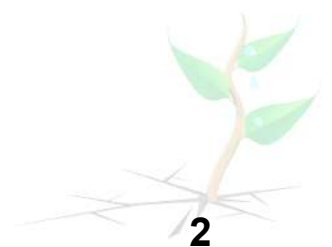


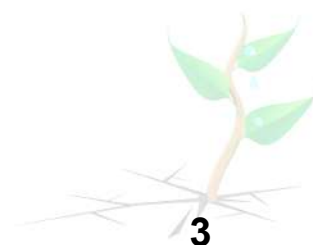
# BIOPESTICIDI: LA DIFESA FITOSANITARIA VERDE



**ATTIVITA' REALIZZATA CON IL CONTRIBUTO DEL PROGRAMMA DI SVILUPPO RURALE  
DELLA REGIONE MARCHE 2014/2020 - MISURA 16.1 PROGETTO ID 52087**



## Biopesticidi: la difesa fitosanitaria verde



## Premessa

La sostenibilità in agricoltura è necessità indispensabile che richiede di associare le richieste di produzioni qualitativamente e quantitativamente elevate e quelle di tutela dell'ambiente.

Per raggiungere siffatti obiettivi sarà necessario un oneroso sforzo innovativo in settori diversificati. Fra essi, quello dei Biostimolanti è gradualmente cresciuto di importanza entrando in strategie agronomiche sempre più rispettose dell'ambiente.

Gli studi su prodotti in grado di agire in vario modo sulla crescita delle colture stanno ottenendo esiti sorprendenti . Da questi sta emergendo la capacità di migliorare la abilità delle piante di utilizzare l'acqua e i nutrienti oltre ad aumentare la resistenza agli stress abiotici. Non è però previsto alcun effetto, diretto o indiretto sulle avversità biotiche.

L'azione antiparassitaria è invece riconosciuta a prodotti che la normativa attuale comprende fra i Coadiuvanti.

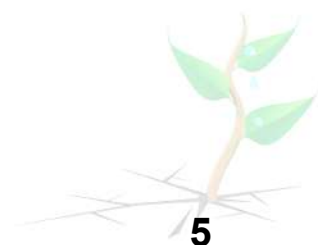
Ben nota è, invece, l'efficacia di diversi preparati che rientrano tra gli Agrofarmaci a base microbica il cui elenco è in continuo accrescimento.

Con questo studio vogliamo coadiuvare la nuova conoscenza di Agrofarmaci a base microbica, Coadiuvanti e Biostimolanti con la finalità di evidenziare i progressi che la ricerca scientifica sta ottenendo in questo complesso settore che prevede il implicazione di varie discipline e determina anche l'individuazione di metodi affidabili e rigorosi per la valutazione dei risultati finali.



Particolare interesse sarà posto a cogliere le possibilità di avvalorare l'impiego dei mezzi tecnici innovativi disponibili in strategie di produzione e di protezione antiparassitaria, ad supplemento o in sostituzione di mezzi di difesa più convenzionali.

L'esame critico della normativa attuale consentirà di chiarire limiti e possibilità di applicazione di prodotti con modalità d'azione complessa e di difficile classificazione.



## **PARTE PRIMA**

### **BIOSTIMOLANTI e AGROFARMACI A BASE MICROBICA :**

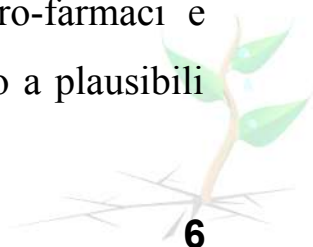
#### **ASPETTI EMERGENTI**

Nell'ambito di un'agricoltura in prospettiva fortemente dinamica (da tradizionale a convenzionale, integrata, biologica, organica, conservativa, rigenerativa) gli agro-farmaci a base di microorganismi, insieme ai semio-chimici ed estratti vegetali, occupano una collocazione di crescente rilievo.

Questi prodotti sono normati rispettivamente dai due Regolamenti (EC) 1107/2009, che riguarda il collocamento sul mercato dei prodotti per la protezione delle piante ed (EC) 1185/2009, che riguarda le statistiche sui pesticidi, e dalle due Direttive 2009/127/EC, che riguarda i macchinari per la distribuzione dei pesticidi, e 2009/128/EC, che riguarda le azioni Comunitarie per l'uso sostenibile dei pesticidi.

Va sottolineato che è stato emanato anche il Regolamento (UE) 2019/1009 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 5 giugno 2019 che stabilisce le norme relative alla messa a disposizione sul mercato di prodotti fertilizzanti dell'UE, che modifica i regolamenti (CE) n. 1069/2009 e il citato (CE) n. 1107/2009 e che abroga il Regolamento (CE) n. 2003/2003.

In tal modo il legislatore Europeo descrive i confini tra agro-farmaci e fertilizzanti, confini che in un recente passato avevano dato luogo a plausibili

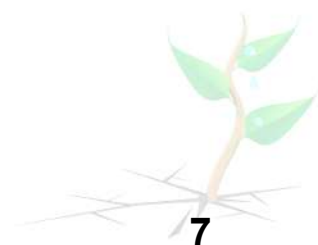


conflittuali interpretazioni per le categorie dei bio-stimolanti e dei bio-pesticidi, entrambe basate sui microorganismi.

Ad oggi gli agro-farmaci “microbials” comprendono 65 microorganismi attivi (19 batteri, 2 attinobatteri, 21 microfunghi, 5 virus, 1 lievito già approvati e i restanti in corso di registrazione) e circa 250 prodotti autorizzati nei vari Paesi dell’Unione Europea.

Non vi è dubbio che le norme Europee approvate nel 2009 hanno dato nuovo impeto sia alla ricerca che alle 26 autorizzazioni di nuovi prodotti, ma purtroppo la lunghezza dei tempi di registrazione (europea e nazionale) rallenta a tutt’oggi l’impiego di questi prodotti, soprattutto nei confronti delle agguerrite concorrenze di Stati Uniti, Australia, Canada.

Le linee-guida relative ai “microbials” sono state pubblicate per i biocidi nel 2015 e sono di prossima pubblicazione per gli agro-farmaci. La revisione, ancora in corso, di queste ultime include gli studi di efficacia per gli usi minori (di particolare rilevanza per l’Italia), i limiti massimi di residui, i metaboliti secondari, la definizione dei criteri per le sostanze a basso rischio e la valutazione del rischio cumulativo.



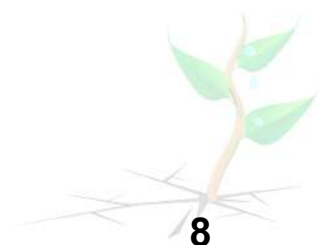
## **L'ADEGUAMENTO DELLA NORMATIVA ITALIANO IN MATERIA DI FERTILIZZANTI ALLA LUCE DEL REGOLAMENTO (UE) 2019/1009**

Il Regolamento (UE) 2019/1009 del Parlamento Europeo e del Consiglio, relativo al mercato di prodotti fertilizzanti dell'UE, modifica il quadro di riferimento normativo costituito dal Regolamento (CE) 2003/2003 e per l'Italia anche dal Decreto Legislativo 29 aprile 2010, n. 75.

In particolare il nuovo regolamento armonizza a livello europeo, i fertilizzanti di origine organica, nonché provenienti da materiale di recupero, favorendo un processo di sostituzione dei fertilizzanti di origine inorganica tradizionali e promuovendo l'economia circolare e stabilisce nuove consapevolezza per le aziende che decidano di avvalersi del marchio CE, che hanno l'obbligo di garantire la conformità del prodotto e del processo e a tal fine di essere sottoposte al controllo di un Ente certificatore terzo.

Per i Biostimolanti, già contemplati dalla normativa nazionale, il regolamento adotta una nuova definizione che specifica nel particolare a quali caratteristiche della pianta è diretta la funzione di stimolazione, escludendo specificatamente la resistenza a stress biotici.

Il nuovo regolamento, pertanto, richiede una profonda revisione del Decreto Legislativo 29 aprile 2010, n. 75, e per questo sono già stati avviati i lavori per la predisposizione di una nuova base normativa nazionale, al fine di dare piena applicazione al regolamento in questione e completare il quadro normativo di riferimento per l'intero settore dei fertilizzanti.



## **L'ALTERNATIVA AI PRODOTTI FITOSANITARI DI SINTESI: BIOPROTEZIONE**

L'impiego di prodotti fitosanitari convenzionali è sempre più oggetto di pubblico dibattito a causa dei rischi che si ritiene possano esporre nei confronti della salute umana, degli animali e dell'ambiente.

In più, il processo di revisione comunitaria delle sostanze attive che compongono gli agrofarmaci, sta riducendo significativamente il numero di sostanze disponibili sul mercato, con la conseguente manifestazione di fenomeni di resistenza.

Va da se, dunque, che gli agricoltori necessitano di nuovi strumenti per la difesa sostenibile ed efficace delle colture agrarie dagli attacchi di parassiti e malattie fungine, note ed emergenti.

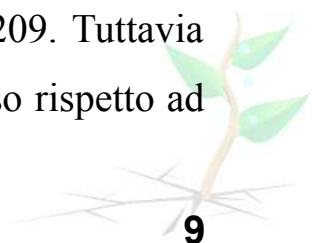
L'alternativa più evoluta ed innovativa è fornita dai mezzi tecnici di Bioprotezione, che includono le seguenti quattro categorie: macroorganismi (insetti utili, nematodi entomopatogeni), microrganismi (funghi, batteri, virus), semiochimici (feromoni, kairomoni e allomoni) e sostanze naturali (estratti vegetali e biochimici).

