

VALIDAZIONE DELLA TECNICA DELL'INSETTO STERILE PER LA GESTIONE DELLA MOSCA DELLA FRUTTA *CERATITIS CAPITATA* IN MELETO

S. G. CHIESA ¹, G. ANGELI ¹, M. FIASCHETTI ¹, M. R. TABILIO ², M. CRISTOFARO ³,
I. IPLA MORA ⁴, C. IORIATTI ¹

¹Fondazione Edmund Mach - Via E. Mach 1, 38010 San Michele all'Adige (TN)

²CREA FRU - Via Fioranello 52, 00134 Roma

³ENEA Centro ricerche Casaccia - Via Anguillarese 301, 00123 S. Maria di Galeria (Roma)

⁴Empresa De Transformacion Agraria, TRAGSA - Bioplanta - Caudete de las Fuentes,
Valencia, Spagna
serena.chiesa@fmach.it

RIASSUNTO

La mosca mediterranea della frutta *Ceratitidis capitata* è stata segnalata in Trentino per la prima volta nel 1990. Allo stato attuale è insediata in aree sparse a macchia di leopardo nella valle dell'Adige e convalli limitrofe, dove provoca danni economici soprattutto su melo, principale coltura assieme alla vite. Poiché il livello della popolazione di *C. capitata* in queste zone è ancora limitato ed il dittero è diffuso in aree delimitate da bosco e vegetazione non ospite, sono soddisfatti i requisiti per saggiare la tecnica dell'insetto sterile (*Sterile Insect Technique* - SIT). In questa nota si riporta le preliminari informazioni tecniche di applicazione di SIT come misura di gestione di *C. capitata* in aree a meleto. L'obiettivo era stabilire la fattibilità di una procedura dinamica che ha previsto l'importazione di materiale biologico irradiato da una biofabbrica spagnola, la preparazione in laboratorio e il successivo rilascio in tre distretti a meleto. Nelle fasi precedenti e successive i rilasci in campo, avvenuti tra luglio e ottobre, sono state realizzate indagini circa la percentuale di maschi emergenti ad ogni spedizione, la dispersione in campo, la percentuale di ricatture, nonché è stata valutata la performance di accoppiamento con popolazione naturale.

Parole chiave: SIT, Trentino, melo

SUMMARY

THE STERILE INSECT TECHNIQUE FOR THE MANAGEMENT OF THE MEDITERRANEAN FRUIT FLY *CERATITIS CAPITATA* IN APPLE ORCHARDS

The Mediterranean fruit fly *Ceratitidis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae) was reported in Trentino for the first time in 1990. At present, it is unevenly distributed in different areas in the Adige Valley, where it causes economic damages especially on apple, the main fruit crop of the area. Since the population level of *C. capitata* in Trentino is still low and the pest is spread in a defined area bordered by forestry and non-host vegetation, the infested landscape seems to be suitable for testing the efficacy of Sterile Insect Technique (SIT) as a measure to control *C. capitata* in apple orchards. This study reports the preliminary steps taken in implementing SIT. The aim was to set up a dynamic procedure for transferring the sterile males from the biofactory to the field. The screening included quality control bioassays, recording the percentage of emerging males for each shipment, dispersion in the field and recapture.

Keywords: SIT, Trentino

INTRODUZIONE

La mosca mediterranea della frutta, *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae), è un dittero endocarpo-fago originario dell'Africa orientale, insediatosi nelle principali aree frutticole del mediterraneo (Balachowski, 1950) dove è in grado di svilupparsi a carico di numerosi frutti (Liquido et al., 1990; Papadopolus et al., 2001; De Meyer et al., 2002; Malacrida et al., 2007).

Storicamente presente nei frutteti dell'Italia centro-meridionale, di recente, a causa dei cambiamenti climatici sono stati registrati danni ai fruttiferi anche nelle regioni settentrionali (Gutierrez e Ponti, 2011). In Trentino *C. capitata* è stata segnalata per la prima volta nel 1990 in frutteti prossimi a dei supermercati. Dal 2010 si è assistito ad una sua graduale espansione e attualmente la mosca mediterranea della frutta si è stabilita in diversi distretti frutticoli della valle dell'Adige, dove talvolta arreca danni economici in particolare su melo.

