

EFFICACIA DI UN NUOVO DIFFUSORE DI FEROMONE A RISERVA DI CARICA BIODEGRADABILE PER IL CONTROLLO DI *LOBESIA BOTRANA* CON IL METODO DELLA CONFUSIONE SESSUALE

A. IODICE, E. LADURNER, F. SAVINO, M. BENUZZI
CBC (Europe) - Biogard Division, Area Tecnica - Via Calcinaro, 2085 Int. 7,
47521 Cesena
aiodice@cbceurope.it

RIASSUNTO

BIOOtwin® L è un nuovo diffusore di feromone per la confusione di *Lobesia botrana*, costituito da biopolimeri provenienti da fonti naturali biodegradabili. Nelle cinque prove effettuate su vite da vino su due anni (2018–2019) e in diversi areali italiani, si è voluto verificare se l'efficacia del nuovo diffusore nel ridurre le infestazioni di *L. botrana*, rispetto a un testimone non trattato, fosse comparabile a quella del prodotto di riferimento Isonet® L TT, costituito da polimeri plastici non biodegradabili. In tutte le prove, entrambi i diffusori sono stati applicati al dosaggio di 250 diffusori/ha. Nel testimone non trattato la percentuale media complessiva di infiorescenze infestate da *L. botrana* era dell'8,3% in prima generazione, e quella di grappoli infestati 13,8% in seconda generazione e 26,6% alla raccolta. Livelli di infestazione significativamente inferiori e statisticamente comparabili sono stati registrati nelle parcelle trattate con il nuovo diffusore (media complessiva: rispettivamente 2,4, 1,8 e 5,4%) e in quelle trattate con il prodotto di riferimento (media complessiva: rispettivamente 2,4, 1,8 e 5,2%). Il nuovo diffusore può essere considerato uno strumento valido per una gestione sostenibile del vigneto, in quanto, oltre ad essere efficace, consente di ridurre significativamente i rifiuti in plastica da smaltire.

Parole chiave: feromoni sessuali, plastiche biodegradabili, vite, BIOOtwin

SUMMARY

NEW BIODEGRADABLE RESERVOIR DISPENSER FOR PHEROMONE-MEDIATED MATING DISRUPTION IN THE CONTROL OF *LOBESIA BOTRANA*

BIOOtwin® L is a new dispenser of pheromone for the mating disruption of *Lobesia botrana*, consisting of biopolymers of natural and biodegradable origin. The five trials conducted on wine grape over two years (2018-2019) in different Italian areas (northern, central and southern Italy) aimed at evaluating if the efficacy of the new dispenser in reducing *L. botrana* infestations in comparison to an untreated control was comparable to that of the reference product Isonet® L TT, consisting of non-biodegradable plastic polymers. In all the trials, both dispensers were applied at a rate of 250 dispensers/ha. In the untreated control, the overall mean percentage of flower clusters infested by *L. botrana* amounted to 8.3% at the end of the first generation, and that of infested bunches to 13.8% at the end of the second generation and to 26.6% at harvest. Significantly lower and statistically comparable infestation levels were observed in the plots treated with the new dispenser (overall mean: respectively 2.4, 1.8 and 5.4%) and in those treated with the reference product (overall mean: respectively 2.4, 1.8 and 5.2%). The new dispenser can be considered a valuable tool for a sustainable management of vineyards, since it is effective and it permits reduction of plastic wastes produced in grapevine cultivation.