La caratteristica principale che li differenzia dai prodotti chimici di sintesi, è che si tratta di mezzi tecnici e sostanze di origine naturale.

Sono cioè tratte da matrici naturali, in alcuni casi possono essere anche di sintesi allor che siano identiche a quelle presenti in natura.

A volte hanno una relativa persistenza, ma posseggono un'elevata selettività ed un'adequata efficacia.

Molte di queste sostanze hanno già le caratteristiche per poter essere classificate “a basso rischio” ai sensi dell'art. 22 del Regolamento n. 1107/2009. Tuttavia tale Regolamento prevede un percorso autorizzativo più complesso rispetto ad un tradizionale prodotto fitosanitario.



IBMA, in un proprio documento definito “Libro Bianco”, propone un nuovo approccio normativo, più snello ma altrettanto rigoroso, affinché i prodotti fitosanitari di origine naturale, soprattutto se a basso rischio, possano essere approvati ed essere resi disponibili sul mercato più rapidamente.



## EVOLUZIONE NELLA PROTEZIONE DELLE COLTURE

Consumatori, associazioni di categoria, attori della filiera agro-alimentare, negli ultimi anni hanno influenzato la direzione delle strategie di difesa delle colture.

Il consumatore ha aumentato la richiesta di prodotti biologici, l'attenzione ai residui di prodotti fitosanitari e la volontà di avere prodotti sani e di qualità.

La Comunità Europea, seguendo questi bisogni, ha introdotto progressivamente normative sempre più stringenti per il rilascio dell'autorizzazione e il successivo utilizzo dei prodotti fitosanitari, nonché sussidi economici per incentivare pratiche agricole più “*green*”.

Conseguentemente, le nuove normative hanno comportato una considerevole riduzione delle sostanze attive tradizionalmente utilizzate nella difesa, con probabili problemi di comparsa di fenomeni di resistenza, a favore di nuove sostanze attive soprattutto di origine naturale.

Oltre a ciò, si è verificato un incremento della richiesta di “*autorizzazioni per emergenza fitosanitaria*” e la necessità di sviluppare nuove sostanze attive “convenzionali” e “biologiche”.

In questo contesto, molte aziende del settore fertilizzantie agrofarmaci, da anni sono impegnati nello sviluppo di prodotti *Biorational*, ovvero prodotti a basso rischio, ideali nella gestione delle resistenze, senza definizione di residuo e di origine naturale.

Considerate le difficoltà nel portare sul mercato nuove sostanze attive, nei prossimi anni il ruolo della Ricerca sarà fondamentale così come la stretta collaborazione tra Società private, Istituzioni ed Enti pubblici di Ricerca.



## **VALUTAZIONI AGRONOMICHE DEI DIVERSI PRODOTTI AMMESSI IN AGRICOLTURA**

I prodotti usati in agricoltura subiscono un processo di valutazione, validazione e registrazione da parte delle autorità sovranazionali e nazionali. In funzione del tipo di prodotto, il processo può variare da pochi mesi a molti anni e implicare, di conseguenza, un variabile e non trascurabile impegno economico da parte dell'azienda produttrice.

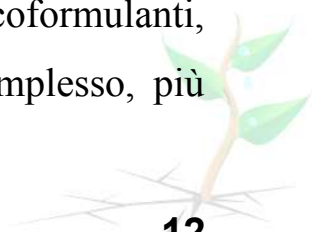
Scopo di questa pubblicazione è anche di fornire le basi di inquadramento normativo e i processi di valutazione per le varie categorie di prodotto che si trovano disponibili sul mercato e che gli operatori possono acquistare ed utilizzare.

In particolare ci si soffermerà sui prodotti fitosanitari, convenzionali ed agenti di biocontrollo e sui fertilizzanti ad azione speciale tra cui rientrano i biostimolanti.

Per completezza di informazione verranno citati e brevemente illustrati anche altre tipologie di prodotti.

I prodotti Biocidi vengono regolamentati dalla Dir 98/8/CE. Rientrano in questa classificazione Disinfettanti, Preservanti, prodotti per il controllo degli animali nocivi, altri. Possono essere impiegati in agricoltura, ma non per la protezione o lo sviluppo delle colture per i quali si utilizzano i prodotti fitosanitari.

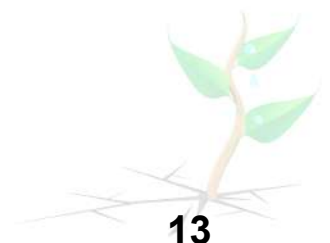
Prodotti Fitosanitari: la loro immissione sul mercato è regolata dal Reg 1107/2009 CE, sull'immissione in commercio dei PF. Sono composti da diverse sostanze: Sostanza attiva, antidoti agronomici, sinergizzanti e coformulanti, coadiuvanti. Sono quelli che hanno un iter registrativo, più complesso, più



lungo, più economicamente impattante di qualsiasi altro prodotto usato in agricoltura. L'Europa è la Regione che detiene il regolamento più stringente.

Tra i prodotti fitosanitari, vi sono materiali su cui val la pena fare chiarezza poiché sono sostanze attive particolari: agenti di biocontrollo, sostanze di base e corroboranti.

Biostimolanti e fertilizzanti naturali normati dal Il Regolamento (UE) 2019/1009 del Parlamento Europeo e del Consiglio entrato: in vigore 16 luglio 2022.



## **PARTE SECONDA**

### **BIOSTIMOLANTI IN AGRICOLTURA: COSA SONO**

Sono prodotti per l'agricoltura che hanno un'attività di prevenzione degli stress abiotici e che migliorano la qualità delle produzioni. Si tratta quindi di specialità fertilizzanti per l'agricoltura che non sostituiscono gli altri fertilizzanti ma integrano la loro funzione potenziando l'attività della pianta, rendendola - appunto - più robusta nei confronti degli stress, più produttiva e in grado di qualificare positivamente la produzione. L'applicazione di questi prodotti è in grado di indurre lo sviluppo di resistenze nelle piante, tali da renderle in grado di affrontare le condizioni di stress con migliori performance oppure migliorare la capacità delle piante di sopportare il trapianto o migliorare le qualità organolettiche ed estetiche.

### **DEFINIZIONE**

La Legislazione italiana (D.Lgs. 75/2010 e successiva modifica del 10 luglio 2013) dedicava già un'apposita sezione ai "Prodotti ad azione specifica su pianta – Biostimolanti"; "prodotti che apportano ad un altro fertilizzante o al suolo o alla pianta, sostanze che favoriscono o regolano l'assorbimento degli elementi nutritivi o correggono determinate anomalie di tipo fisiologico"

Nella suddetta norma – l'intero allegato 6 è dedicato ai PRODOTTI AD AZIONE SPECIFICA, al cui interno ci sono i "prodotti ad azione su pianta" una cui sezione comprende, infine, tali prodotti, categorizzati in funzione degli elementi alla base dei formulati

-Idrolizzato proteico di erba medica;-



Epitelio animale idrolizzato (solido o fluido)

- Estratto (liquido o solido) di erba medica, alghe e melasso
- Estratto acido di alghe famiglia 'Fucales'
- Inoculo di funghi micorrizici (da non confondersi con l'omonima tipologia inserita tra i prodotti ad azione su suolo)
- Idrolizzato enzimatico di Fabaceae
- Filtrato di crema di alghe (tal quale o in soluzione)
- Estratto umico di leonardite
- Estratto fluido azotato a base di alga *Macrocystis Integrifolia*.

Il nuovo regolamento adesso la definizione chiara è così riportata:

"Un biostimolante delle piante è un prodotto fertilizzante dell'Ue con la funzione di stimolare i processi nutrizionali delle piante indipendentemente dal tenore di nutrienti del prodotto, con l'unico obiettivo di migliorare una o più delle seguenti caratteristiche delle piante o della loro rizosfera:

a) efficienza dell'uso dei nutrienti;

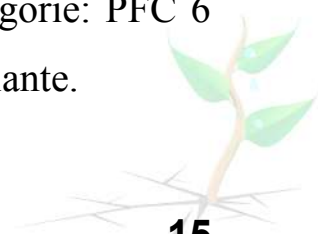
b) tolleranza allo stress abiotico;

c) caratteristiche qualitative;

o

d) disponibilità di nutrienti contenuti nel suolo o nella rizosfera".

L'allegato I del Reg. Ue 2019/1009 descrive le Categorie Funzionali dei Prodotti (PFC) fertilizzanti della Ue e, al PFC 6, prevede la categoria dei Biostimolanti che, a sua volta, è stata suddivisa in due sottocategorie: PFC 6 (A) ... microbico delle piante e PFC 6 (B) ... non microbico delle piante.



L'allegato II include le Categorie di Materiali Costituenti (CMC) che devono costituire, in maniera esclusiva, i prodotti fertilizzanti di cui sopra. Relativamente ai biostimolanti a base di microrganismi la norma prevede che sia costituito da un microrganismo o da un consorzio di microrganismi di cui alla Categoria di Materiale Costituente (CMC) numero 7.

Pertanto un prodotto fertilizzante dell'UE che appartiene alla categoria PFC 6(A) può contenere microrganismi, ivi compresi microrganismi morti o costituiti da cellule vuote, ed elementi residui innocui dei mezzi in cui si sono sviluppati, che

- non abbiano subito trattamenti diversi dall'essiccazione o dalla liofilizzazione e siano riportati nella tabella seguente:

*Azotobacter* spp.

Funghi micorrizici

*Rhizobium* spp.

*Azospirillum* spp.

