NOTE TECNICHE

Monitorare lo sviluppo della popolazione del parassitoide *Anastatus bifasciatus* e la sua efficacia nel contenimento delle popolazioni di cimice asiatica (*Halyomorpha halys*)

Realizzazione a cura di RINOVA, Enrico Gabrielli e APOFRUIT nell'ambito dei progetti di ricerca presentati da AOP Gruppo VIVA nel Programma Operativo Pluriennale 2023-2029 "Innovazione delle tecniche colturali e miglioramento qualitativo dei prodotti ortofrutticoli dei soci Aop Gruppo Vi.Va. – acronimo ricerca Viva", Reg.2021/2115 e successive normative attuative - Sotto-progetto n.09 "Tecniche innovative di difesa biologica per il contrasto alla cimice asiatica"

UNIONE EUROPEA
Fondo Europeo Agricolo per lo Sviluppo Rurale

Regione Emilia-Romagna

INDICE

1. CIMICE ASIATICA: ECOLOGIA, BIOLOGIA E ANTAGONISTI 2
Morfologia adulti 2
Ciclo biologico 2
Feromoni di aggregazione 3
Ecologia 3
Danni 4
Nemici naturali 4
2. MONITORARE LO SVILUPPO DELLA POPOLAZIONE DEL PARASSITOIDE ANASTATUS BIFASCIATUS E LA SUA EFFICACIA NEL CONTENIMENTO DELLE POPOLAZIONI DI CIMICE ASIATICA (HALYOMORPHA HALYS) TERRA, PREPARAZIONE DEL TERRENO E COLTIVAZIONE 5
L'analisi della parassitizzazione delle ovature di cimice asiatica avviene attraverso la ricerca di ovature naturalmente deposte dalla cimice asiatica sulla vegetazione. 5
Protocollo di monitoraggio 8
Identificare le aree più adatte per la ricerca delle ovature 9
Cosa fare dopo il ritrovamento di una ovatura di cimice asiatica 14
Gestione delle informazioni e dei dati 16
Le ovature di *Halyomorpha halys*: come riconoscere lo stato delle uova 17
Gestione delle ovature di cimice asiatica 19
Parassitoidi sfarfallati dalle ovature in laboratorio 20
Interpretazione delle ovature 22
Analisi dei dati 25

1. CIMICE ASIATICA: ECOLOGIA, BIOLOGIA E ANTAGONISTI

Halyomorpha halys Stål (Hemiptera: Pentatomidae), nota anche come cimice asiatica, è un fitofago polifago, altamente invasivo, originario del sud-est asiatico. In Italia è stato riscontrato per la prima volta nel 2007 nei dintorni di Genova. Nel 2012 è stato dimostrato il suo insediamento sul territorio nazionale, che oggi è per gran parte occupato da questo insetto.

(*Bibliografia: Note tecniche per la gestione della cimice asiatica (Halyomorpha halys) stagione 2023*)

MORFOLOGIA ADULTI

Gli individui adulti sono di dimensioni comprese tra 1,2 e 1,7 cm di lunghezza, e tra 0,7 e 1 cm di larghezza, con tipica conformazione a scudo subpentagonale (donde il nome della famiglia: pentatomide). I maschi si differenziano per la presenza di una particolare appendice a fibbia nella parte inferiore dell'ultimo segmento addominale, funzionale ad afferrare le femmine durante l'accoppiamento. *H. halys* può essere generalmente confusa con *Raphigaster nebulosa* (Hemiptera: Pentatomidae), una cimice autoctona. È tuttavia possibile distinguere *H. halys* per la forma rettangolare del capo, le antenne con due segmenti chiari, macchie colore avorio ben distinte su pronoto e scutello, venature scure sulla parte membranosa delle emielitre, assenza di spina addominale, e zampe con striature scure.

(Bibliografia: Note tecniche per la gestione della cimice asiatica (Halyomorpha halys) stagione 2023)

CICLO BIOLOGICO

H. halys può compiere 1-2 generazioni all'anno in relazione al clima. In Emilia-Romagna ne compie 2, parzialmente sovrapposte, con contemporanea presenza in campo dei diversi stadi di sviluppo nel periodo estivo. Tipicamente dalla terza decade di settembre fino a novembre, in corrispondenza di un fotoperiodo con un numero di ore di luce giornaliere inferiore a 13,5 e dell'abbassamento delle temperature, gli adulti si aggregano in rifugi naturali (es. nelle fessure della corteccia delle piante) e/o artificiali (edifici e altre strutture rurali) ed entrano in diapausa.

A fine inverno-primavera, con l'innalzamento delle temperature, gli adulti fuoriescono gradualmente dalla fase di svernamento per raggiungere la vegetazione più vicina, dove si nutrono. L'uscita dai siti di svernamento raggiunge il suo picco solitamente tra aprile e maggio e si osservano i primi accoppiamenti due settimane dopo l'uscita dallo svernamento, periodo in cui gli adulti raggiungono la maturità sessuale.

Queste cimici sono assai promiscue e si accoppiano più volte nel corso della vita. Tra giugno e luglio le femmine fecondate depongono gruppi di circa 28 uova, dette ovature, nella pagina inferiore delle

foglie. Mediamente una femmina è in grado di deporre dalle 2 alle 15 ovature nell'arco di tre mesi (in media 250 uova/femmina). Le singole uova sono di forma ovale di circa 1 mm di diametro, la colorazione verde chiaro tipica di quelle appena deposte vira successivamente al bianco.

H. halys presenta cinque stadi giovanili con tempi di sviluppo che variano in relazione alla temperatura. A temperature di 23-25°C, le neanidi di prima età nascono dopo circa 4-6 giorni dalla ovideposizione e rimangono sulle uova per acquisire i microrganismi endosimbionti intestinali necessari per la crescita (*Pantoea carbekii*). Dopo circa 3-5 giorni, mutano alla seconda età disperdendosi nell'ambiente circostante e nutrendosi direttamente delle piante ospiti. In Italia settentrionale, con le attuali temperature estive medie, il ciclo di sviluppo da uovo ad adulto impiega circa 40 giorni.