Keywords: sexual pheromones, biodegradable plastics, grapevine, BIOOtwin

INTRODUZIONE

La tecnica della confusione sessuale è impiegata ormai da decenni in frutticoltura e in viticoltura attraverso l'utilizzo di varie tipologie di diffusori di materiale plastico che, rilasciando nell'ambiente l'analogo sintetico del feromone specifico dell'insetto bersaglio, ne compromettono la capacità recettiva dei maschi, riducendone e/o ritardandone gli accoppiamenti (Cardé e Minks, 1995; Suckling, 2000; Miller et al., 2006). Per quanto riguarda i principali fitofagi della vite, la confusione sessuale si è andata affermando, negli ultimi decenni, come una tecnica affidabile ed efficace nei confronti della tignoletta della vite, *Lobesia botrana* (Denis e Schiffermüller) (Ioriatti et al., 2008, 2011; Cooper et al., 2014). Nella Unione Europea si stima che circa 300.000 ettari di vigneti siano trattati con la confusione sessuale nei confronti della *L. botrana*, di cui 90.000 ettari in Francia, 84.000 ettari in Spagna, 60.000 ettari in Germania e 43.000 ettari in Italia (Benelli et al., 2019).

Alcuni aspetti critici della confusione sessuale riguardano, oltre all'ottimizzazione delle prestazioni degli erogatori e alla loro sostenibilità economica collegata ai tempi di applicazione in campo, anche la necessità di smaltire le plastiche a fine stagione. Lo sviluppo di erogatori di feromoni biodegradabili consente di ridurre i costi operativi in campo (riducendo o eliminando i tempi necessari alla rimozione e allo smaltimento degli erogatori stessi a fine stagione), nonché l'inquinamento ambientale (Guerrini et al., 2017). I diffusori di feromone BIOotwin® L, oggetto delle sperimentazioni, a differenza dei diffusori di riferimento Isonet® L TT, costituiti da polimeri plastici, sono costituiti da biopolimeri da fonti naturali biodegradabili. Entrambi vengono prodotti dalla ditta Shin-Etsu Chemical Co Ltd (Giappone) e distribuiti in Italia da CBC Europe (Grassobbio, Bergamo). I diffusori sono composti da due microcapillari paralleli contenenti il componente principale del feromone sessuale di *L. botrana*, (7E,9Z)-7,9-dodecadien-1-yl acetato. I fattori che regolano l'erogazione di feromone sono di natura fisico-chimica. L'erogazione varia in funzione dello spessore delle pareti dei capillari, delle temperature medie e dei movimenti di aria, ma è anche legata alle caratteristiche intrinseche del polimero utilizzato.

Le sperimentazioni riportate nel presente lavoro avevano lo scopo di verificare se l'efficacia del diffusore biodegradabile BIOotwin® L in campo, nel ridurre le infestazioni di *L. botrana* su vite, fosse comparabile a quella del prodotto di riferimento Isonet® L TT, costituito da polimeri plastici non biodegradabili.

MATERIALI E METODI

Le sperimentazioni sono state condotte nel biennio 2018-2019 in tre diverse località rappresentative della coltivazione della vite dell'Italia settentrionale, centrale e meridionale. Una prova è stata condotta in Sicilia a Marina di Acate (RG) nel 2018, due prove sono state condotte in Emilia-Romagna nella zona di Ravenna nel 2019, e altrettante in Toscana, nel comune di Castiglione della Pescaia (GR), una nel 2018 e una nel 2019. Le caratteristiche dei vigneti oggetto della sperimentazione sono riassunte nella tabella 1, mentre la descrizione delle tesi a confronto e delle superfici trattate nelle diverse prove è riportata nella tabella 2. In tutte le prove entrambi i prodotti sono stati applicati nell'ultima decade di marzo, prima dell'inizio del volo della generazione svernante di *L. botrana* ad una dose di 250 diffusori/ha. Poiché la divisione in blocchi randomizzati non si può applicare nel caso di parcelle di ampie dimensioni come quelle necessarie per gli studi sulla confusione sessuale (EPPO, 2008), ciascuna parcella è stata suddivisa in 10 sotto-parcelle, sufficientemente estese per consentire il controllo dei danni su almeno 10 infiorescenze in prima generazione e altrettanti grappoli in seconda generazione e alla raccolta. L'entità del danno è stata valutata calcolando la