## **COSA CONTENGONO**

Relativamente alla sottocategoria PFC 6 (B) biostimolante non microbico delle piante, le CMC da cui “attingere” per la loro formulazione sono tante, un elenco esemplificativo ma non esaustivo potrebbe includere:

CMC 1: sostanze e miscele a base di materiale grezzo

CMC 2: Piante, parti di piante o estratti di piante



CMC 6: sottoprodotti dell'industria alimentare

CMC 10: Prodotti derivati ai sensi del regolamento (CE) n. 1069/2009

Entrando nel dettaglio degli elementi che possiamo trovare alla base della produzione dei formulati, possiamo considerare una serie di materie prime quali :

#### Sostanze Umiche

- Umine (non solubili in acqua)
- Acidi umici (solubili in acqua a pH alcalino e precipitano a pH 1-2)
- Acidi fulvici (solubili in acqua a tutti i pH)

#### Estratti di alghe brune

(in natura sono disponibili alghe verdi, rosse o brune - soprattutto del tipo *Ascophyllum nodosum*, *Ecklonia maxima*, *Laminaria digitata* e *Fucus* spp. - e microalghe, ndr)

#### Carboidrati (>60% s.s.)

- alginati/acido uronico (>30%)
- laminarina (1-20%)
- fucoidano (1-20%)
- mannitolo (1-20%)

#### Elementi minerali (5-30%)

#### Fenoli (2-15%)



Fitormoni (<1%) (Auxine, Citochine, ABA, GA's, Poliammine, Brassinosteroidi)

Idrolizzati proteici

- Amminoacidi liberi e peptidi
- Carboidrati
- Elementi minerali
- Altre molecole (triacontanolo, poliammine)
- Fitormoni (origine vegetale)

## **COME AGISCONO?**

Per rispondere a questa domanda è utile distinguerne le applicazioni in diversi ambiti.

### **Biostimolanti per l'orticoltura**

Parlare di colture orticole significa considerare sia il pieno campo, sia le serre (orticoltura su suolo in ambiente protetto o fuori suolo), valutando sia la piena produzione sia il vivaismo.

Nell'ambito del vivaismo orticolo gli effetti ricercati con il loro apporto sono

1. Incremento degli standard qualitativi della piantina
2. Aumento dei ritmi di crescita
3. Miglioramento delle performance post-trapianto



Vengono quindi analizzati superficie e colore delle foglie, stato di salute, stato nutrizionale, spessore dello stelo, sostanza secca, apparato radicale, microrganismi benefici.

Nella produzioni orticole ci si concentra su

1. Rapido superamento della crisi da trapianto
2. Precocizzazione dell'entrata in produzione
3. Incremento di crescita, fioritura, allegagione e pezzatura dei frutti
4. Miglioramento della qualità del prodotto
5. Maggior efficienza d'uso dei nutrienti
6. Aumento della tolleranza agli stress abiotici

I risultati si concretizzano in un incremento del reddito dell'agricoltore per l'aumento della produzione unitaria, l'incremento del prezzo di vendita del prodotto, la riduzione dei costi di produzione. Gli effetti positivi possono variare in funzione del genotipo, della tecnica agronomica e delle condizioni pedo-climatiche.

Ulteriori ricerche e sperimentazioni dovranno identificare per le diverse colture le condizioni agronomiche ed ambientali in cui l'applicazione di questa categoria di prodotti trova una giustificazione economica. E' necessario comprendere i meccanismi di azione e identificare le eventuali interazioni positive che possono derivare dall'apporto combinato di due o più prodotti o di essi stessi con i concimi e/o fitofarmaci.



## **Biostimolanti per la frutticoltura**

Evidenze scientifiche dimostrano come il loro apporto possa contribuire a

- ingrossamento frutto e/o raggiungimento del "calibro ottimale" (è possibile infatti stimolare il metabolismo dei frutticini e favorire la moltiplicazione cellulare)
- mantenimento della consistenza dei frutti
- allungamento della shelf-life/conservabilità
- attivazione dei naturali meccanismi fisiologici che conducono alla biosintesi dell'etilene, l'ormone della maturazione, e dei pigmenti responsabili della colorazione dei frutti (antocianine e carotenoidi)
- effetti positivi sulla fisiologia delle colture, i quali si traducono in una migliore risposta agli stress tramite un sostanziale incremento nell'assimilazione di nutrienti
- migliorare i processi di fioritura, allegagione, sviluppo e maturazione dei frutti. Questi risultano quindi più abbondanti, migliori per colore e pezzature, nonché caratterizzati da migliori qualità organolettiche. Kiwi, drupacee, pomacee, uva da tavola, ma anche piccoli frutti e frutta a guscio possono usufruire di questi benefici.

## **Biostimolanti in viticoltura**

Le fasi principali del ciclo vegetativo della vite sono due: la prima è quella del riposo che va da novembre a febbraio e la seconda è quella della crescita che va da marzo a fine ottobre.

Durante il periodo di riposo, la pianta, pur non dando segni di vitalità, si prepara per affrontare il periodo attivo che la vedrà impegnata con tutte le energie a dare vita ai suoi frutti.



Il periodo attivo inizia in primavera con la fase del pianto, il primo segno di risveglio della pianta, e successivamente con quella del germogliamento, il momento in cui iniziano a vedersi le prime foglie.

Tali prodotti possono contribuire a

- stimolare la vite a produrre citochinine endogene e di conseguenza a sviluppare un nuovo e abbondante apparato radicale, e quindi una migliore assimilazione degli elementi nutritivi;
- uniformare il germogliamento nel tralcio, evitando il fenomeno della dominanza apicale con conseguente germogliamento “a emme”
- aumentare sia grado zuccherino sia l'alcol potenziale, senza agire sul mosto. Il più alto indice di maturazione tecnologica (Zuccheri/Acidi) si può ottenere grazie all'aumento dei gradi brix, senza provocare repentini abbassamenti dell'acidità e del pH
- attività ormono-simile: ad esempio auxine e gibberelline, stimolano lo sviluppo vegetativo, l'induzione a fiore delle gemme e l'allegagione più regolare
- favorire l'allungamento del rachide (uva da vino), poiché agiscono sulle fasi di divisione e distensione cellulare
- stimolare la fotosintesi clorofilliana e migliorare la resistenza della pianta agli stress, contribuendo all'aumento del profilo aromatico nella vite
- favorire la radicazione delle barbatelle, aumentando la resistenza delle viti agli stress abiotici.

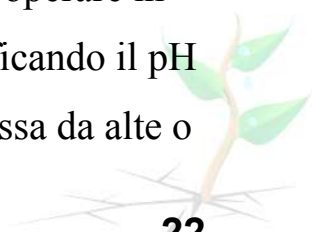


## MICRORGANISMI PER IL CONTROLLO BIOLOGICO

I microrganismi che possono essere utilizzati e che sono ammessi per la difesa biologica delle piante dai danni provocati dagli insetti e da malattie fungine e batteriche sono elencati nell'allegato II sezione 2 del Regolamento (CE) N. 889/2008 della Commissione del 5 settembre 2008 recante modalità di applicazione del regolamento (CE) n. 834/2007 del Consiglio relativo alla produzione biologica e all'etichettatura dei prodotti biologici, per quanto riguarda la produzione biologica, l'etichettatura e i controlli.

Nell'ampio arsenale biologico che la natura ha selezionato nel corso dell'evoluzione, numerosi microrganismi tra cui funghi, batteri e virus possono trovare utile e pratica applicazione: le scienze microbiologiche e la tecnica sono riusciti ad isolare e selezionare ceppi di microrganismi utili con insetti bersaglio specifici. I microrganismi vengono riprodotti e prodotti in biofabbriche e, grazie a innovative formulazioni, sono messi a disposizione dell'utilizzatore, a prezzi convenienti, numerosi prodotti commerciali con caratteristiche di stabilità e lunga vitalità dei microrganismi contenuti. Da pochi microrganismi disponibili negli anni '60 oggi ne sono disponibili diverse decine rappresentati da specie e ceppi aventi diverse specificità d'azione.

La lotta microbiologica prospetta dei vantaggi pratici: ad esempio è possibile effettuare una distribuzione sulla vegetazione con pompe a volume normale, atomizzatori o mediante irrigazione o con palo iniettore, strumento che facilita la distribuzione del prodotto nel suolo dove possono essere presenti larve di insetti parassiti. Per garantire l'efficacia dei prodotti a base di microrganismi è molto importante verificare la data di scadenza e attenersi alle informazioni per una corretta conservazione. Nelle fasi di distribuzione è importante operare in giornate con temperature miti e con un certo grado di umidità, verificando il pH dell'acqua: la vitalità dei microrganismi potrebbe essere compromessa da alte o



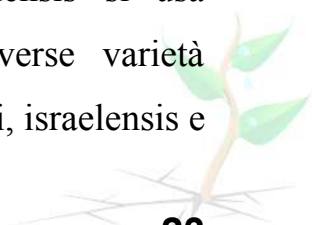
basse temperature, forte radiazione solare, condizioni disidratanti e da pH alcalini superiori a 7 o acidi inferiori a 5. Le etichette dei prodotti forniscono informazioni per la corretta distribuzione dei prodotti: è consigliabile attenersi in modo scrupoloso alle indicazioni e dosi in etichetta, pena la riduzione dell'attività dei microrganismi. I preparati microbiologici utilizzabili contro gli insetti hanno solitamente un breve tempo di sicurezza, a volte addirittura non ne hanno alcuno, e presentano una bassa tossicità ambientale e nei confronti dell'uomo e dei mammiferi.