Gli adulti svernanti possono sopravvivere fino ad un anno, mentre quelli della generazione estiva vivono in media 2-3 mesi e generano gli individui adulti che entreranno in svernamento.

(*Bibliografia: Note tecniche per la gestione della cimice asiatica (Halyomorpha halys) stagione 2023*)

FEROMONI DI AGGREGAZIONE

I maschi adulti emettono un feromone che induce l'aggregazione degli individui di entrambi i sessi e degli stadi giovanili. I feromoni, per questo detti di aggregazione, hanno la funzione di segnalare agli insetti potenziali fonti di cibo. I feromoni di aggregazione sono attivi dall'uscita fino all'entrata nello svernamento. Tale feromone unito ad un composto ad azione sinergica (il feromone emesso dalla cimice asiatica *Plautia stali* - Hemiptera: Pentatomidae) viene utilizzato come attrattivo nelle trappole per il monitoraggio di *H. halys*. Il corteggiamento è invece mediato da segnali vibrazionali a corto raggio emessi e percepiti da entrambi i sessi sulle piante.

(*Bibliografia: Note tecniche per la gestione della cimice asiatica (Halyomorpha halys) stagione 2023*)

ECOLOGIA

H. halys è una specie altamente polifaga, capace di alimentarsi su diverse piante ospiti per completare il ciclo di sviluppo. È di fatto in grado di nutrirsi su più di 300 specie vegetali, tra cui colture economicamente importanti su cui può arrecare danni come ad esempio pero, pesco, melo, actinidia, noce, nocciolo, ciliegio, albicocco, mais, soia, e diverse orticole (pomodoro, peperone, melanzane, ecc.) nonché piante non coltivate, ornamentali e forestali fra cui in particolare frassino, ailanto, paulonia, acero, robinia, sanguinello. Queste ultime sono in grado di fornire alle cimici cibo e riparo sia all'uscita-entrata in svernamento che durante tutto il periodo estivo, e offrono siti ottimali per la deposizione delle uova. La cimice asiatica è una specie estremamente mobile con un'elevata capacità di dispersione, e compie movimenti continui tra le colture e tra queste e le aree non coltivate (zone rifugio). Gli adulti sono in grado di volare per 2 km al giorno in media (ma possono superare anche 100 km), mentre gli stadi giovanili possono percorrere oltre 20 m al giorno.

(*Bibliografia: Note tecniche per la gestione della cimice asiatica (Halyomorpha halys) stagione 2023; L'Informatore Agrario 26/2023 articolo "Cimice Asiatica, risultati positivi con il controllo biologico*)

DANNI

Sia gli adulti che gli stadi giovanili, eccetto la prima età, si nutrono a spese di diversi organi vegetali, per lo più frutti e semi in via di maturazione, mediante un apparato boccale pungente-succhiante. I danni quali-quantitativi, sia diretti che indiretti, sono spesso ingenti.

Generalmente, le colture prossime ai siti di svernamento e/o ad aree boschive sono quelle a maggior rischio.

In Emilia-Romagna, *H. halys* colpisce la maggior parte delle specie coltivate che fruttificano da maggio a ottobre, determinando danni differenti a seconda della pianta. Sulle drupacee si riscontrano decolorazioni e/o aree infossate, mentre sulle pomacee, pero in particolare, si hanno depressioni sulla buccia e suberificazioni dei tessuti nella polpa sottostante. Attacchi precoci possono causare aborto fiorale, profonde deformazioni e cascola. Su actinidia le punture determinano suberificazioni dei tessuti del mesocarpo e spesso cascola dei frutti più colpiti (in particolare nelle varietà a polpa gialla).

Sui frutti di piante orticole come pomodoro, peperone, melanzana e fagiolino, l'attività della cimice produce tessuti decolorati e spugnosi.

NEMICI NATURALI

Nell'areale d'origine di *H. halys* sono presenti numerosi nemici naturali, tra cui diversi aracnidi e insetti predatori generalisti, imenotteri parassitoidi, funghi entomopatogeni (*Ophiocordyceps nutans*) e virus (*PSIV Plautia stali intestinal virus*). Sembra tuttavia che il ruolo chiave nella limitazione delle popolazioni di cimice asiatica sia a carico degli imenotteri parassitoidi oofagi (cioè in grado di ovideporre e svilupparsi entro le uova dell'ospite) appartenenti ai generi *Trissolcus, Telenomus* (Scelionidae) e *Anastatus* (Eupelmidae). Tra questi, le specie più efficaci sono *Trissolcus japonicus*, conosciuto anche come vespa samurai, soprattutto in Cina e *Trissolcus mitsukurii* in Giappone. Popolazioni avventizie di entrambi questi parassitoidi sono state rinvenute recentemente in Italia.

A partire da giugno 2020, *T. japonicus* è stato scelto per il programma di lotta biologica classica alla cimice asiatica, con il suo conseguente rilascio sul territorio italiano, Emilia-Romagna compresa.

In Europa, si è osservato che alcune specie di predatori generalisti, come formiche, cimici predatrici e alcuni ortotteri, sono in grado di nutrirsi di uova, adulti e soprattutto di stadi giovanili di cimice asiatica.

In Europa è inoltre presente ***Anastatus bifasciatus*** (Hymenoptera: Eupelmidae), parassitoide autoctono in grado di svilupparsi sulle uova di cimice asiatica, che è attualmente la specie più diffusa e abbondante in Emilia-Romagna. Questo parassitoide è un generalista non specializzato su cimice asiatica, con un ampio spettro di ospiti, fra cui ovature di diverse cimici e alcuni lepidotteri. Ciononostante, risulta essere la specie più frequentemente rinvenuta parassitizzare le ovature della cimice asiatica, benchè non è in grado di parassitizzare l'intera ovatura, come invece accade con le specie esotiche *T. japonicus* e *T. mitsukurii*.