percentuale di infiorescenze attaccate da *L. botrana* in prima generazione nonché la percentuale di grappoli infestati in seconda generazione e alla raccolta all'interno di ciascuna sotto-parcella. In tutte le prove è stato inoltre monitorato il volo di *L. botrana* mediante trappole di monitoraggio BDT (Biogard Delta Trap), innescate con erogatori di feromone specie-specifico standard e installate al centro di ciascuna parcella in prova al momento dell'applicazione dei diffusori. Le trappole sono poi state controllate a cadenza settimanale per contare il numero di catture per trappola.

Per valutare l'effetto della tesi (testimone non trattato, BIOotwinL e Isonet L TT) e dell'anno (2018 e 2019) e le possibili interazioni tra tesi e anno, sulla percentuale di infiorescenze infestate in prima generazione e sulla percentuale di grappoli infestati in seconda generazione e alla raccolta, è stata eseguita un'analisi della varianza (Anova) a due vie, considerando le singole prove come repliche e i dati registrati nelle sotto-parcelle come sotto-campioni. Per fare i confronti a coppie tra le medie delle tesi a confronto è stato utilizzato il test di Tukey ($P < 0,05$).

Tabella 1. Caratteristiche dei vigneti oggetto della sperimentazione

Prova	Località, anno di prova	Cultivar	Forma di allevamento	Sesto di impianto (m)	Età impianto (anni)
1	Marina di Acate (RG), 20018	Grillo	Cordone sper.	2,2 x 0,9	13
2	Castiglione della P. (GR), 2018	Cabernet Sauv.	Cordone sper.	2,0 x 0,8	16
3	Castiglione della P. (GR), 2019	Cabernet Sauv.	Cordone sper.	2,0 x 0,8	17
4	Ravenna (RA), 2019	Trebbiano	Casarsa	3,3 x 1,5	13
5	Campiano (RA), 2019	Pignoletto	Casarsa	3,0 x 1,15	10

Tabella 2. Tesi a confronto e superficie trattata con le tesi a confronto nelle singole prove

Tesi	Contenuto sostanza attiva	N° unità/ha	Dose s.a. (g/ha) per stagione	Sup. tesi (ha) per prova:					
				1	2	3	4	5	
1	Testimone n.t.	-	-	0,1	0,7	0,7	1	1	
2	BIOotwin L	77-82% p/p (E,Z)-7,9-dodecadienyl acetato	250	95 g	4,3	3,5	3,5	4,4	2,1
3	Isonet L TT	79,2% p/p (E,Z)-7,9-dodecadienyl acetato	250	95 g	4,1	4,2	4,2	4,4	2

RISULTATI

Per quanto riguarda le catture nelle trappole di monitoraggio, in generale si è notata una riduzione notevole delle catture in entrambe le tesi trattate, rispetto al testimone non trattato. Nella prova 1 si è osservato un completo abbattimento delle catture degli adulti di *L. botrana* a confronto con il testimone non trattato, sia nell'appezzamento trattato con il diffusore biodegradabile che in quello trattato con il prodotto di riferimento, mentre nel testimone non trattato il numero totale di catture/trappola ammontava a 248 (figura 1). Nelle prove 2 e 3, le catture nelle trappole di monitoraggio sono state generalmente basse in tutte le tesi oggetto di sperimentazione: nel 2018 nella parcella del testimone non trattato sono stati catturati un totale di 42 maschi di *L. botrana*, mentre solo 3 catture sono state registrate nella parcella trattata con il diffusore biodegradabile BIOotwin L e soltanto 1 maschio è stato catturato nella parcella trattata con il prodotto di riferimento (figura 2); nel 2019 le catture sono state trascurabili durante l'intero periodo di studio in tutte le tesi a confronto (numero totale di

catture/trappola: 3 nel testimone non trattato, 0 nella parcella BIOOtwIn L e 1 nella parcella Isonet L TT).

