

## VALUTAZIONE DI UN METODO SPERIMENTALE PER LA STIMA DELL'ATTIVITÀ INSETTICIDA SU INFESTAZIONI ARTIFICIALI DI *HALYOMORPHA HALYS* IN SEMICAMPO

M. PRETI<sup>1</sup>, M. LANDI<sup>1</sup>, E. BOMBARDINI<sup>1</sup>, C. MORETTI<sup>1</sup>, A. MASETTI<sup>2</sup>, E. PASQUALINI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Astra Innovazione e Sviluppo CdS, Via Tebano 45 - 48018 - Faenza (RA)

<sup>2</sup>DISTAL, Università di Bologna, Viale Fanin 42 - 40127 - Bologna  
michele.preti@astrainnovazione.it

### RIASSUNTO

Obiettivo del presente lavoro è stato la validazione di un approccio sperimentale utilizzato in Emilia-Romagna dal 2017 in prove di campo per valutare l'attività di prodotti insetticidi nei confronti della cimice asiatica *Halyomorpha halys*. È stato scelto un caso studio su actinidia, con tre sostanze attive autorizzate sulla coltura (piretro naturale, etofenprox e deltametrina), saggiando i prodotti su piante di actinidia infestate artificialmente con cimici asiatiche adulte, in tre diversi periodi, seguendo la dinamica delle infestazioni naturali negli actinidieti della zona. Dallo studio emergono differenze nelle attività dei prodotti che sono attribuibili soprattutto alle loro caratteristiche intrinseche e che forniscono pertanto una fotografia delle potenzialità insetticide nei confronti degli adulti. Questo metodo, con infestazioni artificiali, fornisce pertanto indicazioni complementari alle prove di pieno campo su infestazioni naturali, per una più dettagliata conoscenza delle modalità di azione delle sostanze attive saggiate e per progettare protocolli sperimentali adeguati.

**Parole chiave:** cimice asiatica, efficacia, actinidia, semicampo, mortalità

### SUMMARY

#### VALIDATION OF AN EXPERIMENTAL PROTOCOL TO EVALUATE THE EFFECT OF INSECTICIDES WITH AN ARTIFICIAL INFESTATION OF *HALYOMORPHA HALYS* IN SEMI-FIELD EXPERIMENTS

The aim of this study was the validation of an experimental approach used in Emilia-Romagna since 2017 in field trials to evaluate the activity of insecticides against the Brown Marmorated Stink Bug (BMSB), *Halyomorpha halys*. A case study on kiwi crop was chosen, with three active ingredients (natural pyrethrum, etofenprox and deltamethrin) authorized on the crop, testing the products on kiwi plants artificially infested with adult BMSBs, in three different periods following the dynamics of natural infestations in the kiwi orchards of the area. The study reveals differences in the activities of the insecticide products which are mainly due to their intrinsic characteristics, providing a snapshot of the insecticidal potential towards the adults of this target species. This method, with artificial infestations, therefore offers complementary indications to open field tests with natural infestations, for a more detailed knowledge of the mode of action of the tested active ingredients and for designing suitable experimental protocols.

**Keywords:** Brown Marmorated Stink Bug, efficacy, kiwifruit, semi-field, mortality

### INTRODUZIONE

La cimice asiatica *Halyomorpha halys* (Stål) (Rhynchota: Pentatomidae) è ad oggi il più importante fitomizo di interesse agrario a livello nazionale e non solo, per le notevoli perdite economiche che sta provocando nel comparto ortofrutticolo. Nel 2019, per il solo Nord Italia

le stime dei danni hanno largamente superato i 350 milioni di euro per pero, pesco e nettarino, a cui si aggiunge una perdita di oltre 486.000 giornate di lavoro (stime di fine settembre 2019, CSO - Centro Servizi Ortofrutticoli, 2019); se a questi si sommano gli importanti danni registrati nel comparto del melo e dell'actinidia, risulta evidente il potenziale distruttivo della cimice asiatica di un intero settore (la frutticoltura), con ricadute negative su tutta la filiera in senso lato.