(*Bibliografia: Note tecniche per la gestione della cimice asiatica (Halyomorpha halys) stagione 2023; L'Informatore Agrario 26/2023 articolo "Cimice Asiatica, risultati positivi con il controllo biologico*)

2. MONITORARE LO SVILUPPO DELLA POPOLAZIONE DEL PARASSITOIDE ANASTATUS BIFASCIATUS E LA SUA EFFICACIA NEL CONTENIMENTO DELLE POPOLAZIONI DI CIMICE ASIATICA (HALYOMORPHA HALYS) TERRA, PREPARAZIONE DEL TERRENO E COLTIVAZIONE

Queste note tecniche sono redatte per facilitare il processo di monitoraggio sulla parassitizzazione di ovature di cimice asiatica a seguito dell'introduzione di parassitoidi oofagi come *Anastatus bifasciatus* per la lotta biologica a questo fitomizo. Sapendo che la parassitizzazione delle ovature di cimice può essere dovuta più specie di parassitoidi, per la corretta determinazione della specie di parassitoide che emergono dalle uova di cimice, potrebbe essere necessario richiedere il supporto di un esperto tassonomista.

L'ANALISI DELLA PARASSITIZZAZIONE DELLE OVATURE DI CIMICE ASIATICA AVVIENE ATTRAVERSO LA RICERCA DI OVATURE NATURALMENTE DEPOSTE DALLA CIMICE ASIATICA SULLA VEGETAZIONE.

Il ritrovamento di un'ovatura di cimice non è una questione meramente di fortuna, come si potrebbe immaginare, ma è il frutto di un impegno costante e attento, di prove ed errori nel ricercare le zone più adatte, cercando di leggere il paesaggio vegetazionale, e progettando i periodi di ricerca.

L'efficacia di ritrovamento delle ovature deposte naturalmente è molto variabile in rapporto al tipo di vegetazione, alla posizione rispetto ai luoghi di svernamento e di alimentazione delle cimici, alla fase di sviluppo delle popolazioni di cimice, nonché alle condizioni metereologiche dei giorni della ricerca.

Non è consigliato affidarsi all'uso di uova sentinella, ovvero l'immissione artificiale in punti precisi, di ovature deposte da cimici asiatiche allevate in cattività, sia fresche che preventivamente surgelate, in quanto è scientificamente dimostrato che su queste la parassitizzazione è minore rispetto alle ovature deposte naturalmente. Non è consigliabile neppure l'uso di cimici asiatiche

femmine pronte a deporre all'interno di manicotti di rete fissati ai rami, in quanto le stesse cimici potrebbero predare le uova deposte.

Per svolgere un monitoraggio efficace è utile poter disporre di informazioni innanzitutto sul livello di presenza di cimici nel territorio di indagine. Questa informazione è cruciale per non vanificare gli sforzi e può essere basata dalle indicazioni di tecnici e agricoltori che operano nell'area. È opportuno inoltre conoscere le caratteristiche del paesaggio, identificato attraverso sopralluoghi preliminari. Sarà facilitato chi ha già esperienze pregresse in altri contesti simili.

È necessario comunque svolgere uno o più sopralluoghi prima di iniziare la ricerca delle ovature. L'esperienza di campo porta ad indicare alcuni fattori chiave da considerare per l'interpretazione del paesaggio vegetazionale e indirizzare la ricerca delle ovature di cimice:

- Le essenze vegetali presenti: la cimice asiatica depone le uova principalmente sulla pagina inferiore delle foglie di un gran numero di specie di piante, principalmente arbustive ed arboree, con alcune preferenze, specie nel nord Italia, di alcune essenze fra cui: acero, gelso, olivo, tiglio, ailanto, sanguinello, nocciolo, paulonia (*Paulownia*). Le piante di paulonia e di acero sono probabilmente quelle che risultano più attrattive per la deposizione delle uova e quindi quelle su cui la ricerca di ovature e più facile.

  Nel corso dei rilievi svolti nell'estate del 2024 nell'ambito del **progetto OCM AoP Viva "Tecniche innovative di difesa biologica per il contrasto alla cimice asiatica"** le 300 ovature di cimice asiatica trovate, sono state rilevate sulle seguenti essenze vegetali: 22% su aceri (campestre, negundo, pseudoplatanus), 10% su paulonia, più del 7% su tiglio, 7% su Ailanto, 6% su nocciolo, 5% su olivo, 4% su sanguinello, 2% su giuggiolo, 2% su gelso.

Gli aceri campestri per la loro attrattività e le loro foglie distese sono una delle essenze ideali per la ricerca delle ovature di cimice.

Siepe larga multistrato vicino ad un corso idrico. Generalmente queste sono zone di ricerca ideali.

- L'esposizione al sole, la vicinanza a zone umide, e la protezione ai venti della vegetazione potenzialmente interessante per la ricerca. La cimice asiatica preferisce luoghi relativamente ombreggiati e allo stesso tempo riparati dal vento. Una larga siepe o un filare alberato presentano spesso il lato più ombreggiato maggiormente ricco di ovature rispetto al lato più soleggiato, e questo vale anche in rapporto alle direzioni principali dei venti di maggiore intensità. Nelle vicinanze di fonti umide quali laghetti, corsi d'acqua, canali e fossi la presenza di ovature tende ad essere maggiore.
- L'estensione della vegetazione potenzialmente interessante: un bosco con molte essenze attrattive o anche un frutteto biologico potrebbero non essere aree in cui è facile trovare ovature, perché la ampia area su cui le ovature sono diffuse riduce proporzionalmente la probabilità di trovarle, benchè possano essere zone ideali per la ovideposizione della cimice. A volte una siepe o un albero isolato in un paesaggio senza altre infrastrutture ecologiche può dare maggiori risultati nella ricerca.
- L'altezza della vegetazione: per ricercare le ovature, tipicamente deposte nella pagina inferiore delle foglie, il lato inferiore delle foglie deve essere ben visibile. Una siepe fitta o alberi con le prime fronde molto alte sono praticamente impossibili da controllare.