Nella generalità dei casi le popolazioni non sono elevate, tuttavia in alcune annate per contenere il danno al di sotto della soglia economica sono necessari specifici trattamenti insetticidi. *C. capitata* infesta la frutta principalmente a ridosso della maturazione, pertanto le applicazioni di insetticidi in questa fase sono problematiche in relazione ai residui sulla frutta. Per scongiurare tale rischio, gli orientamenti attuali della difesa si basano in particolare sullo sviluppo di approcci innovativi, tra questi la cattura massale, l'*attract and kill* e la tecnica dell'insetto sterile (*Sterile Insect Technique* - SIT) (Navarro-Llopis et al., 2013; Martinez-Ferrer et al., 2012; Hendrichs et al., 2002). Quest'ultima tecnica (SIT) consiste nell'allevamento e conseguente rilascio di maschi della specie dannosa, precedentemente irradiati, così da permettere agli individui sterili rilasciati in campo di competere per l'accoppiamento con i maschi selvatici fertili; ne consegue che le uova deposte da femmine accoppiate con maschi sterili non sono vitali e quindi non origineranno prole, determinando una rapida e progressiva riduzione delle popolazioni in campo. Il successo di questo approccio di difesa dipende da diversi fattori; fra essi gioca un ruolo fondamentale la densità e la distribuzione spaziale dell'organismo nocivo bersaglio. Poiché il livello della popolazione di *C. capitata* in Trentino è ancora limitato ed il dittero è diffuso in un'area delimitata da barriere naturali, caratterizzate in prevalenza da bosco e vegetazione non ospite, l'area di studio si prestava per testare la tecnica dell'insetto sterile.

Questa nota riporta le preliminari informazioni tecniche di implementazione di SIT come misura di gestione di *C. capitata* in aree a meleto. L'obiettivo era stabilire la fattibilità di una procedura dinamica che ha previsto l'importazione di materiale biologico irradiato da una biofabbrica spagnola, la preparazione del materiale biologico in laboratorio e il successivo rilascio in tre distretti a meleto. Nelle fasi precedenti e successive i rilasci in campo, avvenuti tra luglio e ottobre, sono state realizzate indagini circa la percentuale di maschi emergenti da ogni spedizione, la dispersione in campo, la percentuale di ricatture.

MATERIALI E METODI

Pupe maschili di *C. capitata* allevate, appartenenti al ceppo genetico "Vienna 8" (selezione IAEA, Seibersdorf, Austria), sterili e marcate con colorante fluorescente, sono state fornite da Bioplanta (TRAGSA - Valencia, Spagna). Pupe maschili irradiate di due lotti di diversa età (con due giorni di differenza), venivano inviate settimanalmente per via aerea a Roma Fiumicino, da metà luglio a metà ottobre 2018, per un totale di 17 settimane. Giunto in aeroporto, il materiale biologico accompagnato da certificazione di sterilità era sottoposto a controllo doganale e quindi ritirato da personale del CREA FRU di Roma, munito di certificazione UVAC, come previsto per l'importazione di animali vivi. Successivamente, il materiale (1,5 L del lotto 1 e 1,5 L del lotto 2, corrispondenti a circa 150.000 pupe) veniva

consegnato alla Fondazione E. Mach (FEM) di San Michele all'Adige (Trento) da un corriere espresso. La restante parte degli insetti (350.000 pupe) veniva trattenuto presso il CREA di Roma e rilasciato bisettimanalmente da 30 punti di rilascio in un area di 40 ettari interamente coltivata a frutticoltura mista, distribuendoli omogeneamente sul territorio (dati non riportati).

Giunto in FEM, le pupe di ogni lotto venivano divise in 30 porzioni, corrispondenti al numero dei punti dai quali sarebbero poi stati rilasciati. Il materiale così preparato veniva mantenuto in camera climatica (24 ± 1 °C, UR $70 \pm 5\%$), previa alimentazione con un gel composto da acqua, zucchero (18%) e agar (1%). Gli insetti venivano rilasciati in tre aree della valle dell'Adige di circa 10 ettari ciascuna, principalmente coltivate a meleto e circondate in prevalenza da vigneto (Rovereto, Gardolo e Piovi). Due volte a settimana (lunedì per il lotto 1; mercoledì per il lotto 2) venivano rilasciati 2.500 adulti/punto (L/ha) pari a 25.000 individui/area di rilascio. Sia per valutare l'efficacia della strategia SIT, in particolare per stabilire il rapporto maschi rilasciati e maschi selvatici, che per monitorare la distribuzione degli stessi all'interno delle aree di rilascio, sono state utilizzate due tipologie di trappole/inneschi: trappole Delta, con fondo adesivo (Delta Trap - Biogard, CBC) attivate con trimedlure (Isagro), per la cattura di maschi; Vaso-trap® (Tap-trap), con vasetti di vetro innescati con attrattivo alimentare (Unipack® Biolure, Suterra), per la cattura sia di maschi che femmine. In ciascun distretto erano presenti 6 trappole innescate con trimedlure e 4 trappole innescate con Unipack Biolure, ciascuna posta ad una distanza di 50 metri dai punti di rilascio. In ciascun distretto di rilascio è stata anche presa in considerazione un'area di controllo (no rilasci) posta a 700-1400 m dai siti di rilascio (4 innescate con trimedlure e 4 con Unipack Biolure). Il rilievo delle trappole avveniva settimanalmente e gli insetti catturati venivano identificati come sterili (marcati) o selvatici, tramite l'ausilio di microscopio ottico dotato di lampada UV (420-490 nm).