A causa della sua elevata polifagia, mobilità, longevità, prolificità e adattabilità, *H. halys* sta ad oggi trovando un contesto favorevole per il suo sviluppo nei nostri ambienti. La difesa attiva con insetticidi è spesso poco performante (e comunque sotto le aspettative in termini di riduzione del danno), trovando una difficoltà intrinseca nei limiti oggettivi dei prodotti disponibili (efficacia, persistenza e selettività) e nelle caratteristiche etologiche dell'insetto, che tende a sfuggire agli interventi abbattenti, soprattutto allo stadio di adulto. Inoltre in questi ultimi tempi la disponibilità di sostanze attive efficaci sta subendo una forte limitazione (basta pensare alla messa al bando a livello Europeo di clorpirifos e clorpirifos-metile avvenuta ad inizio dicembre 2019). Pertanto, le poche molecole ancora a disposizione vanno meglio conosciute e sfruttate per trarne la massima efficacia ed efficienza di utilizzo, considerandone tutte le potenzialità e i limiti.

La sperimentazione sul controllo chimico è stata copiosa, soprattutto negli Stati Uniti (Kuhar e Kamminga, 2017), e tuttavia presenta evidenti limiti sull'interpretazione dei dati: le prove di laboratorio, rispetto a quelle di semicampo e campo, portano a risultati migliorativi per i prodotti saggiati e spesso in campo (situazione operativa ottimale, rappresentando la realtà) la mortalità e il danno non sono facilmente misurabili senza interferenze (in particolare per l'elevata mobilità dell'insetto e la distribuzione non uniforme della cimice nel sito di prova). A tal proposito, sulla falsariga dei protocolli di valutazione delle selettività su specie utili (Hassan, 1985), negli ultimi anni è stato messo a punto un protocollo operativo per le prove di campo, che permette di misurare nel breve periodo (24 h) la mortalità per contatto (effetto 'knock-down') in presenza di infestazioni naturali di cimice asiatica nei frutteti. Tale protocollo (Preti et al., 2018a) è stato proposto ed accettato anche come linea guida EPPO (EPPO PP1/313(1), 2019) per la valutazione degli insetticidi nei confronti di *H. halys* in pieno campo.

Il presente lavoro si è proposto di completare il protocollo sopraindicato, estendendo l'indagine alla valutazione dell'attività degli insetticidi in campo con infestazioni artificiali isolate in manicotti di rete, mettendone in luce pregi e difetti.

## MATERIALI E METODI

Come caso studio si è scelto di operare sulla combinazione *Actinidia deliciosa* - *H. halys*, al fine di leggere i dati ottenuti in questa sperimentazione con infestazione artificiale su una coltura di grande interesse e che, specialmente nell'ultimo biennio, sta registrando danni crescenti di cimice asiatica soprattutto verso fine stagione (in pre-raccolta), quando numerose altre colture già raccolte non sono più attrattive per mancanza di frutti e le popolazioni della cimice iniziano ad aggregarsi su actinidia prima dell'entrata in svernamento.

Tra la fine dell'estate e inizio autunno 2019, sono state realizzate tre prove di campo in un impianto commerciale di actinidia a polpa verde (cv Hayward) sito a Faenza (RA), utilizzando un disegno sperimentale a blocchi completamente randomizzati (RCB) con 10 ripetizioni/trattamento e 3 piante/parcella. L'actinidieto di 18 anni di età, sesto d'impianto 4,8 m x 2,5 m, irrigato a goccia, non presentava un'infestazione conclamata di *H. halys* ed è stato gestito secondo le linee tecniche dei Disciplinari di Produzione Integrata della Regione Emilia-Romagna, escludendo gli interventi con insetticidi durante tutto il periodo della prova per non interferire con lo studio.

L'infestazione artificiale è stata realizzata per ciascuna prova, confinando gruppi di insetti in gabbie di rete a maglia fine (2 mm), di forma cilindrica e dimensione 30 cm di lunghezza e 15 cm di diametro. Ciascun manicotto costituiva una replica e conteneva 10 adulti di *H. halys* e almeno 5 frutti e 2 foglie di actinidia. Pertanto in ciascuna prova sono stati saggiati 100 adulti di cimice per trattamento. Gli insetti sono stati raccolti in un campo di soia non trattato durante lo stesso periodo delle prove, pertanto erano di età e stato fisiologico sconosciuti, ma rappresentavano quanto presente in quel territorio durante il momento stagionale in cui sono state realizzate le prove. Questo sistema controllato, esponendo ad un trattamento insetti selvatici in ambiente confinato, permette di garantire un'uniformità di infestazione, utilizzando una popolazione rappresentativa di quanto presente in natura.