## **BATTERI ENTOMOPATOGENI**

### ***Bacillus thuringiensis***

Il *Bacillus thuringiensis* è un batterio sporigeno che vive nel terreno. Sporula per resistere a fattori ambientali avversi come, per esempio, l'assenza di nutrimento e durante la sporulazione produce l'endotossina *Bacillus thuringiensis* che se ingerita risulta tossica per molti insetti ma è innocua per i vertebrati.

La modalità d'azione è quindi questa: l'insetto che mangia una foglia contaminata dal batterio ingerisce la tossina, questa per esplicare la sua azione deve raggiungere l'intestino con pH alcalino, in questo modo l'endotossina si discioglie e causa la malattia. L'intestino e l'apparato boccale dell'ospite sono di conseguenza paralizzati e questo cessa di alimentarsi, deperisce e muore nel giro di 3-5 giorni inseguito all'invasione batterica nel resto del corpo. L'insetto morto cade nel terreno liberando le spore del batterio. I prodotti a base di *Bacillus thuringiensis* sono quindi ammessi in agricoltura biologica. Venduti in varie formulazioni come emulsioni oleose o sospensioni acquose che contengono le spore, sono distribuiti per irrorazione. L'esposizione ai raggi ultravioletti li rende inattivi: per questo motivo sono consigliati trattamenti nel tardo pomeriggio o di sera. Il *Bacillus thuringiensis* si usa generalmente contro lepidotteri, ditteri e coleotteri. Esistono diverse varietà sierotipiche di *Bacillus thuringiensis* come ad esempio *kurstaki*, *aizawai*, *israelensis* e



tenebrionis. Kurstaki è la sottospecie più impiegata nel mondo soprattutto in frutticoltura contro i tortricidi, in viticoltura contro le tignole, in coltivazioni erbacee sui noctuidi e in selvicoltura contro la processionaria e l'Ifantria agendo solo sulle larve e non sulle uova o sugli adulti.

### **Saccharopolyspora spinosa**

Lo Spinosad è un insetticida naturale ad ampio spettro d'azione ottenuto dalla miscela di due tossine prodotte dal metabolismo dell'attinomicete tellurico *Saccharopolyspora spinosa*. L'insetticida danneggia il sistema nervoso degli insetti causando iperattività dei neuroni e contrazioni muscolari involontarie fino alla paralisi finale. Agisce per ingestione e contatto su tisanotteri, coleotteri, lepidotteri e ditteri.

### **Chromobacterium subtsugae sp. nov.**

È un batterio entomopatogeno ad ampio spettro di azione, infatti trova utilizzo per il controllo di lepidotteri, coleotteri, tisanotteri, eterotteri e acari. Agisce tramite dei metaboliti che hanno un'azione diretta sugli insetti sia per ingestione che per contatto.

### **Burkholderia rinojensis sp. nov.**

Batterio entomopatogeno attivo contro afidi, cimici, acari, larve di lepidotteri, tripidi e tisanotteri. Ha un meccanismo di azione multiplo caratterizzato da repellenza, tossicità orale, riduzione della schiusura delle uova e riduzione della fecondità.

### **Virus entomopatogeni**

I virus entomopatogeni si comportano da patogeni endocellulari obbligati che hanno sviluppato specifiche strategie per muoversi e svilupparsi all'interno del corpo dell'insetto. Questo perché quando il virus entra a contatto con l'ospite deve riprodursi sfruttando il sistema di trascrizione dell'insetto e per farlo ha bisogno di superare una serie complessa di barriere. Quando un insetto è colpito dal virus inizia a cambiare il suo comportamento e a modificare la sua mobilità finché non muore per setticemia. Si liquefa ma resta attaccato alla foglia e le particelle virali cadono e si disperdono per cui possono essere mangiate da altri insetti. L'ingestione deve avvenire nel corso

della stessa stagione, in caso contrario le particelle virali vanno incontro a degradazione. Esistono diversi virus noti per essere entomopatogeni ma la produzione di questi ai fini della difesa risulta complessa, dal momento che è quasi sempre necessario allevare anche l'ospite. Ma uno dei maggiori vantaggi nell'utilizzare i virus come agenti di biocontrollo dei fitofagi è il fatto che possono trasmettersi verticalmente e cioè da una generazione all'altra per via transovarica.

### **Famiglia Baculoviridae**

La famiglia dei Baculoviridae contiene oltre seicento specie descritte e comprende generi come Alphabaculovirus e Betabaculovirus, entomopatogeni nei confronti dei lepidotteri, Gammabaculovirus attivo contro imenotteri, e il genere Deltabaculovirus che controlla i ditteri. Da questi generi sono stati ottenuti oltre cinquanta prodotti fitosanitari ad elevata specificità con maggiore suscettibilità nei confronti di giovani larve. I baculovirus infettano l'insetto penetrando generalmente attraverso l'apertura boccale e l'epitelio intestinale. Il fitofago in seguito all'ingestione cessa di alimentarsi, l'emolinfa diviene bianca e lattiginosa e il corpo diventa flaccido fino al disfacimento. I baculovirus non sono nocivi per l'uomo, conservano la loro virulenza per molto tempo restando inalterati anche ai processi putrefattivi dell'ospite e si accumulano negli strati superficiali del terreno.

### **Funghi entomopatogeni**

Come accennato precedentemente, il fungo può penetrare attivamente nel corpo dell'insetto attraverso l'esoscheletro. In particolare, il fungo è in grado di invadere l'ospite nella sua forma conidica. Il conidio si disperde per via aerea e, una volta raggiunto l'ospite, se ci sono le condizioni ottimali, produce un tubetto germinativo che penetra nel corpo del fitofago. I conidi presentano proteine idrofobiche in superficie, analogamente al corpo dell'insetto. Il fungo utilizzerà particolari enzimi per rompere la cuticola fino a raggiungere l'emocele. Qui il fungo produrrà delle tossine e altri fattori di virulenza nonché un secondo tipo di spore dette blastospore che causeranno la morte per setticemia. Quindi il ciclo di infezione di un insetto ad opera di un fungo entomopatogeno è composto da cinque fasi: adesione,

germinazione, penetrazione, sviluppo dell'infezione e diffusione esterna. La ricerca per le formulazioni migliori sta lavorando molto sulle caratteristiche dei conidi cercando di potenziare l'idrofobicità del fungo così che abbia più affinità con la superficie del corpo dell'insetto.

### **Beauveria bassiana**

È il fungo entomopatogeno più utilizzato per il biocontrollo e causa la malattia del calcino bianco o calcosi. Agisce per contatto: quando le spore del fungo cioè i conidi entrano in contatto con il corpo dell'insetto, si introducono nel corpo, germinano e vi si sviluppano, uccidendo l'insetto ed utilizzandolo come fonte di nutrimento. Dopo la morte dell'insetto il micelio (dall'aspetto di una schiuma bianca) si sviluppa sul cadavere producendo nuove spore. L'insetto parassitato ma non ancora morto diffonde il fungo ad altri individui durante i suoi spostamenti. Il fungo non infetta l'uomo né altri mammiferi. In commercio si trova sotto forma di spore vitali ma il suo utilizzo è reso difficile dal fatto che necessita di alta umidità relativa (maggiore di 90%) e temperature molto alte. È molto attivo contro tripidi, aleurodidi, afidi e ragnetto rosso.



## Casi pratici

### Caso 1 - Utilizzo di tannini

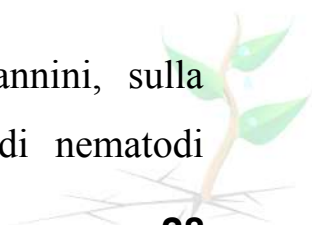
I più importanti metaboliti secondari delle piante sono gli alcaloidi, i monoterpeni, i flavonoidi, i diterpenoidi e i polifenoli. I tannini sono componenti della grande classe di prodotti delle piante conosciuti come polifenoli, ma sono gli unici a possedere la capacità di complessare le proteine. Esistono due classi principali di tannini: idrolizzabili e condensati, questi ultimi conosciuti anche come protoantocianidine. Tra gli idrolizzabili prevalgono i tannini gallici e gli ellagitannini, tra i t. condensati, che sono oligomeri o polimeri, normalmente di catechina o di epicatechina, due dei più comuni polimeri sono le procianidine e le prodelfinidine. I tannini proteggono le piante dagli erbivori (Forkner et al., 2004) e sono tossici per una grande varietà di funghi e batteri (Scalbert, 1991). Si stima che i tannini siano la quarta sostanza biochimica prodotta dalle piante vascolari dopo la cellulosa, le emicellulose e le lignine. Negli ultimi decenni si stanno evidenziando le loro molteplici funzioni nell'ecosistema e molte sono le ipotesi proposte dai ricercatori che hanno cercato di spiegare il significato adattativo dei tannini nei vegetali. Recentemente sono state fatte ricerche per comprendere il loro fondamentale ruolo svolto nell'ecologia della rizosfera, nell'ambito delle relazioni benefiche fra piante lettiera e suolo.