In conclusione, la vegetazione "ideale" su cui cercare le ovature di cimice è una siepe alberata composta in prevalenza da essenze attrattive e con fronde che superino l'altezza d'uomo ma non eccessivamente, con una parte in ombra, riparata dal vento, vicina a una fonte di acqua (es. laghetto, fosso), al margine di coltivazioni attrattive per l'alimentazione delle cimici.

Comunque, anche in queste condizioni "ideali" l'efficacia della ricerca non è omogenea, e a volte un particolare punto della siepe può rivelarsi più fruttuoso di un altro, conseguentemente è importante mantenere una costante attenzione per tutto il tempo della ricerca.

Acero negundo isolato. Di frequente una essenza attrattiva isolata è un ottimo luogo per la ricerca di ovature di cimice.

Siepe fitta e cipressi. Non rappresenta un luogo proficuo per la ricerca di ovature di cimice asiatica.

PROTOCOLLO DI MONITORAGGIO

Per procedere in modo accurato alla verifica della parassitizzazione delle ovature di cimice asiatica e quindi per verificare l'efficacia della lotta biologica, è necessario definire un protocollo di monitoraggio.

A titolo esemplificativo si riporta il protocollo definito nell'ambito del **progetto "Tecniche innovative di difesa biologica per il contrasto alla cimice asiatica"**.

Su un'area di circa 100 ettari sono stati individuati 10 siti in cui eseguire il lancio del parassitoide, negli stessi siti è stato svolto il monitoraggio sulle ovature. In un'altra area limitrofa di uguali dimensioni in cui non sono stati svolti i lanci del parassitoide, definita zona testimone per poter svolgere un confronto, sono stati identificati altrettanti punti (10) di monitoraggio.

Il periodo dei rilievi va da metà giugno a fine settembre, 1 rilievo ogni 2 settimane circa.

Ogni rilievo in ciascun punto di monitoraggio si è previsto possa impegnare 1 persona per circa 1-1,5 ore. Ci possono essere grandi variazioni nel tempo di rilievo per ciascun monitoraggio a seconda del sito e del periodo.

Per ciascuna area si è ipotizzato di individuare almeno 100 ovature, stimando un ritrovamento di almeno 1 ovatura/ora.

Nel 2024 nel progetto sopracitato il monitoraggio ha visto l'individuazione di circa 150 ovature di cimice asiatica per ciascuna area.

IDENTIFICARE LE AREE PIÙ ADATTE PER LA RICERCA DELLE OVATURE

Esempio di Mappa con i punti di monitoraggio in un'area della provincia di Forlì-Cesena.
In bianco i siti corrispondenti all'area di introduzione di ***Anastatus bifasciatus*** *ed in blu i siti di campionamento esterni all'area di lancio e considerati come testimone.*

Sebbene la specie a cui è rivolto il monitoraggio sia la cimice asiatica, per poter raccogliere dati sui parassitoidi delle cimici ed in particolare di quelli generalisti, come *A. bifasciatus*, è utile monitorare anche le ovature di altre cimici, fra cui in particolare cimici pentatomidi, Reduvidi e Coreidi.

Nella ricerca di ovature di cimice asiatica è facile riscontrare quelle di altre cimici, benchè questo rappresenti un ulteriore sforzo, può essere utile seguire anche queste per comprendere le dinamiche di riproduzione di parassitoidi come l'Anastatus.

Ma innanzitutto è necessario saper identificare le ovature delle varie cimici in campo.

Halyomorpha halys. A sinistra uova sane (bianche) e parassitizzate (grigie).
A destra dettaglio di uova parassitizzate.

Di seguito sono rappresentate alcune foto delle specie della superfamiglia Pentatomoidea (uova con opercolo simili a quelle di *Halyomorpha*) più comunemente rilevabili nell'area Emiliano Romagnola.

Rhaphigaster nebuolosa. Cimice marmorata nostrana. Uova della stessa dimensione di *Halyomorpha.* Gruppi di 14 uova. Colore grigio madreperlaceo.

Graphosoma italicum

Cimice rosso-nera delle ombrellifere. Uova piccole, con una leggera peluria. Ovature da 14 uova.

Acrosternum spp. (prima e dopo la schiusura)

Cimice verde. Uova più piccole rispetto ad *Halyomorpha*. Gruppi da 18 a 28 uova. Colore beige.

Nezara viridula

Cimice verde. Uova molto più piccole rispetto ad *Halyomorpha*. Disposizione esagonale delle uova. Gruppi di 50-100 uova.

Sottofamiglia Asopinae

Cimice marmorizzata predatrice. Uova scure con micropili sviluppati.

Eurydema ornata

Cimice rossa delle crucifere. Piccole uova in due file parallele con disegno caratteristico.

Piezodorus lituratus

Cimice verde. Uova con due bande scure e un anello sull'opercolo, ordinate in due file.

Palomena prasina

Cimice verde. Uova leggermente più piccole di *Halyomorpha*. Comunemnete una ovatura è composta di 28 o 14 uova, ben ordinate. Le uova sono verdognole fino alla schiusura.

Carpocoris
Frequentemente deposte su steli di piante erbacee.

Superfamiglia Coreoidea (superfamiglia diversa dalle cimici di cui fa parte *Halyomorpha*) (prima e dopo la schiusura). Uova ellittiche, prive di opercolo. *Anastatus bifasciatus* in qualità di generalista può parassitizzare anche queste uova.

Superfamiglia Reduvidoidea (superfamiglia diversa dalle cimici di cui fa parte *Halyomorpha*) (prima e dopo la schiusura).
Cimici predatrici con uova allungate

Fori di sfarfallamento di esemplari di *Anastatus bifasciatus* da un'ovatura di Reduvide.

COSA FARE DOPO IL RITROVAMENTO DI UNA OVATURA DI CIMICE ASIATICA

Al ritrovamento di ogni ovatura è necessario fare immediatamente una **fotografia** con una buona definizione di immagine (meglio se con funzione supermacro e uso di diffusore flash per aumentare luminosità e nitidezza). Utile è la georeferenziazione del punto di ritrovamento per poter analizzare meglio, a posteriori, lo sviluppo e diffusione dei parassitoidi in una mappa.