Allo scopo di verificare la qualità delle pupe inviate, per ciascun lotto veniva quantificato il tasso di emergenza prelevando da ogni lotto 100 pupe e conteggiando gli individui sfarfallati trascorsi 5-7 giorni dalla spedizione (FAO IAEA/USDA, 2014).

La dispersione in campo è stata valutata in una apposita prova installando trappole per la ricattura ogni 50 metri fino a 300 metri lungo le quattro direttrici cardinali che si dipartono da un punto di rilascio. I rilasci sono stati effettuati in cinque momenti della stagione impiegando 25.000 pupe per ognuno dei 5 rilasci.

RISULTATI

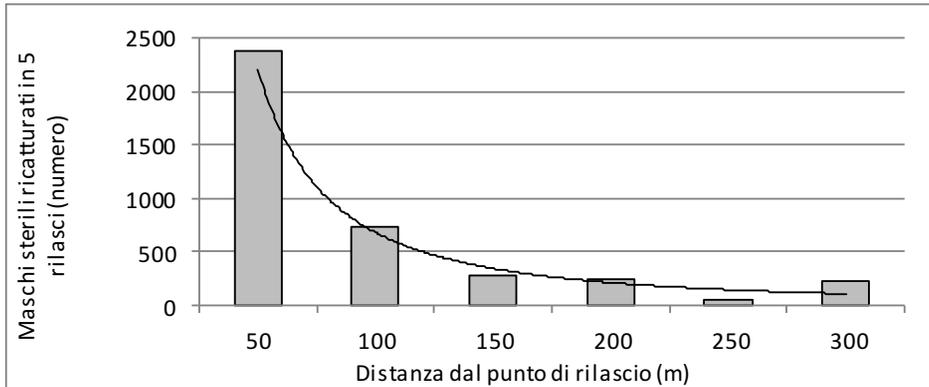
Delle 17 spedizioni ricevute nel 2018, 10 sono giunte in laboratorio entro 30 ore, 6 in 54 ore e una in 78 ore. Il controllo di qualità sulle pupe sterili, ha mostrato una buona percentuale di sfarfallamento, indipendentemente dal lotto di appartenenza, e dunque dell'età delle stesse. Fino ad una durata di 54 ore, il tempo di viaggio risultava essere compatibile con un buon sfarfallamento (>74% - <89%), mentre si riduceva con tempi maggiori (78 h), pur mantenendo dei livelli di sfarfallamento sempre superiori al 50%. I risultati, raggruppati per lotto e durata di spedizione, sono riassunti in tabella 1.

Tabella 1. Media percentuale di adulti emersi per ogni lotto e tempo di spedizione

	30 h (%)	54 h (%)	78 h (%)	30+54+78 h (%)
Lotto 1	88	74,17	62	81,19
Lotto 2	88,78	85,5	52	85,25
Lotti 1+2	88,39	79,83	57	83,22

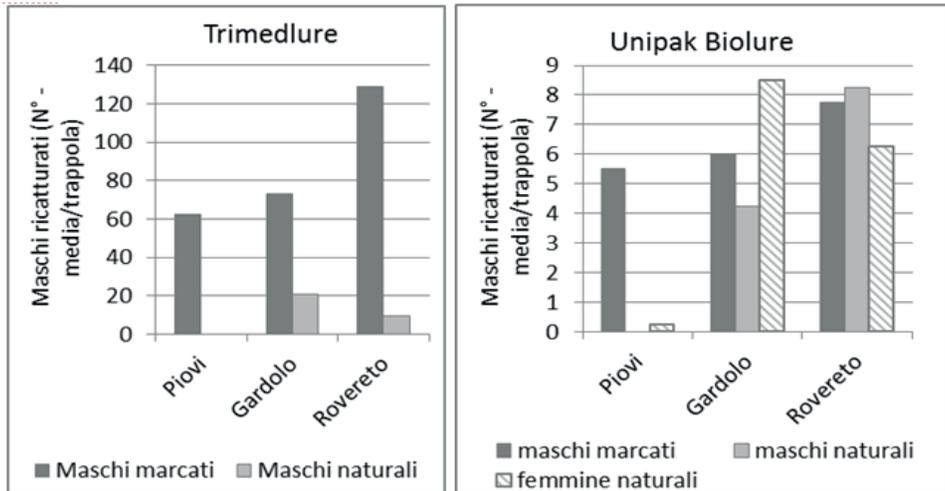
Relativamente alla capacità di dispersione dei maschi sterili, i valori ottenuti indicano uno spostamento dal punto di rilascio di almeno 300 m, in ogni direzione cardinale, ma con un potenziale decrescente (grafico 1).