Da decenni l'uomo mette a frutto la loro reattività in diversi settori industriali, tra questi il settore conciario è quello storicamente più conosciuto e quello zootecnico uno dei più recenti, dove i tannini vengono inclusi nell'alimentazione dei ruminanti al fine di migliorare l'utilizzo delle proteine e il loro assorbimento, riducendo le perdite nell'intestino e al fine di riequilibrare la microflora nel rumine. Distribuiti sulle piante i tannini potrebbero limitare lo sviluppo di batteri, funghi e nematodi grazie a un'ampia serie di reazioni, tra cui

l'inibizione della fosforilazione ossidativa, la precipitazione delle proteine, la disattivazione dei metalli e degli enzimi con essi costituiti e la complessazione degli ioni metalloinoltre, recenti ricerche, hanno dimostrato la loro influenza nella difesa sistemica delle piante. L'uso dei tannini per contrastare i nematodi gastrointestinali dei ruminanti è noto in letteratura e storicamente utilizzato nella pratica zootecnica. Altri ricercatori rilevarono che applicando al terreno tannino estratto dal legno di quebracho, si riducevano le infestazioni di *Longidorus elongatus*. Somministrazioni di sottoprodotti ricchi in polifenoli e tannini nello specifico sono stati usati con successo nel controllo di *Meloidogyne arenaria*. Estratti di legno di quercia contenenti tannini hanno dimostrato una buona efficacia di controllo del nematode del terreno *Caenorhabditis elegans*. Negli anni novanta sono stati pubblicati altre fondamentali ricerche sull'interazione tra i tannini applicati al terreno e la loro azione verso i nematodi fitoparassiti, dimostrando l'efficacia dell'acido tannico (estratto da *Caesalpinia spinosa* e galle di piante) verso diverse specie di nematodi fitoparassiti (*M. arenaria* e *M. incognita*, *Heterodera glycine*, *Radopholus similis*). In particolare, verso i nematodi galligeni, quali le diverse specie di *Meloidogyne*, i risultati ottenuti furono incoraggianti. I tannini sono poi citati per il loro ruolo nel determinare la resistenza al nematode *Radopholus similis* in alcune varietà di banana e per la loro efficacia contro diverse specie di nematodi.

Recenti lavori hanno descritto l'efficacia di tannini di castagno nel bloccare la motilità delle larve dei nematodi galligeni *M. javanica* e *M. incognita* in prove in vitro; sono stati ottenuti anche risultati positivi anche verso i cisticoli della carota e della patata e rilevato un effetto disorientante/repellente su nematodi galligeni.

Alcune ricerche hanno individuato un'azione, da parte dei tannini, sulla morfologia delle pareti cellulari che compongono il corpo di nematodi



gastrointestinali e sul nematode del terreno *C. elegans*. Mentre Molan et al., hanno dimostrato come le larve di nematodi gastrointestinali, perdessero la coordinazione neuromuscolare in seguito alle applicazioni di tannini. Da quanto esposto finora, si può dedurre che le caratteristiche del tannino, favorendo la resistenza delle piante all'ambiente, attraverso un migliore adattamento alle condizioni biotiche ed abiotiche avverse (raggi UV, salinità, condizioni riducenti, reazioni anomale, siccità, insetti parassiti, funghi e batteri patogeni, nematodi) e la sua influenza sulla rizosfera, sembra possedere le potenzialità per un impiego in agricoltura, soprattutto in quella ecosostenibile.



## Caso 2 - Utilizzo di olii essenziali

Fra i prodotti alternativi agli agrofarmaci di sintesi, quelli di origine vegetale, oltre al loro storico primario molo nella difesa insetticida, in tempi recenti hanno riacquisito attenzione anche negli altri settori. Un particolare interesse si è creato per gli oli essenziali, che da decenni hanno evidenziato, soprattutto nelle indagini di laboratorio, un'attività ad ampio spettro contro le avversità biotiche delle piante, ma che hanno sempre incontrato difficoltà a raggiungere la fase applicativa, per varie ragioni fra cui anche la loro scarsa persistenza. Recentemente alcuni di questi, grazie all'impegno di alcune società agrochimiche che ne hanno ottimizzato la formulazione e sviluppato i processi registrativi hanno potuto raggiungere la fase commerciale. In Italia il primo è stato un formulato a base di olio essenziale di arancio dolce (*Citrus sinensis dulcis*) che, sviluppato dalla società Oroagri International, è stato registrato da parte di Nufarm Italia (Prev-Am Plus, Reg. n. 16379 del 12/5/2015) per diversi impieghi che comprendono sia insetti che patogeni fungini. Questo lavoro ha avuto lo scopo di caratterizzare, attraverso verifiche in ambiente controllato di serra su piante in vaso di zucchini e pomodoro inoculate artificialmente, un aspetto dell'azione antifungina del formulato, ed in particolare l'andamento temporale della sua attività pre- o post- inoculazione contro un agente di oidio (*Podosphaera xanthii*, uso autorizzato) e uno di peronospora (*Phytophthora infestans*, uso non autorizzato).



### Caso 3 - Composti bioattivi

In Italia le fragole (*Fragaria x ananassa* Duch.) sono tra le più importanti realtà frutticole e la muffa grigia (*Botrytis cinerea*) rappresenta la malattia più grave soprattutto durante la fase di post raccolta. Per prolungare la shelf life delle fragole, si fa largo uso dei fungicidi di sintesi con trattamenti eseguiti durante la fase di fioritura in modo da ridurre le infezioni sui frutti, mentre la raccolta è eseguita la mattina presto utilizzando contenitori refrigerati. Una strategia più eco-friendly è l'uso di microrganismi quali *Cryptococcus albidus* con trattamenti in pieno campo, oppure con prodotti a base di glutazione, oligosaccaridi, laminarina e chitosano. Molti composti di origine vegetale come allicina, glucosinolati, oli essenziali di origano e di timo sono stati riportati come efficaci contro la muffa grigia (Lopez-Reyes et al., 2010; Nabigol and Morshedi, 2011). Tuttavia, è stato dimostrato che il controllo dell'infezione da botrite è più efficace quando è effettuato in postraccolta, pertanto molte strategie di difesa si basano sull'uso di agenti disinfettanti o trattamenti fisici mediante irradiazione UV-C o applicazioni ipobariche e iperbariche dell'ozono. Nel presente lavoro è stata saggiata in vitro e in vivo l'efficacia dell'estratto acquoso della buccia di melograno su *B. cinerea*. *P. granatum* è molto ricca di composti bioattivi, e la sua attività antimicrobica è correlata al contenuto di fenoli e flavonoidi (Rongai et al., 2017). La presenza di punicalagina e acido ellagico (I principali componenti bioattivi) sono determinati attraverso un metodo analitico semplificato\_HPLC-MS-MS (Fischer et al., 2011). La punicalagina, identificata come componente principale dell'estratto, è stata studiata, con approcci di chimica computazionale, allo scopo di accertare le sue proprietà molecolari e confrontarle con quelle di amphotericina B. La spettroscopia infrarossa in trasformata di Fourier (FT-NIR) è considerata un potente metodo non distruttivo per il controllo qualitativo di

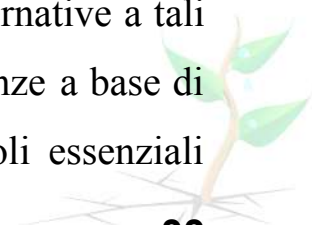
molti prodotti alimentari (Bendini et al. 2007). Utilizzando uno spettrometro (Erkin Elmer), sono stati presi, in riflettanza, i valori degli spettri su fragole sane ed infette. Per concludere, con questa ricerca è stata valutata la potenzialità dell'estratto acquoso di melograno allo scopo di preservare la qualità ed estendere la shelf-life delle fragole.

I risultati ottenuti con i test in vitro e in vivo hanno dimostrato la capacità dell'estratto di melograno di contenere lo sviluppo della *B. cinerea* su fragola e aumentarne quindi la shelf-life. E' stato dimostrato anche un'elevata correlazione tra gli spettri FT-NIR e la gravità della malattia dei frutti, fornendo un modello NIR chemometrico in grado di prevedere la gravità della malattia. Inoltre, attraverso approcci di chimica computazionale, si è mostrato che la punicalagina e l'AmB sono caratterizzate da simili proprietà di interazione molecolare, probabilmente connesse alla loro capacità di formare aggregati poriformi. Per concludere, la presente ricerca promuove l'uso dell'estratto acquoso della buccia di melograno (EABM) come fungicida per controllare il decadimento delle fragole in post raccolta. La sostituzione di agrofarmaci sintetici con molecole vegetali riduce la quantità di sostanze chimiche nell'ambiente e gli effetti indesiderati come la contaminazione della catena alimentare. Il nostro lavoro suggerisce che EABM, potrebbe essere un'alternativa ai prodotti sintetici per controllare i deterioramenti in post raccolta e migliorare la qualità dei frutti evitando l'impatto delle sostanze chimiche sulla salute umana. Questo è anche un importante obiettivo delle politiche agricole della Comunità europea.