Quello della fotografia in campo è un momento importante e difficile. Importante perché si fissa un momento (data, ora, punto gps) in una foto. Quell'ovatura potrà essere così ricontrollata dopo un tempo indefinito, in laboratorio se è stata raccolta o in campo se non raccolta; non si può prevedere il destino di quell'ovatura, ossia se schiuderanno cimici o parassitoidi, o se cadrà con il vento, verrà attaccata da funghi o predata, nei minuti, ore, giorni, successivi.

Allo stesso tempo rappresenta un aspetto delicato e talvolta difficile perché in campo fare una buona foto non è banale, quindi, si deve mettere in conto di dedicarci il tempo necessario.

Avere una buona macchina fotografica al nostro fianco ci dà anche modo di fotografare eventuali ooparassitoidi sulle ovature, ed è un avvenimento meno raro di quanto si possa immaginare, perché questi microimenotteri si soffermano per alcuni minuti sull'ovatura, per tastare le uova con le antenne prima di ovideporre. Ad esempio, *Anastatus* preda alcune uova succhiandole dopo averle punte con l'ovopositore per alimentarsi, e i *Trissolcus* si soffermano per fare da guardia all'ovatura dopo l'ovideposizione, o ancora i maschi dei *Trissolcus* sfarfallati per primi in un'ovatura attendono l'emersione delle femmine.

La raccolta fotografica continua anche nei controlli successivi, ad ogni fase di cambiamento dell'ovatura, in particolare all'emersione di cimici o di parassitoidi. Questo per avere di ogni ovatura diverse fotografie che aiutino nella interpretazione della parassitizzazione. Infatti, anche quando si trova un'ovatura da dove siano già emersi degli individui, il tipo di foro di emersione è caratteristico e può indicare se sia emersa una cimice o un parassitoide ed eventualmente a quale famiglia di parassitoidi faccia parte.

Un *Trissolcus* intento a ovideporre su un'ovatura al momento del ritrovamento.

Dopo 13 giorni dall'ovideposizione, i parassitoidi di *Trissolcus* sono sfarfallati.

Ogni ovatura deve essere codificata in maniera univoca. Un codice risultato utile per discriminare univocamente una ovatura può essere costituito dalla seguente combinazione: YYMMDDrinn, ovvero anno mese giorno + iniziali del rilevatore + numero progressivo dell'ovatura nel giorno.

Per esemplificare la prima ovatura trovata dal rilevatore (iniziali EG) il giorno 5 agosto 2024, avrà il codice 240805EG01. La seconda ovatura trovata dallo stesso rilevatore nello stesso giorno avrà il codice 240805EG02. A questo codice va aggiunto il codice del sito del rilievo, per motivi di praticità nell'analisi successiva dei dati. Quindi se il 5 agosto 2024 abbiamo iniziato il rilievo dal sito codificato L01 la prima ovatura ha il codice L01-240805EG01. Se dopo 45 minuti di rilievo il rilevatore ha

trovato 5 ovature in L01 e poi è passato a cercare nel sito L05, la prima ovatura nel nuovo sito sarà L05-240805EG06, ovvero la codifica univoca è il numero di ovature nel giorno, non per sito, questo perché può succedere che nella ricerca sul campo si possa passare senza soluzione di continuità da un sito di ricerca a un altro e quindi l'attribuzione del codice del sito è parzialmente soggettiva e modificabile.

Per seguirne la storia, le ovature raccolte vanno opportunamente raccolte con il proprio substrato (foglia) e conservate in falcon o petri codificate come sopra descritto in laboratorio.

In dettaglio la raccolta delle ovature va effettuata staccando la foglia con l'ovatura, e deponendola in piccoli contenitori trasparenti, con coperchi di rete fitta per consentire un po' di aerazione per evitare la formazione di muffe, e al contempo non permettere la fuoriuscita di eventuali microimenotteri parassitoidi che potrebbero emergere successivamente.

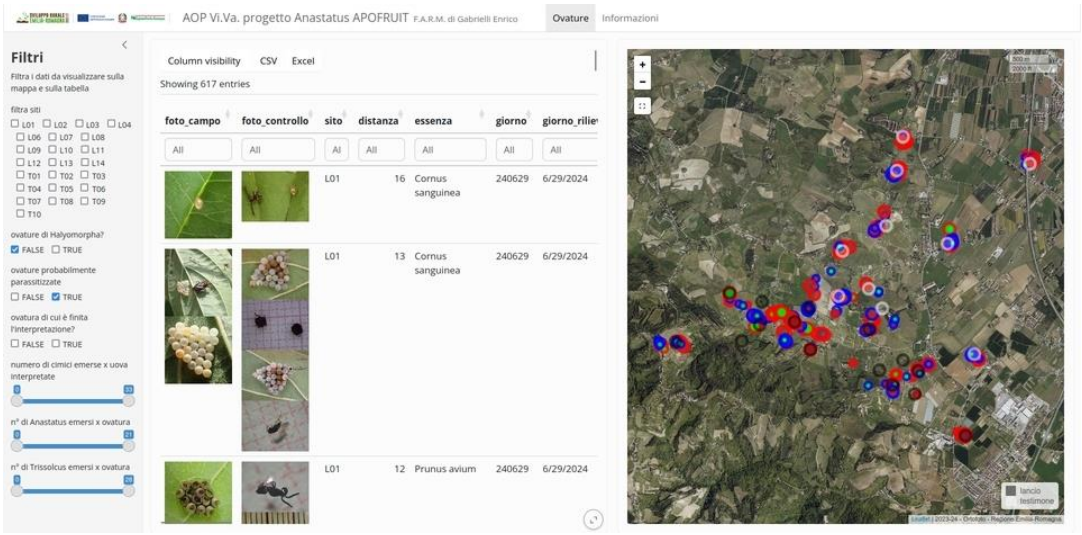
Le ovature vanno poi osservate regolarmente ogni 2-3 giorni, fino a escludere lo sgusciamento di giovani cimici che andrebbero a predare le uova non schiuse o parassitizzate. Gli adulti di parassitoidi sfarfallati dalle uova parassitizzate vanno conteggiati e determinati o debitamente conservati in provette e inviati al tassonomista.