Figura 1. Andamento del volo di *L. botrana* nella prova 1 di Marina di Acate (RG) nel 2018

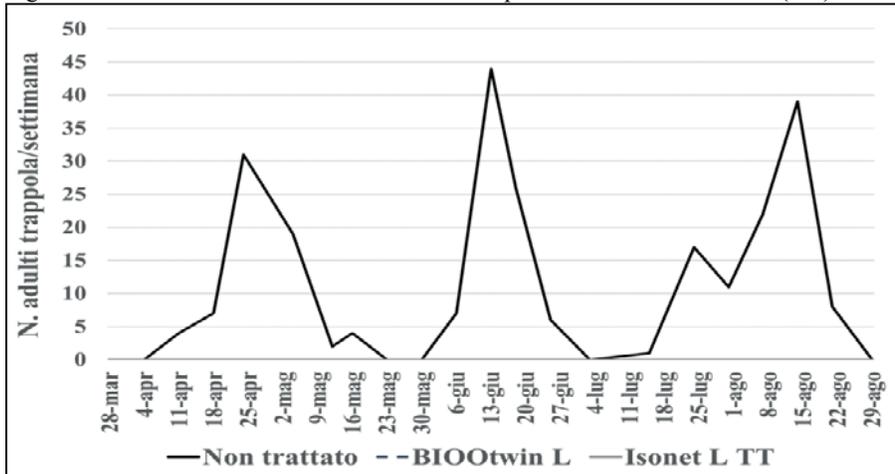
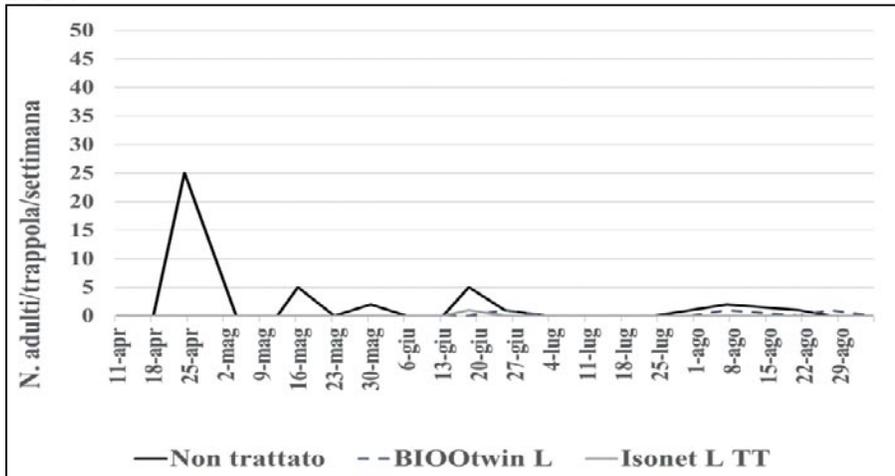


Figura 2. Andamento del volo di *L. botrana* nella prova 2 di Castiglione della Pescaia (GR) nel 2018



Nella prova 4 le catture di *L. botrana* sono state basse in tutte le tesi oggetto di sperimentazione soprattutto durante il secondo e il terzo volo (figura 3). Ciononostante, anche in questa prova il numero totale di individui catturati per trappola era più elevato nel testimone non trattato che nelle tesi trattate (n. totale di maschi catturati: 79 nel testimone non trattato contro 4 nella tesi BIOOtwIn L e 2 nella tesi Isonet L TT). Si distinguono invece più nettamente i tre voli dell’insetto bersaglio nella parcella non trattata nella prova 5 (figura 4),

con un totale di 137 maschi catturati nella trappola di monitoraggio. Entrambe le tesi trattate hanno invece portato ad un azzeramento quasi completo delle catture (figura 4).