#### **Caso 4 - ACIDO ACETICO COME ERBICIDA NATURALE**

La presenza della flora spontanea in viticoltura non è di per sé un fenomeno negativo. E' infatti ben noto che l'inerbimento delle inter-file è agronomicamente utile sia per la sua azione antierosiva che in termini di fertilità biologica. Anzi, tale copertura viene sempre più ricercata attraverso l'uso di "cover crops" in grado di svolgere entrambi i sopracitati ruoli agronomici. Tuttavia, l'indesiderabilità di tale flora spontanea si verifica in prossimità dei filari (Benvenuti et al., 2006) dal momento che, in queste aree, la loro interazione competitiva ed allelopatica tende a contrastare la crescita e la produttività della coltura. Da non trascurare sono inoltre le problematiche derivanti da specie spontanee che possono costituire da "pianta ospite" per alcune avversità biotiche come crittogame (Wistrom e Purcell, 2005) e/o insetti di cui spesso costituiscono il vettore. Una fitta vegetazione nelle vicinanze dei frutti in fase di maturazione può inoltre creare un microclima favorevole allo sviluppo di avversità e costituire un ostacolo per le operazioni di raccolta. Convenzionalmente, l'eliminazione di tale indesiderata vegetazione viene effettuata mediante erbicidi di sintesi. Per quanto l'evoluzione di tali prodotti sia stata in grado di rendere disponibili prodotti sempre meno impattanti nei confronti dell'ambiente e dei consumatori è chiaro che tale intervento agronomico non è esente da rischi di contaminazione sia per il prodotto trasformato che per gli ecosistemi circostanti. Va inoltre sottolineato che l'uso ripetuto di glifosate e/o glufosinate di ammonio, come tipicamente effettuato nella viticoltura convenzionale, è spesso agronomicamente insostenibile in quanto risulta vulnerabile dall'evoluzione di biotipi resistenti a tali erbicidi. E' per questo motivo che è sempre più richiesto l'uso di efficaci alternative a tali strategie. In tutto il mondo sono in fase di sperimentazione sostanze a base di acido pelargonico estratto dal comune geranio, resina di pino, oli essenziali



estratti da agrumi, eucalipto e persino comuni infestanti e nonché l'uso di fitochimici estratti dall'aglio. La maggiore criticità di queste sostanze eco-compatibili è legata al loro costo che, se proponibile per la gestione dell'ambiente urbano ed in piccole realtà di orticoltura biologica, è al contrario difficilmente accettabile in viticoltura per la vastità delle superfici da gestire. Paradossalmente, uno dei prodotti meno costosi è proprio un prodotto del vigneto in quanto da alcuni anni si sono affermati prodotti a base di aceto che hanno trovato un'applicazione pratica nella gestione floristica di ambienti di varie parti del mondo. Lo scopo della sperimentazione è stato quello di verificare le performance agronomiche di derivati dell'aceto mirati al contenimento e/o eliminazione della flora infestante in alcuni vigneti di agroecosistemi della Toscana.

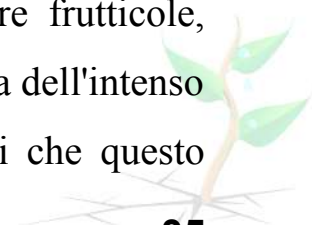
Sebbene questo erbicida naturale non possa risolvere da solo le problematiche di gestione della vegetazione, per la criticità della resilienza delle perenni, esso ha mostrato delle ottime performance nei confronti delle specie annuali. Ciò suscita ottimismo per una reale utilizzabilità di questo prodotto analogamente a quanto osservato per la difficile gestione delle malerbe diffuse nei vivai. L'integrazione di interventi meccanici con questo prodotto appare una strategia importante nei casi di sistemi colturali biologici. Tuttavia, anche negli agroecosistemi convenzionali questo prodotto appare importante per alternare l'uso di glifosate la cui ripetitività nello spazio e nel tempo tende ad evolvere biotipi di malerbe resistenti.



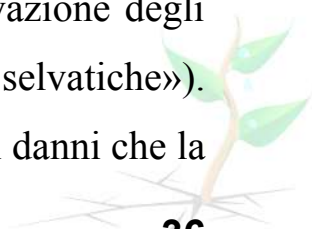
## Caso di studio 5 - controllo biologico un parassitoide autoctono

Dal 2014 la cimice marmorata asiatica (*Halyomorpha halys*) sta provocando ingenti danni all'agricoltura del Friuli Venezia Giulia, in particolare al settore frutticolo. La lotta chimica si è dimostrata nel tempo non risolutiva, oltre a non essere sostenibile da un punto di vista ambientale ed economico. Al fine di mettere in atto misure alternative per il contenimento delle popolazioni di *H. halys*, nella primavera 2019 è stata impostata una prova di controllo biologico con il lancio di un antagonista nativo naturale: *Anastatus bifasciatus*, parassitoide delle uova della cimice marmorata asiatica. La prova ha interessato alcune siepi presenti lungo il bordo di due frutteti (melo e actinidia). Sono state rilasciate complessivamente 10.400 femmine di *A. bifasciatus* e una percentuale di maschi sufficiente alla loro fecondazione su 500 metri lineari di siepe. Nonostante l'elevato numero di esemplari rilasciati si sono ottenute percentuali di parassitizzazione molto basse e non differenti da quelle della zona di controllo, rilevando una scarsa efficacia di questo antagonista nell'area oggetto di studio.

A partire dal 2014, anno del primo ritrovamento in Friuli Venezia Giulia, la cimice marmorata asiatica (*Halyomorpha halys*) (Hemiptera: Pentatomidae) si è diffusa su tutto il territorio regionale nell'arco di 5 stagioni causando, in maniera crescente, ingenti danni al settore agricolo, soprattutto a quello frutticolo, e un disturbo non indifferente alla popolazione. Questo pentatomide, che è stato rinvenuto per la prima volta in Italia in provincia di Modena nel 2012, risulta essere un problema di non facile soluzione, come testimonia ad esempio la situazione degli Stati Uniti, dove l'insetto è arrivato già nei primi anni del 2000 e sta tuttora causando danni ingentissimi soprattutto alle colture frutticole, rendendo spesso non più praticabile la produzione integrata a causa dell'intenso uso di insetticidi che ne è derivato. Al fine di limitare i danni che questo



pericoloso insetto alloctono sta arrecando al settore agricolo, il Servizio fitosanitario e chimico, ricerca, sperimentazione e assistenza tecnica dell'ERSA, della regione Friuli Venezia Giulia, ha predisposto diverse misure per il controllo del parassita. Le molteplici esperienze condotte in questa regione hanno riguardato innanzitutto il monitoraggio di *Halyomorpha halys* con il metodo visivo e con le trappole a feromoni di aggregazione (Rescue®), ma anche numerose sperimentazioni riguardanti, tra le altre, la difesa chimica (s.a. ad azione diretta e prodotti con la zeolite o il caolino con azione di disturbo e antifeeding), prove di difesa alternativa come le reti anti insetto monoblocco e monofila, dimostratesi nel tempo le più efficaci anche se non risolutive, ed anche una prova di lancio con l'ooparassitoide autoctono *Ooencyrtus telenomicida*, risultato però non efficace. Si è trattato di sperimentazioni molto utili che hanno fornito risultati importanti per le aziende agricole e che hanno messo in luce come il contenimento di questo insetto sia particolarmente complicato e renda necessario un approccio di tipo integrato. Nel corso dei monitoraggi visivi condotti nel territorio regionale, nell'agosto del 2018 il Servizio fitosanitario dell'ERSA ha riscontrato, in tre diverse località, la presenza di antagonisti di *H. halys*, in particolare della specie esotica *Trissolcus mitsukurii*, con elevati livelli di parassitizzazione delle ovature. Nello stesso anno ulteriori ritrovamenti di parassitoidi oofagi esotici di *H. halys* sono stati osservati in altre regioni: *T. mitsukurii* in Alto Adige e *Trissolcus japonicus* in Lombardia. Dal punto di vista normativo, fino al 2018 in Italia era vietata l'introduzione o la reintroduzione di organismi esotici come previsto dal Decreto del Presidente della Repubblica (D.P.R.) 12 marzo 2003, n. 120 che ha modificato il D.P.R. 8 settembre 1997, n. 357 - recepimento del «Regolamento recante attuazione della Direttiva 92/43/CEE relativa alla conservazione degli habitat naturali e seminaturali, nonché della flora e della fauna selvatiche»). Recentemente, con il D.P.R. 5 luglio 2019 n 102, a fronte dei gravi danni che la



cimice sta arrecando al comparto ortofrutticolo del Nord Italia, è stata riconosciuta la possibilità di lanciare organismi non autoctoni, previo iter di valutazione dei rischi che è ancora in fase di elaborazione. Sono invece ammessi dal D.P.R. 12 marzo 2003, n. 120 i lanci di antagonisti autoctoni e per tale ragione in Friuli Venezia Giulia nella primavera 2019, al fine di ricercare mezzi alternativi alla lotta chimica per il controllo della cimice marmorata asiatica, è stata impostata una prova di controllo biologico con *Anastatus bifasciatus* (Geoffroy). Si tratta di un parassitoide autoctono, appartenente all'ordine degli Imenotteri, famiglia Eupelmidae. È un insetto generalista che può parassitizzare le ovature di insetti appartenenti a ordini diversi tra cui anche eterotteri e lepidotteri. In Europa è considerato uno degli antagonisti oofagi di *H. halys* più diffusi, tale da candidarsi come potenziale insetto per il controllo biologico di questo dannoso pentatomide tramite lanci inondativi. Diverse sono le osservazioni effettuate anche in Piemonte e in Emilia Romagna che hanno verificato l'azione di parassitizzazione sulle uova di *H. halys*. Recenti studi, sono stati realizzati in Svizzera e in Italia, con l'obiettivo di valutare sia i potenziali rischi per le specie non target, a seguito di lanci di *A. bifasciatus*, che il livello di parassitizzazione delle uova del pentatomide asiatico.

Altre interessanti ricerche sono volte a verificare eventuali sinergie che potrebbero intercorrere tra *A. bifasciatus* e un'eventuale concomitante presenza di *T. japonicus* nel contenimento di *H. halys*. Con la sperimentazione svoltasi in Friuli Venezia Giulia nel 2019 si è voluto verificare l'attività di *A. bifasciatus* in campo, applicando un modello di rilascio degli insetti di tipo inondativo. Lo scopo della prova era di valutare il grado di parassitizzazione delle uova di cimice marmorata asiatica e quindi, la capacità di contenimento del parassita nonché la diffusione dell'antagonista stesso nell'ambiente circostante ai luoghi di rilascio.