GESTIONE DELLE INFORMAZIONI E DEI DATI

Tutti i dati di ciascuna ovatura (codice, posizione GPS, momento di ritrovamento, varie foto), vanno gestite accuratamente per non fare confusione o perdere elementi.

Un approccio utile può essere quello di utilizzare una piattaforma informatica che consenta di poter navigare nei dati agevolmente, filtrando e visualizzando le foto e la loro posizione su una mappa, per verificare la codifica del sito, e facilitare l'interpretazione delle ovature visualizzando tutte le foto in sequenza di ogni ovatura. Se la piattaforma è online, è possibile condividere le informazioni e le foto con collaboratori, esperti, committenti.

Di seguito un esempio di visualizzazione della piattaforma utilizzata nell'ambito **del progetto "Tecniche innovative di difesa biologica per il contrasto alla cimice asiatica"**.



La piattaforma informatica del progetto "Tecniche innovative di difesa biologica per il contrasto alla cimice asiatica: costruita in QUARTO HTML Document, utilizzando RStudio e un deployment del risultato grafico attraverso un servizio git)

LE OVATURE DI *HALYOMORPHA HALYS*: COME RICONOSCERE LO STATO DELLE UOVA

I dettagli da guardare nelle ovature:

- l'opercolo: è il coperchietto delle uova di cimici della superfamiglia dei Pentatomoidea, che si apre al momento della schiusura delle uova. E' circolare e circondato da piccoli peli, detti micropili. Una volta che una cimice è sgusciata lascia un foro perfettamente circolare. Se invece è emerso un parassitoide l'apertura è irregolare.
- Ruptur ovi: è il piccolo "apriscatole" che le neanidi di cimice usano per aprire l'opercolo. È nero e ha forma triangolare in Halyomorpha. La sua presenza è un indizio che è emersa una cimice, e non un parassitoide.
- Occhi e ruptur ovi in trasparenza: se l'uovo è ancora chiuso ma in trasparenza si vede già il ruptur ovi e due macchie che corrispondono agli occhi della neanide, significa che l'uovo è molto vicino a schiudere e a far sgusciare una cimice.
- Se in trasparenza l'interno dell'uovo è scuro molto probabilmente vi è un parassitoide in uno stadio avanzato di sviluppo
- Un punto nero sull'ovatura è spesso da interpretare come la puntura dell'ovodepositore del parassitoide (e.g., *A. bifasciatus*)
- Un'ovatura di cimice asiatica con le uova bianco perla indica che l'ovatura sia stata deposta da poco.

- Sono frequenti le ovature con residui di uova, ovvero uova che sono state predate, spesso sono ovature schiuse da un po' di tempo. Fra i predatori le formiche sono particolarmente attive verso le uova di cimice e possono cibarsi anche di uova ancora non schiuse.

Uova da cui sono sfarfallati dei parassitoidi. I fori sono irregolari e non sono presenti i ruptur ovi.

Uova da cui sono emerse neanidi di cimice. Sono evidenti diversi ruptur ovi.

Le due macchie rossastre sono gli occhi della neanide e la linea nera è l'ovi ruptur. Le uova stanno per schiudere.

In questo particolare si nota in trasparenza un interno scuro e piccole stilettate con un puntino nero. Le uova sono quasi sicuramente parassitizzate.

Uova di cimice asiatica appena deposte dal colore bianco perla.

GESTIONE DELLE OVATURE DI CIMICE ASIATICA

A seconda della storia indiziale dell'ovatura, ovvero se è stata appena deposta, o se è in prossimità della schiusura delle cimici o già in parte schiusa o se è stata parassitizzata, le uova si presentano diversamente e la gestione delle stesse richiede passaggi diversificati:

- se l'ovatura ha tutte le uova aperte, ossia sono già sgusciate le cimici e non presenta segni di sfarfallamento di parassitoidi (**Foto 1**), o è stata divorata da predatori (ad esempio formiche) (**Foto 2**), non va conservata e si può buttare per terra, per evitare di reincontrarla e monitorarla nuovamente in un rilievo successivo.
- Se l'ovatura ha tutte o buona parte delle uova aperte a seguito dello sfarfallamento di parassitoidi, va raccolta e portata in laboratorio (**Foto 3**). Potrebbe essere utile inviare questa ovatura ad esperti di parassitoidi in grado si identificare dal foro di uscita la famiglia o genere del parassitoide. Andrà anche ricontrollata in laboratorio perché potrebbero emergere altri parassitoidi se le uova non erano tutte vuote.
- Se l'ovatura non ha tutte le uova aperte, e presenta in trasparenza segni che l'ovatura non è fresca, andrà raccolta e portata in laboratorio.
- Se nell'ovatura nessun uovo è schiuso, e pare essere abbastanza fresca di deposizione, allora può essere opportuno lasciarla sul posto, perché potrebbe ancora essere visitata da un parassitoide. Va comunque georeferenziata e segnalata con un nastro colorato su cui

indicare il codice identificativo per poterla ricontrollare dopo una settimana. Ci si aiuterà con la posizione GPS e il nastro colorato per il suo ritrovamento.

Foto 1 - Ovatura di cimice asiatica con 28 uova schiuse di cimice. Una volta fotografata si può buttare.

Foto 2 - Uova di cimice asiatica da cui probabilmente sono schiuse delle cimici, ma essendo state anche predate non è possibile fare una interpretazione certa.

Foto 3 - Ovatura di cimice asiatica da cui sono sfarfallati parassitoidi. Da portare ad esperti.

PARASSITOIDI SFARFALLATI DALLE OVATURE IN LABORATORIO

Dalle ovature raccolte potranno nascere dei parassitoidi. *A. bifasciatus* ha un ciclo giovanile all'interno dell'uovo parassitizzato molto lungo, fino a 30-40 giorni, mentre il ciclo di *Trissolcus*, tra cui la cosiddetta vespa samurai, è più breve, circa 10-15 giorni. Le ovature raccolte e portate in laboratorio vanno quindi controllate regolarmente, indicativamente ogni 2-3 giorni, per un tempo

relativamente lungo, fino a 30-40 giorni se si presume ci possano essere uova parassitizzate da *A. bifasciatus*.