Il singolo trattamento sperimentale, con i formulati a confronto, è stato realizzato con un nebulizzatore spalleggiato e motorizzato (modello Stihl SR 420), distribuendo un volume simulato di bagnatura di 1000 L/ha. Gli insetti sono stati inseriti nei manicotti di rete prima dell'applicazione sperimentale, pertanto hanno ricevuto il trattamento insetticida attraverso la rete. I trattamenti in prova sono riportati in tabella 1. Tre rilievi efficacia sono stati realizzati a 1, 3 e 7 giorni dall'applicazione sperimentale, rilevando la mortalità degli insetti in ciascun manicotto. Le tempistiche delle tre prove sono riportate in tabella 2. Le prove sono state realizzate in zone contigue ma non sovrapposte dello stesso impianto di actinidia.

I dati di mortalità sono stati elaborati con un modello generalizzato lineare misto (GLMM) caratterizzato da distribuzione dell'errore binomiale e funzione di collegamento probit. Le tesi a confronto (testimone non trattato, piretro naturale, etofenprox e deltametrina) sono state incluse come fattore fisso, gli intervalli di esposizione come misura ripetuta e le tre repliche nel tempo come fattore random. Per la separazione delle tesi è stata impiegata la correzione sequenziale di Bonferroni ( $p < 0,05$ ). L'analisi dei dati è stata eseguita con il software IBM SPSS Statistics ver 23.0.

Tabella 1. Tesi a confronto nelle tre prove di campo 2019 su actinidia

Tesi a confronto	Formulazione	Sostanza attiva (concentrazione)	Dose del formulato commerciale
Testimone non trattato	-	acqua	-
Asset	EL	piretrine pure (35,6 g/L)	100 mL / 100 L
Trebon Up	EL	etofenprox (287,5 g/L)	750 mL / ha
Decis Evo	EW	deltametrina (25 g/L)	50 mL / 100 L

Tabella 2. Tempistiche di applicazione e rilievi nelle tre prove di campo 2019 su actinidia

Prova	Data trattamento (T)	Rilievo T + 1 gg	Rilievo T + 3 gg	Rilievo T + 7 gg
1	12/9	13/9	15/9	19/9
2	18/9	19/9	21/9	25/9
3	26/9	27/9	29/9	3/10

## RISULTATI E DISCUSSIONE

I risultati sull'attività dei prodotti in prova sono riportati in tabella 3 e figura 1. La mortalità delle cimici rilevata dentro i manicotti di rete ha in parte confermato quanto osservato in prove abbattenti di campo realizzate con i teli sistemati sotto le piante trattate (Preti et al., 2018b) e in parte si discosta dai dati di campo di altre prove (Pasqualini et al., 2016). Le ragioni possono essere molteplici e di seguito dettagliate.

a) Il momento stagionale in cui si realizza la prova influisce sul risultato in termini di mortalità. In pieno campo una ridotta attività dei prodotti insetticidi a fine stagione è nota (Leskey et al., 2014) e confermata anche nel nostro ambiente, ad esempio per i piretroidi nei confronti degli adulti di cimice presenti a fine estate (Preti et al., 2018b). Infatti, gli adulti usciti dallo svernamento a inizio primavera sono maggiormente sensibili ai trattamenti insetticidi rispetto agli adulti prossimi all'entrata in svernamento ad inizio autunno. Pertanto, una prova realizzata a metà stagione potrà dare risultati differenti da una prova di inizio o fine stagione. Allo stesso modo si può leggere la potenziale performance degli interventi aziendali in pieno campo durante la stagione.

b) Lo stadio di sviluppo dell'insetto con il quale si opera contribuisce in modo determinante sull'attività delle sostanze attive saggiate. Infatti, vi sono diverse evidenze sperimentali, anche in ambito italiano, che neanidi e ninfe sono molto più sensibili degli adulti (Nannini et al., 2016) e anche tra gli stadi pre-immaginali c'è una maggior sensibilità di quelli più giovani (Preti et al., 2018a). Pertanto, oltre ad essere preferibile tener separate le mortalità di giovani e adulti di *H. halys*, è sempre da considerare su quale stadio è stato ottenuto il dato di mortalità. Analogamente, se l'agricoltore si trova di fronte ad una popolazione maggiormente rappresentata da stadi giovanili, l'intervento insetticida avrà una maggior probabilità di successo in termini di abbattimento della popolazione.

c) La coltura in cui si opera può influire sul risultato di un trattamento insetticida. Infatti, la forma di allevamento, la struttura della chioma, la vigoria della pianta ed il rigoglio vegetativo, lo stadio fenologico sono tutti parametri che vanno ad influire sulla bagnatura. Operando principalmente con prodotti attivi per contatto, è quindi fondamentale garantire una buona bagnatura dell'intera chioma. A livello sperimentale, così come in campagna per gli agricoltori, è pertanto indispensabile considerare gli aspetti inerenti le tecniche di applicazione per una corretta bagnatura funzione delle caratteristiche specifiche della coltura da trattare.

