

**EFFETTI DEL TRATTAMENTO A FREDDO DI MELE DESTINATE  
ALL'ESPORTAZIONE SULLO SVILUPPO E SULLA SOPRAVVIVENZA  
DI *DROSOPHILA SUZUKII***

S. G. CHIESA, M. SOFIA, G. ANGELI

Fondazione Edmund Mach - Centro Trasferimento Tecnologico - Via E. Mach 1  
38010 San Michele a/A. (TN)  
serena.chiesa@fmach.it

**RIASSUNTO**

Il trattamento a freddo delle produzioni agrarie destinate all'esportazione è un metodo fitosanitario di quarantena ufficiale per eliminare, inattivare o rimuovere i fitofagi. Relativamente al rischio di infestazioni da *Drosophila suzukii* di partite di mele destinate all'esportazione mancano informazioni specifiche, seppure alcuni Paesi importatori extraeuropei ne richiedano evidenze scientifiche. Gli effetti della conservazione frigorifera post-raccolta su uova e larve di *D. suzukii* immature sono stati valutati in prove di laboratorio su mele di diverse cv. (Royal Gala, Golden Delicious e Fuji) e su prugne (Susina di Drò). In camera climatica i ditteri sono rimasti in contatto con le mele per due giorni, per consentire la deposizione delle uova. Successivamente, ciascun campione di frutti è stato diviso in due parti e mantenuto come segue: una metà è stata conservata in un incubatore per 21 giorni e l'altra metà è stata conservata in cella frigorifera a 2°C per 21 giorni e poi in incubatore per altri 21 giorni. Il saggio è stato condotto sia su frutta integra che su frutta danneggiata. La conservazione a freddo a 2 °C per 21 giorni è risultato un trattamento adeguato per inattivare gli stadi delle uova e delle larve di *D. suzukii* nelle tre varietà di mele saggiate ed è idoneo per prevenire la comparsa di nuove generazioni.

**Parole chiave:** frigoconservazione, uova, larve

**SUMMARY**

EFFECTS OF POSTHARVEST COLD STORAGE ON THE DEVELOPMENT AND SURVIVAL OF *DROSOPHILA SUZUKII* ON STORED APPLE

Adults of *Drosophila suzukii* were kept in contact in climatic chamber with samples of apple (*Royal Gala*, *Golden Delicious* and *Fuji*) and plum (*Susina di Drò*) for two days to allow egg-laying. After removing the adults, each sample of fruits was then divided into two groups: one group was stored in an incubator at room temperature (25±1°C, 75% RH and 17:7 h photoperiod) for 21 days and the other group was stored in a cold chamber (2°C for 21 days). The test was carried out both on whole fruits and on damaged fruits. No eggs of *D. suzukii* were laid on healthy apple fruits, independently of the apple variety. On the contrary, the oviposition of *D. suzukii* took place on samples where the peel was previously removed and the pulp exposed. A new generation of *D. suzukii* adults emerged on the fruits stored at room temperature (25 °C) (1.56, 1.40 and 0.04 adults/apple respectively for cv. Royal Gala, Golden Delicious and Fuji). These values are comparable with the reference plum (1.46 adults/fruit). However, no *D. suzukii* adults emerged from apple samples stored in cold chamber. In conclusion, cold storage at 2 °C for 21 days is an effective treatment to kill eggs and larvae stages of *D. suzukii* in the three tested apple varieties, and is suitable for preventing the emergence of new generations of *D. suzukii*.

**Keywords:** eggs, larvae, export apples

## INTRODUZIONE

Il trattamento a freddo è un metodo ufficiale di quarantena fitosanitaria per l'uccisione, l'inattivazione o la rimozione di parassiti (FAO 2009). Questo metodo è efficace e ampiamente utilizzato per molti fitofagi perché la freschezza di molti prodotti ortofrutticoli viene garantito da regimi di basse temperature e l'inattivazione di eventuali fitofagi può essere applicato sia durante la conservazione della merce in cella frigorifera sia dopo l'imballaggio del prodotto destinato all'esportazione, che preveda tempi di transito relativamente lunghi (Heather e Hallman, 2008).