Grafico 1. Somma delle catture delle quattro direzioni cardinali alle diverse distanze da un unico punto di rilascio (media di 5 rilasci, 125.000 individui liberati)



Le catture di maschi, naturali e rilasciati, delle trappole innescate con trimedlure (media/trappola/settimana) nelle 3 aree di studio, indica un rapporto maschi sterili/maschi naturali che soddisfa il requisito per un buon funzionamento di SIT, secondo quanto stabilito da FAO (FAO, 2007). Il valore del rapporto maschi naturali/maschi marcati risulta infatti essere sempre inferiore a 1/10 (grafico 2).

Grafico 2. Media delle catture settimanali delle trappole innescate con trimedlure e Unipak Biolure



Le catture delle trappole innescate con l'attrattivo alimentare Unipack Biolure risultano decisamente più contenute in termini numerici. Il grafico 2 evidenzia anche che con questa trappola/innesco i maschi sterili catturati sono numericamente simili ai selvatici, a cui si aggiunge la popolazione naturale femminile.

Per inciso queste trappole hanno inoltre permesso di catturare per la prima volta un individuo femmina di *C. capitata* nell'area Piovi, area geografica con livelli di infestazione minimi perché situata nel comune di Mezzocorona, all'estremo nord della provincia di Trento.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

La tecnica SIT è attualmente applicata con successo per il controllo di *C. capitata* in diverse aree a livello mondiale. In Europa, ad esempio, questa metodologia viene applicata con risultati soddisfacenti sin dal 2007 nella provincia di Valencia, in Spagna, ed è ancora attualmente attiva su una superficie di circa 150.000 ha coltivata ad agrumi (Arnone et al., 2017). La biofabbrica Bioplanta supporta con la sua produzione di 500 milioni di pupe sterili/settimana sia la SIT nella provincia di Valencia che anche altri progetti pilota in nord Africa ed Europa, compreso quello in Trentino.

Nonostante la Convenzione internazionale per la protezione delle piante (IPPC, 2005) includa gli insetti sterili prodotti da biofabbriche come agenti di biocontrollo, consentendone lo scambio internazionale e il potenziale utilizzo nella difesa delle colture, il trasporto aereo e lo sdoganamento rappresentano ancora una importante questione laboriosa e delicata, che deve essere ufficialmente risolta per evitare che il protrarsi delle procedure di sdoganamento possa causare ritardi con conseguente impatto negativo sulla qualità degli insetti sterili.

La *fitness* dei maschi sterili rilasciati potrebbe essere condizionata anche da metodo di allevamento, sterilizzazione con radiazioni, marcatura e la conservazione a freddo, dipendenti dalla biofabbrica. Ulteriori fattori di stress che influiscono sul processo sono la spedizione al sito di rilascio e la procedura di rilascio (Dyck et al., 2005). Ci siamo quindi concentrati sulla movimentazione del materiale in modo da ridurre al minimo il tempo di viaggio, e minimizzare quindi lo stress dovuto all'ipossia. Dai nostri risultati sembra che fino alle 54 ore di tempo di viaggio, rispettato nella quasi totalità degli invii, non ne risenta la percentuale di sfarfallamento né la longevità degli adulti.

Dato che l'efficacia della SIT è associata alla capacità dei maschi irradiati di competere con i maschi selvatici per l'accoppiamento (Nikolouli et al., 2018), si è voluto valutare la compatibilità tra il ceppo naturale e quello rilasciato oltre che al rapporto tra le due popolazioni presenti in campo dopo i rilasci. Il rapporto ottimale tra popolazione sterile e naturale risultante dal monitoraggio in campo, e la conferma della compatibilità tra il ceppo rilasciato e quello locale, indicano che la tecnica SIT per il controllo di *C. capitata* potrebbe essere applicata efficacemente in Trentino.