Le indagini sperimentali utilizzando infestazioni artificiali (cioè confinando le cimici nei manicotti di rete) portano a vantaggi e svantaggi rispetto allo sfruttare le infestazioni naturali in campo per raccogliere dati di mortalità (rilevabili ad esempio su insetti caduti in teli o reti posizionate sotto le piante trattate). In particolare, gli aspetti da considerare sono:

1) Esposizione continuativa e prolungata al prodotto: gli insetti confinati in gabbia sono esposti al prodotto in fase di applicazione topica (durante il trattamento sperimentale) e quindi al residuo del prodotto presente sulla coltura (foglie e frutti trattati contenuti nel manicotto di rete) e sulla superficie della gabbia (la rete, in funzione del materiale, può essere più o meno assorbente) durante tutto il periodo post-applicazione. Verosimilmente in natura, le cimici essendo libere di muoversi possono allontanarsi dalla coltura trattata, o rifugiarsi in aree o luoghi non trattati, e quindi ridurre i tempi di esposizione. Pertanto si ritiene che il metodo delle infestazioni artificiali fornisca un dato molto utile per un confronto fra prodotti, ma con carattere non assoluto rispetto alle prestazioni del campo.

2) Comportamento del prodotto dentro al manicotto di rete: in funzione del meccanismo d'azione, ma anche e soprattutto di alcune basilari caratteristiche fisico-chimiche del prodotto in questione (tensione di vapore, coefficiente di ripartizione ottanolo/acqua e solubilità in acqua) all'interno di un ambiente confinato come una gabbia di rete a maglia stretta il

microclima (temperatura, umidità relativa, luminosità) è diverso rispetto al pieno campo e ciò può implicare potenzialmente una risposta differente alla sostanza attiva.

3) Possibilità di manipolare le variabili in gioco e quindi considerare nel disegno sperimentale anche aspetti altrimenti ignoti: con le infestazioni artificiali di cimice asiatica confinata in gabbie di rete è possibile esporre per tempi più o meno prolungati i frutti ad un numero noto di cimici (potendo considerare anche gli stadi di sviluppo come variabile), leggendo ad esempio oltre agli effetti sulla mortalità acuta (contatto topico) e residuale (per camminamento sulle superfici trattate), anche gli effetti sul danno ai frutti (come la tipologia dei danni di diversi stadi, Nielsen e Hamilton, 2009). Allo stesso modo è possibile ricreare artificialmente infestazioni su colture dove la presenza può essere bassa, disforme o tardiva, per studiare specifici fenomeni durante diversi momenti stagionali.

4) Costanza e consistenza della popolazione di cimice asiatica in studio: la variabilità presente nelle infestazioni naturali di campo spesso porta ad avere repliche non confrontabili o peggio non elaborabili a causa del numero ridotto o disforme di cimici in prova (le cimici sono libere di spostarsi) e ciò pone dei limiti oggettivi alla sperimentazione (in termini di tesi confrontabili e repliche possibili). Al contrario in condizioni artificiali le potenzialità sperimentali sono maggiori, potendo idealmente confrontare decine di tesi a parità di condizione (tenendo in considerazione che la consistenza del dato è sempre funzione del numero di repliche e della dimensione di ogni singola replica, soprattutto se si opera utilizzando individui raccolti in natura e non allevati, di cui non si conosce il pregresso).

5) Possibilità di raccolta di dati sul comportamento, come per esempio l'attività alimentare misurata attraverso le punture sui frutti e la durata dell'eventuale effetto di inibizione dell'alimentazione.

6) Possibilità di studio di eventuali effetti sugli accoppiamenti, mobilità, fecondità e fertilità, durata della vita a partire da individui (coppie) coetanee.