Un campione dei parassitoidi sfarfallati da queste uova va determinato e quindi portato eventualmente a esperti tassonomisti per l'identificazione della specie. Se possibile gli adulti di parassitoidi sfarfallati non necessari a questo scopo andrebbero rilasciati, entro un paio di giorni dallo sfarfallamento, nell'area da cui provengono le ovature, per mantenere il più possibile il potenziale di lotta biologica in situ.

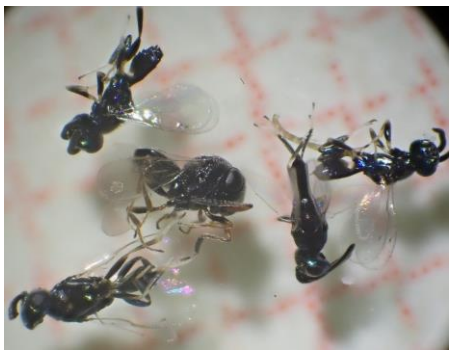
Nella maggior parte dei casi i parassitoidi che sfarfallano da una ovatura appartengono ad una sola specie, ma non è raro vi sia anche una presenza di più specie.

L'isolamento di uno o più adulti vivi di parassitoidi per raccogliere un campione da inviare all'esperto si può eseguire grazie ad un piccolo aspiratore entomologico.

Qualora si voglia avere un esatto e completo quadro dei parassitoidi sfarfallati da un'ovatura di cimice asiatica, è sufficiente lasciare il contenitore con l'ovatura ed i parassitoidi sfarfallati in freezer per pochi minuti, in questo modo i microimenotteri si intorpidiscono e sono facilmente trasferibili in una capsula petri o altro contenitore per un controllo allo stereomicroscopio. Dopo il controllo e/o l'isolamento di un campione (sempre con un aspiratore entomologico), gli individui possono essere reintrodotti nel sito da cui proviene l'ovatura.

Se non si hanno le attrezzature adatte e si è incerti nell'operazione si consiglia di portare tutti i parassitoidi ad un esperto.

Gli individui campionati possono essere inviati ad un esperto tassonomo ponendoli in alcool 75% in microprovetta Eppendorf da 1.5 ml, corredata dal codice dell'ovatura.



Anastatus maschi e un *Trissolcus* femmina, sfarfallati quasi contemporaneamente da un'ovatura. Un caso raro.

Due maschi di *Trissolcus*.

Femmina di *Trissolcus japonicus*.
Nel genere *Trissolcus* prima emergono i maschi e poi le femmine.

INTERPRETAZIONE DELLE OVATURE

A partire dal momento in cui per un'ovatura non ci si attendono ulteriori evoluzioni, ovvero sono già nate le cimici e/o sfarfallati i parassitoidi, tutti i dati raccolti, le foto datate e le identificazioni degli esperti tassonomi, è opportuno rispondere alle seguenti domande (check list):

- Si tratta di un'ovatura di cimice asiatica, *Halyomorpha halys*?

  Ricordiamo che la cimice asiatica depone gruppi di 28 uova bianche della dimensione ognuna di 1.3 mm circa, disposte una vicina all'altra ma non in maniera estremamente regolare, lasciando degli spazi vuoti tra le uova. Raramente possono avere un numero di uova diverso da 28.

  Le ovature di cimice asiatica possono essere a volte confuse con ovature di *Palomena prasina* trovate schiuse, che hanno perso il colore verde, e che spesso sono in gruppi di 28 uova. La presenza di neanidi vicino all'ovatura al momento del ritrovamento rende il riconoscimento più facile (**Foto 4**).

- Qual è il numero di uova di cui è composta l'ovatura?

  Contando tutte le uova comprese quelle di cui c'è anche solo l'indizio di presenza, come nel caso di uova completamente predate.

- Qual è il numero di uova interpretabili?

  Numero di uova totale meno le uova divorate quasi completamente da insetti con apparato masticatore. Su queste uova interpretabili andremo a rispondere alle seguenti domande:

  - Qual è il numero di uova da cui sono emerse delle cimici?

    Ovviamente si contano le cimici emerse in laboratorio, ma anche i fori perfettamente circolari caratteristici per l'apertura dell'opercolo, e la frequente presenza del ruptur ovi.

  - Qual è il numero di uova da cui sono sfarfallati adulti di *Anastatus bifasciatus*?

    Ovviamente si contano gli individui sfarfallati in laboratorio, ma anche i fori di fuoriuscita che appaiono irregolari, caratteristici dell'emersione della specie, con resti del corion dell'uovo come piccola segatura dovuti all'azione delle mandibole dei microimenotteri per aprirsi la via dell'uscita dall'uovo, e all'interno dell'uovo si vede un ammasso scuro dato dai frammenti delle exuvie pupali.

  - Qual è il numero di uova da cui sono sfarfallati microimenotteri del genere *Trissolcus*?

    Ovviamente si contano gli individui sfarfallati in laboratorio, ma anche in questo caso i fori di sfarfallamento sono caratteristici del genere, con frammenti del corion dell'uovo a forma di semiluna dovuti all'azione delle mandibole del parassitoide, e l'interno dell'uovo risulta quasi vuoto (**Foto 5**)

  - Qual è il numero di uova da cui sono sfarfallati altri microimenotteri quali Pteromalidi (e.g., *Acroclisoides*), o Encirtidi (e.g., *Oencyrtus telenomicida*)?

    Si tratta di microimenotteri molto più rari. Un esperto tassonomo vi potrà dare le indicazioni della presenza di queste altre specie.

  - Qual è il numero di uova da cui non sono sgusciate cimici o sfarfallati microimenotteri?

    Si ottiene per differenza tra il numero di uova interpretabili e le uova da cui sono emerse cimici o microimenotteri parassitoidi. Queste uova non sono di facile interpretazione: potrebbero essere parassitizzate ma il microimenottero non avrebbe completato il suo sviluppo, oppure la neanide della cimice potrebbe essere morta prima di sgusciare, e questo potrebbe essere dovuto anche all'effetto di una predazione.