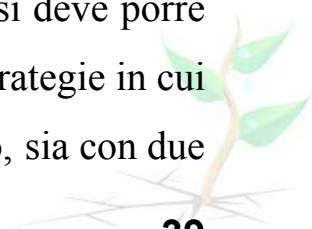
## **Caso 6 - Fungicidi di origine naturale per il controllo della Botrite Della Vite**

La botrite o muffa grigia, causata da *Botrytis cinerea*, è una delle principali malattie della vite. Può provocare, quando si presentano le condizioni ambientali propizie nel periodo precedente la vendemmia, danni importanti alla produzione.

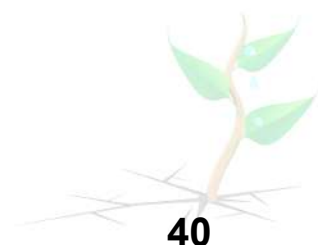
Colpisce tipicamente i grappoli in maturazione, mentre è meno frequente l'infezione a carico delle foglie, giovani tralci ed infiorescenze. Favorito da un andamento stagionale piovoso (elevata umidità e piogge frequenti), la malattia penetra passivamente attraverso microferite nella buccia degli acini, pur potendo presentare anche una penetrazione attiva. La base della prevenzione passa necessariamente da un'attenta gestione agronomica del vigneto, andando a ridurre la vigoria delle piante, equilibrando la concimazione e l'irrigazione e soprattutto garantendo un buon arieggiamento della chioma, soprattutto nella fascia dei grappoli, attraverso sfogliature ed adeguate potature verdi. L'intervento chimico è comunque necessario in particolare nei vigneti considerati ad alto rischio, con una strategia da modulare in base alle condizioni ambientali più o meno predisponenti la malattia. Le strategie di lotta sono basate generalmente su tre interventi eseguiti in determinate fasi fenologiche. In Italia, le fasi cruciali per il contenimento della malattia, individuate nell'ottica di una razionalizzazione dei trattamenti, sono tradizionalmente la pre-chiusura grappolo (BBCH 77), l'invaiaitura (BBCH 81-83) e la pre-raccolta (BBCH 88-89). Negli ultimi anni, tuttavia si tende a rivalutare la fine fioritura (BBCH 68/69), mentre in secondo piano appare la fase di pre-chiusura grappolo. Interventi precoci andrebbero a colpire i conidi presenti sui residui fiorali (che forniscono un substrato importante per il loro sviluppo). All'invaiaitura il trattamento è mirato a proteggere il grappolo all'inizio della fase di maturazione (gli acini diventano più ricchi di sostanze zuccherine e l'epidermide si

assottiglia), che porta ad una maggior suscettibilità, mentre l'ultimo trattamento precedente la vendemmia è finalizzato a proteggere il raccolto dalle infezioni che si scaturiscono nel caso di un andamento meteorologico umido e piovoso di fine estate-inizio autunno. Obiettivo del presente studio è stata la valutazione di alcuni prodotti alternativi ai convenzionali fungicidi di sintesi impiegati in modo da poter valutare il loro miglior posizionamento all'interno di una strategia comprendente anche prodotti chimici di sintesi. In particolare sono stati saggiati: gli antagonisti microbici *Bacillus subtilis*, *Phythium oligandrum* e *Aureobasidium pullulans*, il bicarbonato di potassio. Questi prodotti naturali sono soluzioni sostenute dalla comunità europea (EPPO 2017), sia per il profilo tossicologico che eco-tossicologico.

In conclusione, dal presente studio emerge e si conferma come, in presenza di gravi attacchi di botrite, collegati a piogge in prossimità della raccolta e/o eventi che hanno causato lesioni agli acini, nessun prodotto (incluso lo standard chimico di riferimento) è in grado di contenere i danni da muffa grigia su grappolo stante il rapido decorso della malattia, che, nell'arco di pochi giorni, è in grado di portare a gravi danni economici. Al verificarsi di queste condizioni è sempre opportuno anticipare la vendemmia, limitando le perdite. In presenza di normali condizioni predisponenti le infezioni botritiche, anche i prodotti naturali forniscono risultati interessanti, soprattutto quando usati in strategia con un prodotto chimico specifico. La sperimentazione mette in luce la buona protezione fornita dal bicarbonato di K tra i prodotti naturali seppur con andamento disforme tra le due annate e da *Pythium oligandrum*. Non sono state rilevate differenze significative in termini di controllo tra i diversi prodotti naturali utilizzati. Le tesi in efficacia mostrano come i prodotti saggiati tendano a perdere gran parte della loro efficacia nell'ultimo rilievo, perciò si deve porre particolare attenzione quando la raccolta si protrae nel tempo. Le strategie in cui compare il trattamento chimico nella fase di pre-chiusura grappolo, sia con due

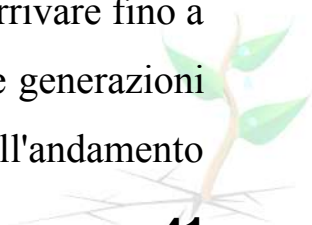


che con tre applicazioni complessive, si dimostrano più solide e soprattutto garantiscono una persistenza ed efficacia maggiore. Nel biennio di prova, la variabilità di campo e le non sempre favorevoli condizioni meteorologiche non hanno permesso di evidenziare il contributo del trattamento eseguito nella fase di fine fioritura al fine di ridurre il potenziale di inoculo del patogeno.

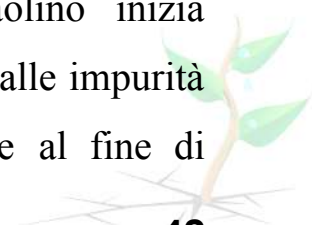


## Caso 7 - Utilizzo di caolino

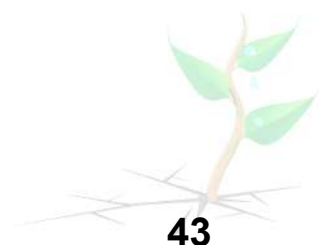
La mosca delle olive (*Bactrocera oleae*) è un dittero Tefritide ampiamente diffuso in tutti gli areali olivicoli mediterranei, in Sud Africa e America latina, ma nelle due ultime decadi si è assistito ad una diffusione ulteriore del fitofago anche negli Stati Uniti. L'Italia si colloca ai primi posti della classifica mondiale di produttori di olio di oliva con una superficie investita ad oliveto di oltre un milione di ettari. Questo quadro è sufficiente a giustificare l'importanza del litofago nel nostro paese, dove è ritenuto l'insetto chiave della coltura. Il danno provocato dalla mosca inizia con le punture di ovideposizione caratterizzate dalla ferita a "V" normalmente ben evidente sulle drupe, le larve scavano gallerie di dimensioni ridotte per poi assumere sezione considerevole in prossimità del nocciolo. Le olive colpite nella prima parte della stagione rimangono sulla pianta mentre attacchi tardivi possono portare alla cascola. In generale il danno è sia di tipo quantitativo, come riduzione delle drupe, ma soprattutto di tipo qualitativo; infatti, in presenza di elevata umidità ambientale nelle gallerie scavate dalle larve si insediano muffe che portano a un prodotto con minore resa in olio, con alta acidità e profili aromatici sgradevoli (Pollini, 2003). L'adulto compare generalmente in giugno e dopo circa una settimana dalla fuoriuscita, le femmine vengono fecondate e iniziano a ovideporre fino a 500 uova. Il periodo di incubazione è di circa 2-3 giorni ma varia in base alla temperatura; le larve neonate cominciano subito l'attività trofica scavando una galleria all'interno della drupa che finisce ad interessare tutta la parte intorno al nocciolo. Il periodo di sviluppo larvale dipende dalla temperatura ambientale e va da due settimane a più di tre mesi. La durata di un'intera generazione in estate può essere inferiore al mese, mentre in autunno questa può arrivare fino a tre-quattro mesi. La mosca delle olive può compiere da due a sette generazioni all'anno e l'entità del danno può variare in funzione dell'andamento



meteorologico e anche in base alla cultivar, al carico produttivo e alla presenza di nemici naturali. In generale gli anni più problematici sono quelli caratterizzati da estati umide e con temperature medie non troppo alte. Le temperature sopra i 35°C possono essere letali per le uova mentre gli adulti esposti a tali temperature mostrano ridotta fecondità. La lotta alla mosca delle olive è un argomento ampiamente studiato e caratterizzato da molteplici difficoltà legate alla biologia dell'insetto, come ad esempio la longevità, l'alta mobilità, l'elevato numero di uova deposte da ciascuna femmina, l'alto numero di generazioni compiute e alla molteplicità di situazioni agronomiche nel quale viene coltivato l'olivo. Ne è un esempio la difficoltà operativa incontrata dai metodi di Miraci and kilt (metodi adulticidi basati sull'apposizione in campo di trappole impregnate con insetticidi) che richiedono ampie superfici non sempre riscontrabili in Italia. Riguardo alla lotta con metodi larvicidi, invece, la situazione attuale è fortemente segnata dal modesto numero di sostanze attive, utilizzabili allo scopo di colpire le giovani larve nelle prime fasi di sviluppo. Il numero delle sostanze attive è ancor più ridotto in ambito di agricoltura biologica. L'obiettivo delle prove di questo lavoro è stato quello di valutare l'efficacia nel controllo di B. dare nei nostri areali di un nuovo formulato contenente il 100% di caolino. Il caolino (silicato di alluminio) è stato incluso in Allegato I della Direttiva 91/414/CE (rif. Direttiva 2008/127/CE) nel 2009 ed è inserito nel regolamento (CE) n. 889/2008 che ne autorizza l'uso in agricoltura biologica. Il caolino, inoltre può essere commercializzato in questo momento in Italia come «Corroborante potenziatore delle difese delle piante» secondo la normativa nazionale di cui al decreto del Presidente della Repubblica n. 290/01 e s.m.i., del relativo decreto ministeriale n. 4416 del 22 aprile 2013 e secondo la denominazione di polvere di roccia. La produzione del caolino inizia dall'estrazione del minerale grezzo; questo viene quindi separato dalle impurità (sabbia ecc.), lavato e processato tramite fine micronizzazione al fine di