Kanzawa (1939) mostrò per la prima volta che larve e uova di *Drosophila suzukii* (Matsumura) presenti su ciliegie vengono devitalizzate se mantenute a 1,7-2,2 °C per almeno 96 ore, senza effetti negativi sulla qualità della frutta. Aly et al. (2017) su campioni di mirtillo ha valutato gli effetti di una temperatura di conservazione a freddo post-raccolta di 1,67 °C e una durata di esposizione di 72 ore su *D. suzukii*, rilevando la completa devitalizzazione di uova, mentre era ridotta del 41% la sopravvivenza di larve di terzo stadio.

Questi e altri studi più recenti, richiesti da molti Paesi importatori di ortofrutticoli, evidenziano una diversificata tolleranza termica di *D. suzukii*, intesa come grado di sopravvivenza e ambienti di svernamento (Kinjo et al. 2014; Tochen et al. 2014; Ryan et al. 2016; Aly et al. 2017). Relativamente alle mele l'Italia ha avviato diverse procedure di esportazione verso paesi asiatici e del nord America. In alcuni di questi paesi il danno *D. suzukii* alle colture è trascurabile pertanto il livello di attenzione adottato dagli organi di controllo per scongiurare l'introduzione con mele importate è categorizzato alto.

Pertanto, l'obiettivo di questo studio è stato di definire una linea guida per temperature post-raccolta a freddo e periodi di esposizione di alcune varietà di mele, necessari ad assicurare la completa mortalità degli stadi immaturi (uova e larve) della *D. suzukii*.

## MATERIALI E METODI

### Insetti

Gli individui di *D. suzukii* utilizzati appartenevano a una popolazione allevata presso il laboratorio entomologico della Fondazione Edmund Mach, Unità Protezione delle Piante Agroforestali e Apicoltura, la cui origine era una popolazione naturale raccolta da piccoli frutti (lamponi) e regolarmente rinsanguata.

### Saggio di laboratorio

Campioni di 50 mele delle tre varietà Royal gala, Golden delicious e Fuji oltre a un campione di susina (*Susina di Drò*) utilizzata come tesi di riferimento, sono stati posti a contatto con individui adulti del drosofilide. I frutti sono stati collocati singolarmente in contenitori areati, nei quali sono stati inseriti 5 insetti per gabbia (3 femmine e 2 maschi) di età tra i 7 e i 14 giorni e forniti di una soluzione acqua e miele (10%) quale alimento; poste in camera climatica, con regime controllato di umidità, temperatura e fotoperiodo (24 °C, RH 70% e fotoperiodo 8:16). I ditteri sono rimasti a contatto con le mele per 48 ore per la deposizione delle uova, successivamente gli insetti sono stati rimossi, previa valutazione della vitalità. Successivamente, ciascun campione di frutta è stato diviso in due gruppi uniformi e mantenuti come segue: uno conservato in un incubatore (25 ± 1 °C, 75% di umidità relativa e 17:7 ore di fotoperiodo luce/buio) per 21 giorni; l'altro conservato in una camera di conservazione a freddo a 2 °C con atmosfera normale per 21 giorni e a seguire in un'incubatrice a 25 ± 1 °C per successivi 21 giorni. Per ciascuna varietà di mele i test hanno considerato separatamente una tesi con frutta integra e una tesi con frutta danneggiata; questi

ultimi erano costituiti da frutta manipolata, con porzioni di polpa esposta, ottenuta rimuovendo con bisturi la buccia per un'area di 2,0 cm di diametro. Campioni di 30 frutti utilizzati nei test sono stati analizzati per valutarne la durezza e i gradi Brix. I dati di mortalità degli adulti, ovodeposizione, durezza e gradi Brix sono stati analizzati mediante Anova e successivo test di Tukey ( $p < 0,05$ ) (software utilizzato Statistica ver.13).

## RISULTATI

### Mortalità degli adulti

La mortalità degli adulti di *D. suzukii* alla fine del periodo di infestazione di 48 ore è stata riportata in tabella 1. I valori di mortalità totale sono compresi nell'intervallo 1,6-16,8%, mentre la mortalità delle femmine è compresa tra il 2,7 e il 16%.