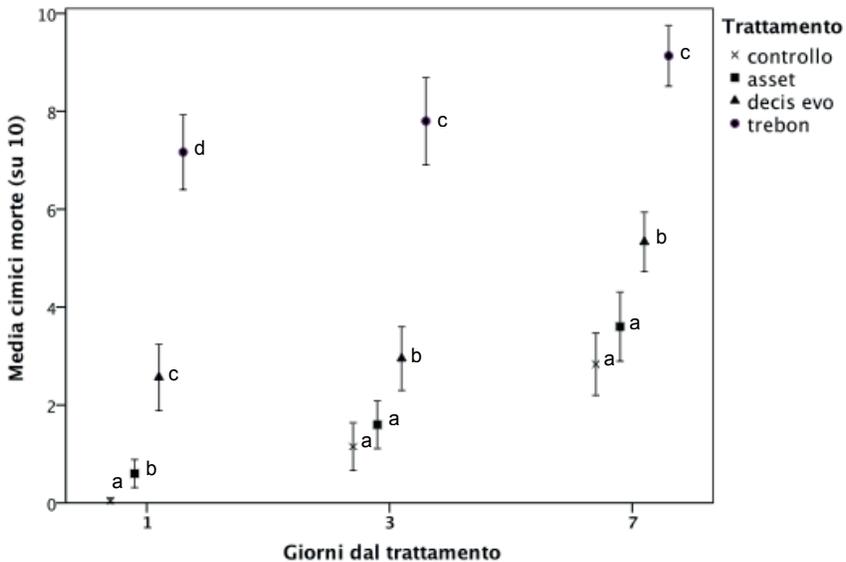
Tabella 3. Dati di mortalità media ( $\pm$  errore standard) nelle tre prove di campo 2019

Prova	Tesi	Mortalità media (%) $\pm$ SE		
		T + 1 gg	T + 3 gg	T + 7 gg
1	Testimone non trattato	1 $\pm$ 1	9 $\pm$ 2,8	38 $\pm$ 3,6
	Piretrine pure	2 $\pm$ 1,3	15 $\pm$ 3,7	36 $\pm$ 4
	Etofenprox	77 $\pm$ 4	92 $\pm$ 2,9	94 $\pm$ 2,2
	Deltametrina	12 $\pm$ 2,9	28 $\pm$ 3,9	47 $\pm$ 5,2
2	Testimone non trattato	0 $\pm$ 0	n.d.	10 $\pm$ 3,3
	Piretrine pure	8 $\pm$ 2,5	n.d.	20 $\pm$ 3,3
	Etofenprox	88 $\pm$ 3,9	n.d.	99 $\pm$ 1
	Deltametrina	45 $\pm$ 5,2	n.d.	62 $\pm$ 5,5
3	Testimone non trattato	0 $\pm$ 0	14 $\pm$ 3,7	37 $\pm$ 3,7
	Piretrine pure	8 $\pm$ 2,9	17 $\pm$ 3	52 $\pm$ 5,5
	Etofenprox	50 $\pm$ 4,5	64 $\pm$ 5	81 $\pm$ 8
	Deltametrina	20 $\pm$ 2,1	31 $\pm$ 5	51 $\pm$ 3,8

I dati raccolti mettono in evidenza la maggiore attività di etofenprox nel sistema sperimentale proposto, in parziale disaccordo con quanto osservato in altre esperienze riportate in letteratura (Lee et al., 2013; Kuhar e Kamminga, 2017) e in una precedente prova di campo

(Pasqualini et al., 2016a). Le differenti proprietà dei prodotti nelle condizioni sperimentali adottate, ossia all'interno di ambienti sostanzialmente 'chiusi' (cioè nei manicotti di rete) hanno probabilmente avuto un ruolo determinante. Per esempio la minore solubilità in acqua (0,0002 mg/L a 20°C) e il minor coefficiente di ripartizione ottanolo-acqua ( $\log p$  4,6 octanol-water partition coefficient a pH 7 e 20°C) di deltametrina rispetto ad etofenprox (0,0225 mg/L a 20°C e  $\log p$  6,9) conferiscono a quest'ultimo una maggiore prontezza di azione ed efficacia, che però nel tempo cresce meno del confronto. Inoltre la minore tensione di vapore (volatilità) di deltametrina (vapor pressure a 25°C = 0,0000124 mPa) rispetto a quella di etofenprox (0,0000813 mPa a 25°C) (PPDB, 2019) potrebbe avere avuto un ruolo importante nel dispositivo sperimentale adottato.