La distribuzione manuale degli adulti in campo da un singolo punto per ettaro, sebbene dispendiosa in termini di tempo, nelle nostre condizioni culturali si è dimostrata efficace. Tuttavia il progetto, che è proseguito nel 2019 e terminerà nel 2020, prevede di mettere a punto delle modalità di rilascio degli adulti sterili attraverso l'uso di droni, con l'obiettivo di ottimizzare la distribuzione sul territorio ed abbattere i tempi di rilascio.

Ringraziamenti

Il progetto è stato finanziato tramite FAS - PSR 2014-2020: Operazione 16.1.1. della provincia Autonoma di Trento. Si ringraziano Monica Sofia (FEM), Loris Chini (FEM), Claudio Ceccaroli (CREA-FRU) e Marco Colacci (UNIMOL) per il supporto nella parte preparativa in laboratorio e nei rilasci in campo. Si ringraziano inoltre Silvia Arnone (ENEA,

Roma) per il supporto logistico e scientifico nella organizzazione del programma SIT e Marta Martinez Gonzalvo (TRAGSA) per il supporto per i test di laboratorio.

LAVORI CITATI

- Arnone S., Tabilio M.R., Baldacchino F., Sacchetti P., Ioriatti C., Musmeci S., Sasso R., Cristofaro M., 2017. Contenere le specie fitofaghe con la tecnica dell'insetto sterile. *L'Informatore Agrario*, 21, 48-52.
- Balachowski M., 1950. Sur l'origine de la Mouche de fruits (*Ceratitis capitata* Wied.). *C R Acad. Agric. Fr.*, 36, 259-362.
- De Meyer M., Copeland R.S., Lux S.A., Mansell M., Quilici, S., Wharton, R.A., White, I.M., Zenz N., 2002. Annotated checklist of host plants for Afrotropical fruit flies (Diptera: Tephritidae) of the genus *Ceratitis*. *Documentations Zoologiques, Musee Royal de l'Afrique Centrale* 27, 1-91.
- Dyck V.A., Hendrichs J., Robinson A.S., 2005. Sterile insect technique: principles and practice in area-wide integrated pest management. Springer, *The Netherlands*, 787 pp.
- FAO 2007. Guidance for Packing, Shipping, Holding and Release of Sterile Flies in Area-Wide Fruit Fly Control Programmes. FAO, Rome, Italy. Edited Enkerlin W., *Plant Production and Protection Paper* 190.
- FAO IAEA/USDA, 2014. Product Quality Control for Sterile Mass-Reared and Released Tephritid Fruit Flies. Version 6.0 International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria. 164 pp.
- Gutierrez A.P., Ponti L., 2011: Assessing the invasive potential of Mediterranean fruit fly in California and Italy. *Biol. Invasions*, 13, 2661-2676.
- Hendrichs J., Robinson A.S., Cayol J.P., Enkerlin W., 2002. Medfly areawide sterile insect technique programmes for prevention, suppression or eradication: the importance of mating behavior studies. *Florida Entomologist*, 85, 1-13.
- Liquido N.J., Cunningham R.T., Nakagawa S., 1990. Host plants of Mediterranean fruit-fly (Diptera, Tephritidae) on the island of Hawaii (1949-1985 Survey). *J. Econ. Entomol.* 83, 1863-1878.
- Malacrida, A.R., Gomulski, L.M., Bonizzoni, M., Bertin, S., Gasperi, G., Guglielmino, C.R., 2007. Globalization and fruit fly invasion and expansion: the medfly paradigm. *Genetica*, 131, 1-9.
- Martinez-Ferrer M.T., Campos J.M. Fibla J. M., 2012. Field efficacy of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) mass trapping technique on clementine groves in Spain. *J. Appl. Entomol.*, 136, 181-190.
- Navarro-Llopis V., Primo J., Vacas S., 2013. Efficacy of attract-and-kill devices for the control of *Ceratitis capitata*. *Pest Manag. Sci.*, 69, 478-482.
- Nikolouli K., Colinet H., Renault D., Enriquez T., Mouton L., Gibert P., Sassu F., Cáceres C., Stauffer C., Pereira, R., Bourtzis K., 2018. Sterile insect technique and Wolbachia symbiosis as potential tools for the control of the invasive species *Drosophila sukuzii*. *J. Pest Sci.*, 91, 489-503.
- Papadopoulos N.T., Katsoyannos B.I., Carey J.R., Kouloussis N.A., 2001. Seasonal and annual occurrence of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in northern Greece. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 94, 41-50.