Figura 3. Andamento del volo di *L. botrana* nella prova 4 di Ravenna nel 2019

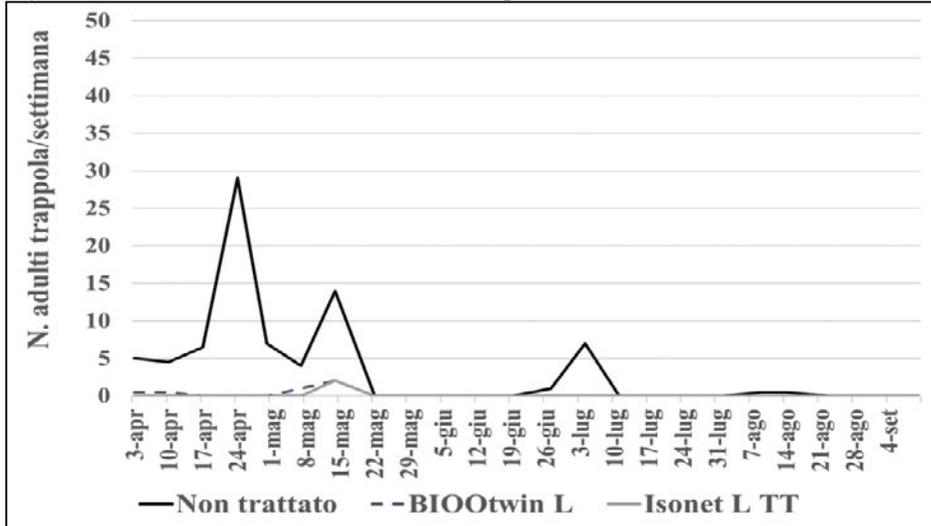
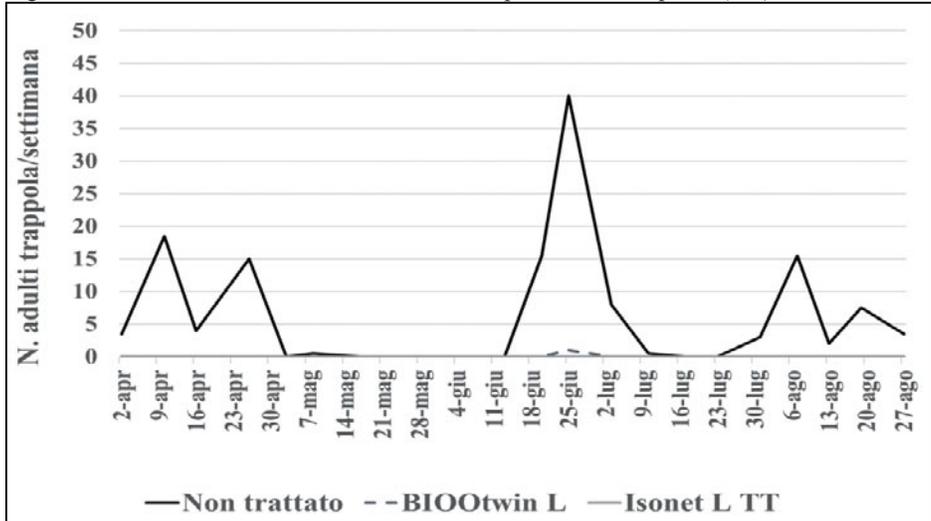


Figura 4. Andamento del volo di *L. botrana* nella prova 5 di Campiano (RA) nel 2019