Tabella 1. Frutti, trattamento subito (rimozione della buccia o meno; conservazione al freddo o no e mortalità (%) di *D. suzukii* al termine del periodo di infestazione

Frutto	Tesi	Frutta sana/danneggiata	Frigo-conservazione	N° frutti	N° insetti	♀ + ♂ mortalità (%)	♀ mortalità (%)
Mela Gala	1	sana	no	50	254	6,3 a*	4,6
	2	danneggiata	no	50	250	6,8 a	9,4
	3	sana	si	50	250	10,8 a	13,6
	4	danneggiata	si	50	252	6,3 a	7,2
Mela Golden	1	sana	no	50	250	16,4 c	10,7
	2	danneggiata	no	25	123	11,4 a	16
	3	sana	si	50	250	16,8 bc	12
	4	danneggiata	si	25	125	4,8 a	5,3
Mela Fuji	1	sana	no	50	251	10,4 ab	9,9
	2	danneggiata	no	50	248	5,6 a	6,8
	3	sana	si	50	249	6,4 a	6,8
	4	danneggiata	si	50	250	1,6 a	2,7
Susina di Drò	1	sana	no	50	245	3,7 a	4,7
	3	sana	si	50	253	4,7 a	4,6

\* I valori della stessa colonna seguiti da lettere diverse evidenziano differenze statisticamente significative. Test di Tukey,  $p < 0,05$

### Deposizione uova

L'ovideposizione di *D. suzukii* è stata osservata sulle tre varietà di mele solo nei campioni danneggiati (quelli che presentavano una porzione di polpa esposta); l'area interessata alla ovideposizione era l'area danneggiata. Non sono mai state riscontrate uova sulle mele sane. Relativamente alla prugna, le uova sono state deposte su frutta sana, tuttavia per la maggior parte interessava le porzioni danneggiate della buccia (> 90%) o nell'area del picciolo quando questo era stato rimosso (tabella 2).

Tabella 2. Deposizione di uova su frutto delle diverse varietà di mele e di susina, su campioni di frutta sana o appositamente danneggiata

Frutto	Tesi	Frutta sana/danneggiata	N° uova deposte	N° uova/frutto
Mela Gala	1-3	sana	0	0 a*
	2-4	danneggiata	199 *	7,96 b
Mela Golden	1-3	sana	0	0 a
	2-4	danneggiata	475 *	19 c
Mela Fuji	1-3	sana	0	0 a
	2-4	danneggiata	1027 **	20,54 c
Susina di Drò	1-3	sana	69 *	2,76 ab

\* I valori della stessa colonna seguiti da lettere diverse evidenziano differenze statisticamente significative. Test di Tukey,  $p < 0,05$ . \* Somma di 25 frutti -\*\* Somma di 50 frutti

### Nuova generazione adulti

Adulti di nuova generazione (F1) sono emersi esclusivamente da campioni di mele danneggiate e non sottoposte a frigoconservazione (1,56 adulti/frutto Gala; 1,40 adulti/frutto Golden; 0,04 adulti/frutto Fuji) oltre che sui campioni di Susina di Drò (1,46 adulti/frutto). Dai campioni posti a frigoconservazione per 21 giorni a 2°C non è emerso alcun individuo, indipendentemente dalla varietà considerata o dalla sanità dei frutti (tabella 3).

Tabella 3. Adulti di *D. suzukii* di nuova generazione (F1) sviluppatasi (adulti/frutto) nelle diverse tesi esaminate

Frutto	Tesi	Frutta sana/danneggiata	Frigo-cons.	Totale nuovi adulti (F1)			Adulti F1/frutto
				♂	♀	♀ + ♂	
Mela Gala	1	sana	no	0	0	0	0
	2	danneggiata	no	36	42	78 **	1,56
	3	sana	si	0	0	0	0
	4	danneggiata	si	0	0	0	0
Mela Golden	1	sana	no	0	0	0	0
	2	danneggiata	no	10	25	35 *	1,4
	3	sana	si	0	0	0	0
	4	danneggiata	si	0	0	0	0
Mela Fuji	1	sana	no	0	0	0	0
	2	danneggiata	no	1	1	2 **	0,04
	3	sana	si	0	0	0	0
	4	danneggiata	si	0	0	0	0
Susina di Drò	1	sana	no	34	39	73**	1,46
	3	sana	si	0	0	0	0

\* Somma di 25 frutti -\*\* Somma di 50 frutti

### Durezza e gradi Brix

Su un campione di frutti sono stati valutati la durezza e i gradi Brix. I valori, riportati in tabella 4, sono la media di 30 frutti. I valori rientrano negli intervalli considerati normali per la commercializzazione delle diverse varietà.