Figura 1. Mortalità di adulti di *H. halys* in funzione dell'insetticida e del tempo di esposizione degli insetti all'interno dei manicotti. Le barre verticali rappresentano l'errore standard della media. Nell'ambito di uno stesso intervallo di esposizione, a lettere diverse corrispondono differenze significative ( $p < 0,05$ ), come rilevato dal modello generalizzato lineare seguito da comparazione multipla delle medie con aggiustamento sequenziale di Bonferroni



### CONCLUSIONI

La metodologia adottata rappresenta una concreta procedura per la valutazione di prodotti abbattenti, utilizzabile per tutti gli stadi della cimice asiatica *H. halys*. Essa produce informazioni molto utili per la valutazione dell'attività dei prodotti in condizioni semplificate di semicampo. Con questo tipo di esperimento pertanto si possono costruire classifiche di attività abbattente dei prodotti. Per una valutazione complessiva ovviamente devono essere organizzate prove di campo multiple (vedi procedura EPPO PPI/313(1), 2019) allo scopo di misurare gli scostamenti attesi ed eventualmente le ripercussioni in termini di danni. Pertanto, è auspicabile che prove di semicampo (con ad esempio infestazioni artificiali) e di campo (in presenza di infestazioni naturali) siano realizzate in forma complementare, al fine di avere un

quadro completo delle potenzialità del prodotto insetticida saggiato, considerando tutti i vantaggi e limiti dei due protocolli proposti.

I risultati ottenuti in questo studio con le prove di semicampo utilizzando un'infestazione artificiale in maniccotti di rete mettono in luce la più elevata attività e prontezza di azione (effetto 'knock-down') di etofenprox rispetto al piretro naturale e alla deltametrina. La mortalità degli adulti confinati può raggiungere livelli elevati nel tempo, ma va sottolineato che l'arena sperimentale è un ambiente segregato e trattato in tutte le sue parti, dentro il quale le cimici non hanno alcuna possibilità di sfuggire alla contaminazione.

#### LAVORI CITATI

- CSO - Centro Servizi Ortofrutticoli, 2019. [www.csoservizi.com](http://www.csoservizi.com) (data ultima consultazione: 18/12/2019).
- EPPO PP1/313(1), 2019. *Halyomorpha halys* on fruit tree crops. <https://pp1.eppo.int/standards/PP1-313-1> (ultima consultazione: 21/12/2019).
- Hassan S. A., 1985. Standard methods to test the side-effects of pesticides on natural enemies of insects and mites developed by IOBC/WPRS Working Group "Pesticides and beneficial organisms". *Bull. OEPP/EPPO*, 15, 214-255.
- Kuhar T.P., Kamminga K., 2017. Review of the chemical control research on *Halyomorpha halys* in the USA. *J. Pest Sci.*, 90, 1021-1031. doi:10.1007/s10340-017-0859-7
- Lee D.H., Short B.D., Joseph S.V., Bergh J.C., Leskey T.C., 2013. Review of the biology, ecology, and management of *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Pentatomidae) in China, Japan, and the Republic of Korea. *Environ Entomol.*, 42, 627-641
- Leskey T.C., Short B.D., Lee D.H., 2014. Efficacy of insecticide residues on adult *Halyomorpha halys* (Stål) (Hemiptera: Pentatomidae) mortality and injury in apple and peach orchards. *Pest Manag. Sci.*, 70, 1097-1104. DOI 10.1002/ps.3653
- Nannini R., Bortolotti P.P., Casoli L., Boselli M., 2016. Prime indagini sull'attività di alcuni insetticidi e strategie di difesa nei confronti di *Halyomorpha halys*. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 1, 179-190.
- Nielsen A. L., Hamilton, G. C., 2009. Seasonal occurrence and impact of *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Pentatomidae) in tree fruit. *J. Econ. Entomol.*, 102(3): 1133-1140
- Pasqualini E., Scannavini M., Preti M., Depalo L., Masetti A., 2016. Attività di insetticidi su *Halyomorpha halys* (Stål) nel breve periodo in pieno campo, in Emilia-Romagna, nel 2015. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 1, 191-198.
- Preti M., Montanari M., Miroseovich L., Masetti A., Pasqualini E., 2018a. Validazione di un protocollo sperimentale per valutare l'effetto abbattente di insetticidi nei confronti di *Halyomorpha halys* in prove di pieno campo. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 1, 383-394.
- Preti M., Montanari M., Landi M., Cavazza F., Franceschelli F., Miroseovich L., Nannini R., Bortolotti P.P., 2018b. Screening di pieno campo e laboratorio dell'efficacia insetticida di diversi piretroidi nei confronti di *Halyomorpha halys* in Emilia-Romagna. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 1, 403-414.
- PPDB, 2019. Plant Protection Database, Hertfordshire University, UK, Sito web: <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/atoz.htm> (data ultima consultazione: 21/12/2019).