Per quanto riguarda l'infestazione, le percentuali di infiorescenze o grappoli infestati da *L. botrana* nelle singole prove e la media delle cinque prove, in prima e seconda generazione e alla raccolta, sono riassunte, rispettivamente, nelle tabelle 3, 4 e 5. Già alla fine della prima generazione sono emerse differenze statisticamente significative tra le tesi, per la percentuale di infiorescenze infestate (g.l.=2; F=17,69; P<0,001). Tale differenza è stata successivamente

confermata anche nella generazione successiva (g.l.=2; F=74,13; P<0,001) e alla raccolta (g.l.=2; F=70,64; P<0,001). Il confronto a coppie ha evidenziato che il livello di infestazione era significativamente più elevato nel testimone non trattato che nelle tesi trattate, sia in prima che in seconda generazione e alla raccolta (test di Tukey: P<0,001 per tutti i confronti), mentre non sono mai state registrate differenze statisticamente significative tra i due prodotti in prova (test di Tukey: P=0,87, in prima generazione; P=0,98, in seconda generazione; P=0,89, alla raccolta). Il diffusore biodegradabile ha quindi mostrato un'efficacia elevata e comparabile a quella del prodotto di riferimento nel ridurre l'infestazione rispetto al testimone in tutti i rilievi.

Tabella 3. Percentuale (media ± dev.std.) di infiorescenze infestate in prima generazione nelle singole prove e media complessiva di infiorescenze infestate nelle 5 prove.

Tesi	Prova 1	Prova 2	Prova 3	Prova 4	Prova 5	Media complessiva (95% IC) *
1. Testimone n.t.	4,8 ± 3,2	5,8 ± 5,1	3,1 ± 1,7	27,2 ± 3,4	0,7 ± 1,1	8,3 (5,5-11,1)
2. BIOOtwinn L	0,3 ± 0,5	0,5 ± 0,7	1 ± 0,8	10,2 ± 3,1	0 ± 0	2,4 (1,2-3,6)
3. Isonet L TT	0,6 ± 0,8	0,7 ± 0,5	0,6 ± 0,8	9,4 ± 3,8	0 ± 0	2,4 (1,3-3,5)

* 95% IC = intervallo di confidenza 95%

Tabella 4. Percentuale (media ± dev.std.) di grappoli infestati in seconda generazione nelle singole prove e media complessiva di grappoli infestati nelle 5 prove.

Tesi	Prova 1	Prova 2	Prova 3	Prova 4	Prova 5	Media complessiva (95% IC) *
1. Testimone n.t.	6,8 ± 3,6	24,9 ± 8,1	17,1 ± 4,5	16,6 ± 3,2	3,4 ± 3,8	13,8 (11,2-16,3)
2. BIOOtwinn L	0,5 ± 0,7	4,8 ± 2	3,7 ± 1,2	0,6 ± 1	0 ± 0	1,9 (1,3-2,5)
3. Isonet L TT	0,3 ± 0,5	5 ± 2,4	2,6 ± 1,6	0,5 ± 1	0,4 ± 0,8	1,8 (1,2-2,4)

* 95% IC = intervallo di confidenza 95%

Tabella 5. Percentuale (media ± dev.std.) di grappoli infestati alla raccolta nelle singole prove e media complessiva di grappoli infestati nelle 5 prove.

Tesi	Prova 1	Prova 2	Prova 3	Prova 4	Prova 5	Media complessiva (95% IC) *
1. Testimone n.t.	28,6 ± 6,5	26,2 ± 7,2	45,8 ± 10,7	27,5 ± 4,4	4,9 ± 1,9	26,6 (22,5-30,7)
2. BIOOtwinn L	2,9 ± 2,3	6,4 ± 3,4	14,8 ± 7,3	2,7 ± 1,3	0,1 ± 0,3	5,4 (3,6-7,1)
3. Isonet L TT	2,0 ± 0,9	4,6 ± 4,0	17,4 ± 8,9	1,1 ± 1,1	0,7 ± 1,1	5,2 (3,0-7,3)

* 95% IC = intervallo di confidenza 95%

Sono inoltre emerse differenze statisticamente significative nel livello di infestazione tra gli anni in prima (g.l. 1; F=9,10; P=0,003) e seconda generazione (g.l.=1; F=7,07; P=0,009), ma non alla raccolta (g.l.=1; F=0,16; P=0,69). In generale, in prima generazione il livello di infestazione è risultato più elevato nel 2019, mentre in seconda generazione l'infestazione era maggiore nel 2018 (tabelle 3 e 4). L'interazione tesi per anno, invece, non è risultata

statisticamente significativa né in prima generazione (g.l.=2; F=0,59; P=0,56), né in seconda generazione (g.l.=2; F=0,03; P=0,97), né alla raccolta (g.l.=2; F=0,46; P=0,63).