Tabella 4. Durezza e gradi Brix registrati sui frutti

Frutti	Durezza (kg/cm <sup>2</sup> )	Brix (°)
Mela Gala	6,7 a	12,3 ab
Mela Golden	6,6 a	11,9 a
Mela Fuji	8 b	12,7 b
Susina di Drò	-	15,2 c

I valori per colonna seguiti da lettere diverse evidenziano differenze statisticamente significative. Test di Tukey,  $p < 0,05$

### DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

La mortalità di adulti di *D. suzukii* utilizzati per l'infestazione di tre varietà di mele e in particolare delle femmine (2,7-16,0%), dopo una permanenza di 48 ore, è rimasta entro un intervallo limitato in tutte le tesi e per tutte le varietà saggiate. Questo ha fatto supporre che l'infestazione delle tre varietà di mele fosse potenzialmente possibile.

Col prosieguo dell'indagine è emerso che non vengono deposte uova di *D. suzukii* su frutti integri di mele Gala, Golden e Fuji. Al contrario, l'ovideposizione è avvenuta sulla frutta laddove la buccia era stata precedentemente rimossa, esponendo la polpa all'infestazione, l'unica porzione della mela nella quale erano rilevabili uova. Anche sui frutti di susino le uova erano deposte per lo più su ferite (> 90%) o nell'area del picciolo, quando era rimosso.

La successiva conservazione a freddo a 2 °C per 21 giorni è risultata un regime di mantenimento idoneo per eliminare gli stadi di uova e delle larve di *D. suzukii* delle tre varietà di mele e pertanto per prevenire la comparsa di nuove generazioni. I parametri saggiati rappresentano i regimi generalmente adottati nella medio-lunga conservazione in cella delle mele (6-12 mesi), ma anche durante il loro trasporto per l'esportazione. Risultati simili sono stati ottenuti per la Susina di Drò, una varietà sensibile agli attacchi e utilizzata come tesi di riferimento.

Queste indicazioni tecniche si allineano a precedenti indagini di gestione di *D. suzukii*, realizzate sia su dieta artificiale che su piccoli frutti (Aly et al., 2017) e similmente ai test (Hansen et al., 2007) applicati a *Cydia pomonella* su mela. Si avvalora pertanto l'ipotesi che adottando questo specifico regime di conservazione a freddo basti per scongiurare il rischio di trasporto del fitofago nelle mele destinate all'esportazione.

### Ringraziamenti

Si ringraziano ASSOMELA (Associazione Italiana Produttori di mele) e APOT (Associazione Produttori Ortofrutticoli Trentini) per aver finanziato la sperimentazione.

### LAVORI CITATI

- Aly M.F.K., Kraus D.A., Burrack H.J., 2017. Effects of postharvest Cold Storage on the Development and survival of Immature *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) in artificial Diet and Fruit. *Journal of Economic Entomology*, 110, 1 , 87-93.
- FAO Food and Agriculture Organization, 2009. ISPM no. 5 glossary of phytosanitary terms. FAO, Rome.
- Hansen J.D., Watkins M.A., Heidt M.L., Anderson P.A., 2007. Cold storage to control codling moth larvae in fresh apples. *HortTechnology* 17, 2, 195-198.
- Heather N.W., Hallman G.J., 2008. Chapter 4 Managing risk of pest introduction, establishment and spread in a changing world. *In: Pest management and phytosanitary trade barriers*, 27-47.
- Kanzawa T., 1939. Studies on *Drosophila suzukii* Mats. Kofu. *Review of Applied Entomology*, 29, 622.
- Kinjo H., Kunimi Y., Nakai M., 2014. Effects of temperature on the reproduction and development of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Applied Entomology and Zoology*, 49, 2, 297-304.
- Ryan G.D., Emiljanowicz L., Wilkinson F., Kornya M., Newman A., 2016. Thermal tolerances of the spotted-wing *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Journal of Economic Entomology*, 109, 746-752.
- Tochen S., Dalton D.T., Wiman N., Hamm C., Shearer P.W., Walton V.M., 2014. Temperature-Related Development and Population Parameters for *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) on Cherry and Blueberry. *Environmental Entomology*, 43, 2, 501-510.