 WG[®] - 25g/100g)
- CHLORANTRANILIPROLE (Coragen[®] - 200 g/L)
- LAMBDA-CYHALOTHRIN (Karate zeon 1.5[®] - 15 g/L)

I singoli formulati sono stati impiegati a diverse concentrazioni tenendo conto delle indicazioni fornite dal produttore. Tutte le soluzioni sono state preparate utilizzando Twin 80 come tensioattivo e il controllo era costituito da acqua. Le prove sono state condotte trattando rametti di carrubo con diverse dosi di ogni formulato prima dell'inoculo di femmine mature. I rametti trattati e fatti asciugare per qualche minuto, venivano posti all'interno di tubi di vetro. Sono state introdotte 5 femmine mature per tubo (replica) per un minimo di 8 repliche per concentrazione saggiata. I tubi venivano quindi posti in condizioni controllate (25 ± 1 °C e $60 \pm 10\%$ U.R.) per 14 giorni.

Trascorse le due settimane i rametti venivano aperti longitudinalmente al fine di intercettare le gallerie infestate e valutare i seguenti parametri:

- Mortalità a 48h (Fig. 4);
- Numero medio di progenie per femmina (Fig. 5).

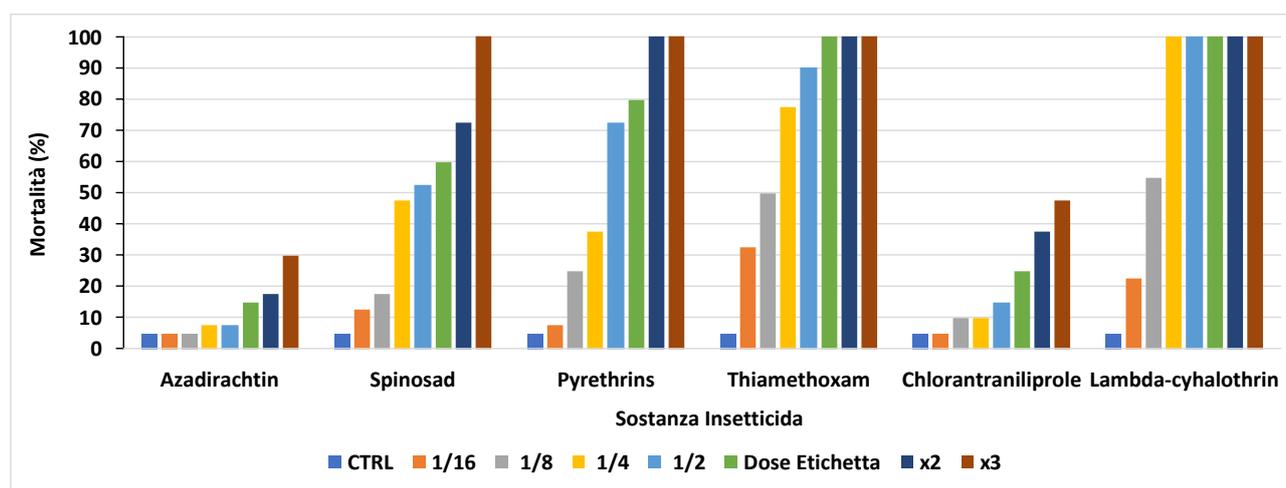


Fig. 4 – Mortalità degli adulti di *Xylosandrus compactus* a 48 ore dall'esposizione a diverse sostanze insetticide in condizioni di laboratorio su rami di carrubo.

I risultati relativi alla mortalità mostrano (Fig. 4) che Spinosad e Piretrine naturali hanno determinato una maggiore mortalità tra i formulati autorizzati in biologico quando impiegati ad elevate concentrazioni. Mentre Thiamethoxam e Lambda-cyhalothrin (entrambi insetticidi di sintesi) hanno determinato una elevata mortalità anche a dosi nettamente più basse rispetto a quelle di etichetta.

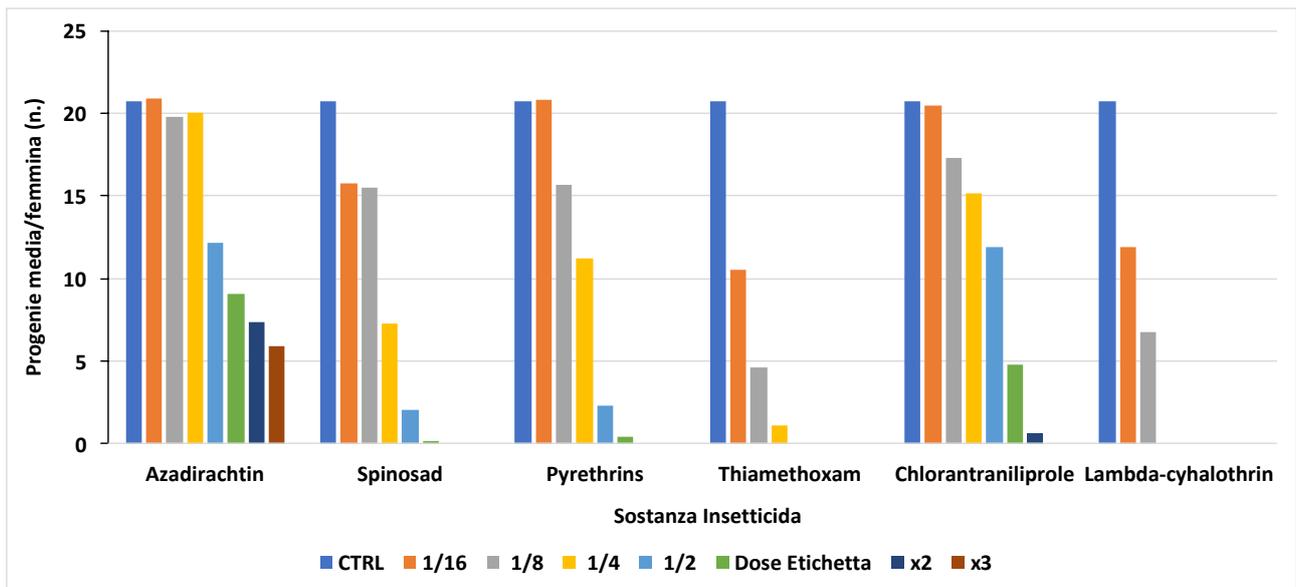


Fig. 5 – Progenie media prodotta da femmine di *Xylosandrus compactus* a 14 giorni dall'esposizione a diverse sostanze insetticide in condizioni di laboratorio su rami di carrubo.

I risultati mostrati in Fig. 5 mostrano che tutte le sostanze saggiate sono state in grado di ridurre drasticamente la progenie ottenuta da femmine dello scoltide esposte al trattamento. Inoltre, sia lo Spinosad che le Piretrine naturali, quando impiegati a dose di etichetta hanno mostrato efficacia paragonabile a quella degli insetticidi di sintesi saggiati.

Catania li, 9 marzo 2020

Firma

Corrado Corrado

Visto

Il Responsabile scientifico

Giuseppe Tropea