DISCUSSIONE

Tra le diverse prove e nelle diverse annate di studio si notano differenze notevoli nel numero di individui catturati, in particolare nelle trappole di monitoraggio poste nelle parcelle del testimone non trattato. Per esempio, a Marina di Acate, nel 2018, si sono potuti osservare chiaramente i tre voli distinti di *L. botrana*, mentre catture trascurabili sono state osservate a Castiglione della Pescaia, nonostante l'infestazione elevata alla raccolta. Lo scopo principale del monitoraggio con trappole a feromoni è di fornire informazioni sull'attività di volo degli adulti, per determinare il momento appropriato per l'impiego degli insetticidi. Quando si utilizza la confusione sessuale, il monitoraggio è visto anche come uno strumento per avere indicazioni sull'efficacia: se il metodo funziona, i maschi non dovrebbero essere in grado di localizzare le trappole e si dovrebbe avere un abbattimento delle catture, mentre un numero considerevole di catture nelle trappole è considerato indice del fatto che la concentrazione di feromone rilasciata dai diffusori non è sufficiente a confondere i maschi. Tuttavia, non sempre esiste una correlazione diretta tra catture e danno sulla coltura (EPPO, 2019), come confermato dai dati qui riportati. Riteniamo quindi che il monitoraggio visivo sulla coltura sia da considerare imprescindibile quando si impiega la confusione sessuale.

Tra le singole prove si notano differenze notevoli anche nella pressione dell'insetto sia in prima generazione che alla raccolta. Per esempio, la pressione iniziale era particolarmente elevata nella prova di Ravenna condotta nel 2019 (prova 4), con oltre il 27% di infiorescenze infestate già in prima generazione. La pressione più elevata alla raccolta, invece, è stata osservata a Castiglione della Pescaia nel 2019 (prova 3), dove, nel testimone non trattato, quasi il 50% dei grappoli era infestato da *L. botrana*. La confusione sessuale esprime al meglio la sua efficacia con densità di popolazioni medio-basse, mentre in caso di pressione elevata dell'insetto bersaglio aumenta la probabilità di incontri casuali tra individui di sesso opposto, non mediati dall'attrazione feromonica delle femmine nei confronti dei maschi (Millar, 2007; Ioriatti e Lucchi, 2016). La confusione sessuale non è da considerare come sostitutiva degli interventi insetticidi. In caso di forte pressione dell'insetto può essere necessario intervenire con insetticidi per abbassare ulteriormente le popolazioni dell'insetto. Tuttavia, siccome l'obiettivo della sperimentazione era di valutare il contributo della sola confusione sessuale al contenimento di *L. botrana* e non quello di un suo controllo completo, si è deciso di non ricorrere all'impiego di insetticidi sui trattati, anche con popolazioni elevate.

Sia in prima che in seconda generazione sono inoltre emerse differenze significative nel livello di infestazione tra gli anni di studio. Queste differenze sono molto probabilmente imputabili alle condizioni climatiche durante il periodo di volo e di sviluppo, della prima e seconda generazione, nei due anni. Infatti, è noto da tempo che fattori abiotici influiscono sulla dinamica di popolazione di *L. botrana*. In particolare la temperatura gioca un ruolo fondamentale, in quanto le temperature alle quali sono esposti gli adulti e gli stadi larvali regolano la fecondità delle femmine (Torres-Vila, 1996)