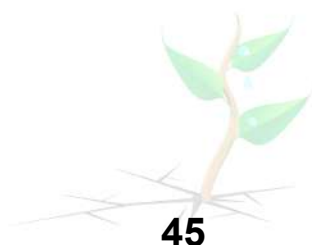
ottenere un prodotto in polvere di colorazione bianca. Il meccanismo di azione del caolino è prettamente fisico. Una volta distribuito sulla vegetazione, forma una barriera repellente che agisce preventivamente andando a disincentivare l'ovideposizione. In aggiunta è stato ipotizzato un effetto di disturbo visivo dato dal colore stesso del prodotto e dalla capacità del caolino di riflettere la luce in modo da inficiare l'orientamento degli insetti e la loro capacità di riconoscere i frutti. Alla luce delle recenti revisioni dei formulati per il controllo della *B. oleae*, si prospetta una doverosa riorganizzazione della difesa fitosanitaria contro questo insetto. I risultati ottenuti nelle prove riportate dimostrano come la nuova formulazione a base di caolino, Baikal WP, possa costituire un ulteriore efficace strumento di controllo. Tra i principali vantaggi legati all'uso del prodotto vanno ricordati la possibilità di inserimento in strategie di difesa integrata, la piena selettività verso la coltura, il facile impiego e l'assenza di residui in quanto non è richiesto alcun Limite Massimo di Residuo.



## Caso 7 - Attività insetticida dell'idrolato di *Monarda didyma*

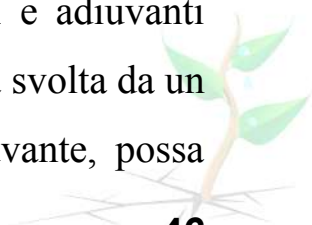
*Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) è uno dei fitofagi maggiormente dannosi in coltura protetta in quasi tutte le aree geografiche del mondo. Possiede elevata polifagia e compie un elevato numero di generazioni in funzione delle condizioni ambientali. Le infestazioni hanno luogo sulla pagina inferiore delle foglie e provocano deperimenti vegetativi, ingiallimenti e disseccamenti fogliari. Il danno maggiore è causato dagli stadi giovanili che, al pari degli adulti, esercitano la loro attività trofica a carico della linfa elaborata; sulla vegetazione infestata si accumula abbondante melata con conseguente sviluppo di fumaggini. *T. vaporariorum* è inoltre un potenziale e temuto vettore di virus. Le attuali strategie di controllo prevedono l'integrazione di diversi metodi: cattura massaie degli adulti, tramite collocazione di pannelli cromo attrattivi di colore giallo; lotta biologica realizzata mediante lanci inondativi e inoculativi del parassitoide *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae); applicazione di insetticidi di sintesi. L'impiego massiccio e ripetuto di molecole di sintesi, però, oltre a favorire la comparsa di popolazioni resistenti, fornisce sovente risultati scarsi, soprattutto in caso di forte infestazione. Nell'ambito delle tecniche di difesa alternative ai fitofarmaci di sintesi, gli oli essenziali (OE) mostrano interessanti potenzialità per il controllo degli insetti. Recenti sperimentazioni hanno evidenziato anche per gli idrolati (Id) (sottoprodotto del processo di distillazione in corrente di vapore degli OE), una certa attività antimicrobica, per il loro contenuto in terpeni ossigenati ed altre molecole idrofiliche seppur in concentrazione alquanto inferiore rispetto all'OE. A differenza di questi ultimi, gli Id possiedono però il vantaggio di essere più facilmente somministrabili (ad esempio sulla vegetazione), senza la necessità di disperderli in un mezzo emulsionante. Alcune sperimentazioni condotte negli ultimi anni presso il Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-alimentari

(DISTAL) dell'Università di Bologna, hanno dimostrato l'efficacia di OE e Id estratti da specie diverse di *Monarda* spp. (Lamiaceae) in ambito microbiologico e fitopatologico. In particolare, quelli di *M. didyma* si sono rivelati efficaci in vitro e in vivo nel contrastare *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*, agente del cancro batterico del kiwi. L'Id di *Al. fistulosa*, per le sue proprietà antimicrobiche (è a chemiotipo timolo e carvacrolo), è risultato essere un valido sostituto di molecole antibiotiche normalmente aggiunte nei substrati di coltivazione di insetti utili, fra cui *Exorista larvarum*. OE di *Monarda* spp. sono stati inoltre saggiati con successo su nematodi fitoparassiti di interesse agrario, responsabili di forti perdite economiche nelle colture in pieno campo. Considerando che l'attività insetticida di gran parte delle molecole presenti nell'OE e Id di *Monarda* spp. è ampiamente dimostrata in bibliografia, e considerando che nessuna analoga sperimentazione è stata prima d'ora condotta, si è deciso di estendere lo studio all'ambito entomologico. L'obiettivo del presente lavoro è stato pertanto quello di valutare l'efficacia insetticida dell'Id di *M. didyma* nei confronti di *T. vaporariorum*, attraverso biosaggi condotti in serra climatizzata direttamente su piante aromatiche, orticole ed ornamentali infestate. Il potere abbattente dell'Id sulla popolazione dell'aleurodide è stato inoltre messo a confronto con l'efficacia insetticida di due prodotti commerciali: Prev-Amt Plus (insetticida-fungicida a base di OE di arancio dolce, registrato in Italia dal 2015 su diverse colture) e Agricolle (insetticida-acaricida di origine organica a base polisaccaridica, esente dalla registrazione prevista dalla Dir. 91/414/CEE in quanto non considerato prodotto fitosanitario).



## Caso 8 - Biocoadiuvanti

Il rame è impiegato nella difesa fitosanitaria di molteplici colture agrarie a causa della sua attività fungicida e battericida. L'impiego di questo metallo pesante si accompagna con un costante accumulo nel suolo agrario che sta generando problemi di impatto ambientale. Va considerato che fra tutti i settori produttivi, la viticoltura, in modo speciale quella biologica, per diffusione e superficie investita necessita di quantità consistenti di rame per il contenimento della peronospora, causata dall'oomicete *Plasmopara viticola*. Allo stato attuale non sono disponibili sul mercato principi attivi alternativi al rame in grado di contenere la malattia con la stessa efficacia. In annate di elevata pressione epidemica da parte dell'oomicete si può determinare, se non contenuto tempestivamente, la totale compromissione/perdita della produzione. Il numero e l'intervallo delle applicazioni di rame dipendono dalla fase fenologica, dal rischio di infezione, dalla pressione della malattia e dalla qualità della distribuzione sulle foglie. Formulazione e adiuvanti potrebbero svolgere un ruolo importante nel migliorare la biodisponibilità e regolare la frequenza di applicazione. L'aggiunta di un adiuvante appropriato ad un fungicida fogliare può migliorare significativamente la copertura, l'assorbimento, l'efficacia e può ridurre la quantità totale applicata a stagione. Coadiuvanti antiparassitari sono additivi usati per molti scopi: aumentare la persistenza sulle foglie ; regolare l'assorbimento, ritenzione spray, resistenza alla pioggia, perdite fogliari di deflusso, evaporazione e diffusione e traslocazione di prodotti fitosanitari. L'adiuvante può influenzare l'efficacia degli agrofarmaci ottenendo benefici economici e ambientali. Per quanto riguarda la vite, è stato riportato l'effetto sulle foglie di vite e l'efficacia verso Botto/11s cinerea di soli 3 tensioattivi. Sono stati pubblicati lavori sull'interazione tra fungicidi rameici e adiuvanti sugli agrumi. Questo lavoro ha avuto l'obiettivo di studiare l'attività svolta da un nuovo prodotto a base polisaccaridica che, utilizzato come adiuvante, possa



ridurre la quantità di rame necessaria per contenere la peronospora della vite. A tale scopo, sono state condotte due prove di campo con l'obiettivo di: (i) valutare l'effetto dell'ossicloruro di rame associato con il prodotto a base di galattomannani da carrube (di seguito PSS) sull'efficacia nel controllo di P. viticola; (ii) ridurre la quantità totale di rame utilizzata; (iii) valutare la persistenza del rame quando associato al PSS su superficie fogliare e grappoli. Dai risultati è stato dimostrato che l'ossicloruro di rame non viene imprigionato da PSS, permettendogli di esplicare attività fitoiatrica nei confronti delle malattie fungine. PSS può essere assimilato ad un adesivante, migliorando la persistenza del rame (e dei principi attivi non sistemici) sulla superficie del bersaglio. L'adiuvante proposto è biodegradabile, con impatto ambientale nullo. Si ritiene, che sia la prima volta che un composto derivato dai galattomannani venga impiegato come adiuvante in trattamenti con fungicidi. Ulteriori studi sono in corso per confermare i risultati ottenuti su vite e in altri sistemi ospite-patogeno, per comprendere in modo più approfondito i meccanismi alla base dell'interazione tra rame-PSS. Pertanto, nel prossimo futuro vi potrebbero essere ulteriori informazioni a supporto di quanto viene presentato in via preliminare.