CONCLUSIONI

Lo sviluppo di strategie di controllo efficaci e sostenibili dal punto di vista ambientale contro i principali parassiti delle colture agrarie è oggi una sfida cruciale, considerando la elevata quantità di agrofarmaci impiegati ogni anno a livello mondiale, di cui quota importante è utilizzata anche nei paesi dell'Unione Europea. I risultati delle prove condotte su due anni e

in areali diversi hanno evidenziato l'elevata efficacia del nuovo diffusore biodegradabile BIOOTwin L, nel contenere le infestazioni di *L. botrana* su vite. Il livello di contenimento ottenuto con il nuovo diffusore è risultato comparabile a quello del prodotto di riferimento sia in prima che seconda generazione, che alla raccolta. Si può quindi assumere che i biopolimeri da fonti naturali biodegradabili, che costituiscono il diffusore BIOOTwin L consentono di ottenere un'erogazione di feromone adeguata per il controllo di *L. botrana* nelle diverse condizioni climatiche che caratterizzano gli areali viticoli italiani. Il nuovo diffusore, oltre ad essere efficace, può essere considerato uno strumento valido per una gestione sostenibile del vigneto, in quanto consente di ridurre sia l'uso degli insetticidi che il quantitativo di plastica da smaltire.

LAVORI CITATI

- Benelli G., Lucchi A., Thomson D., Ioriatti C., 2019. Sex Pheromone Aerosol Devices for Mating Disruption: Challenges for a Brighter Future. *Insects*, 10, 308, 17 pp. doi: 10.3390/insects10100308
- Cardé R.T., Minks A.K., 1995. Control of moth pests by mating disruption: successes and constraints. *Annu. Rev. Entomol.*, 40, 1, 559-585.
- Cooper M., Varela L.G., Smith R.J., Whitmer D.R., Simmons G.A., Lucchi A., Broadway R., Steinhauer R., 2014. Growers, scientists and regulators collaborate on European grapevine moth program. *Calif. Agric.*, 4, 125-133.
- EPPO, 2019. PP 1/264 (2) Principles of efficacy evaluation for mating disruption pheromones. *EPPO Bulletin*, 4 pp. doi: 10.1111/epp.12594
- Guerrini S., Borreani G., Voojjs H., 2017. Biodegradable materials in agriculture: case histories and perspectives. *In: Soil degradable bioplastics for a sustainable modern agriculture, green chemistry and sustainable technology*. Editore Malinconico M., Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germania, 35-65.
- Ioriatti C., Lucchi A., Bagnoli B., 2008. Grape areawide pest management in Italy. *In: Areawide pest management: Theory and implementation*. Editori Koul O., Cuperus G.W. e Elliott N., CABI, Wallingford, United Kingdom, 208-225.
- Ioriatti C., Lucchi A., 2016. Semiochemical strategies for tortricid moth control in apple orchards and vineyards in Italy. *J. Chem. Ecol.*, 42, 7, 571-583.
- Millar J.G., 2007. Insect pheromones for integrated pest management: promise versus reality. *Redia*, 90, 51-55.
- Miller J.R., Gut L.J., De Lame F.M., Stelinski L.L., 2006. Differentiation of competitive vs. non-competitive mechanisms mediating disruption of moth sexual communication by point sources of sex pheromone (part 2): case studies. *J. Chem. Ecol.*, 32, 10, 2115-2143.
- Suckling D.M., 2000. Issues affecting the use of pheromones and other semiochemicals in orchards. *Crop Prot.*, 19, 8, 677-683.
- Torres-Vila L.M., 1996. Efecto de la temperatura de desarrollo preimaginal sobre el potencial biótico de la polilla del racimo de la vid, *Lobesia botrana* (Denis y Schiffermuller, (1775)) (Lepidoptera: Tortricidae). *SHILAP Revista de Lepidopterología*, 24, 197-206.