    In un monitoraggio che ha l'obiettivo di mettere in evidenza gli effetti dell'introduzione di un parassitoide come *A. bifasciatus* sulla popolazione di *H. halys* l'interpretazione di queste uova ha un'importanza limitata, per cui conviene evidenziare solo quando queste uova hanno un preciso segno di parassitizzazione avvenuta:

    - Numero di uova con un punto nero, che frequentemente è la cicatrice di un'ovideposizione di *A. bifasciatus*, con devitalizzazione dell'uovo, sebbene la parassitizzazione non abbia garantito lo sviluppo del parassitoide (**Foto 6**).

Foto 4 - Confronto tra le neanidi I stadio di *Halyomorpha* e *Palomena*. In alto Halyomorpha, in basso Palomena

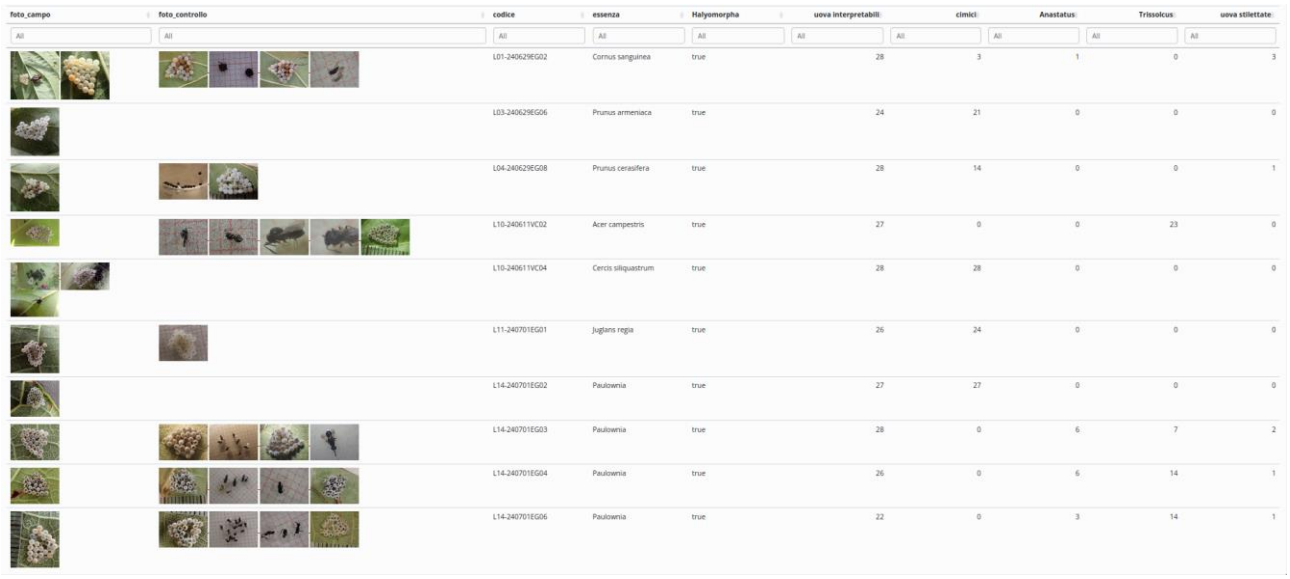
Foto 5 - Ovatura da cui sono sfarfallati tre *Trissolcus* (17/08/2024)

Foto 6 - In questa ovatura sono sfarfallati sia *Trissolcus* che *Anastatus*. Inoltre, in 5 uova scure si notano dei puntini neri, molto evidenti in due uova, ma da cui non è sfarfallato nessun parassitoide

Dalla stessa ovatura sono sfarfallati 10 *Trissolcus,* e dopo un mese circa 5 *Anastatus* (19/09/2024).

ANALISI DEI DATI

Il risultato della interpretazione delle ovature si può tradurre nella compilazione di un foglio elettronico (con campi di vero/falso o numerici) da cui ricavare delle statistiche per area di rilievo.



foto_campo	foto_controllo	codice	essenza	Halyomorpha	uova interpretabili	cimici	Anastatus	Trissolcus	uova stillettate
		L01-240629EG02	Cornus sanguinea	true	28	3	1	0	3
		L03-240629EG06	Prunus armeniaca	true	24	21	0	0	0
		L04-240629EG08	Prunus cerasifera	true	28	14	0	0	1
		L10-240611VC02	Acer campestris	true	27	0	0	23	0
		L10-240611VC04	Cercis siliquastrum	true	28	28	0	0	0
		L11-240701EG01	Juglans regia	true	26	24	0	0	0
		L14-240701EG02	Paulownia	true	27	27	0	0	0
		L14-240701EG03	Paulownia	true	28	0	6	7	2
		L14-240701EG04	Paulownia	true	26	0	6	14	1
		L14-240701EG06	Paulownia	true	22	0	3	14	1

Un esempio di raccolta dati tabellari di alcuni rilievi del 2024 nell'ambito del progetto **"Tecniche innovative di difesa biologica per il contrasto alla cimice asiatica"**, screenshot della piattaforma.

A titolo puramente esemplificativo si riporta nella tabella seguente il numero di ovature di cimice asiatica campionate nel 2024 nelle 2 aree di indagine nell'ambito del progetto "Tecniche innovative di difesa biologica per il contrasto alla cimice asiatica") ed il numero di ovature da cui sono sfarfallati parassitoidi rispettivamente dei generi *Anastatus* e *Trissolcus*.

Area	N. ovature di *H. halys*	N. ovature da cui sono sfarfallati parassitoidi	
LANCIO	157	*Anastatus*	23
		Trissolcus	30
TESTIMONE	117	*Anastatus*	15
		Trissolcus	9

Da considerare che una parte delle ovature (12 in zona lancio, 4 in zona testimone) sono state visitate sia da Anastatus sia da *Trissolcus*.

Per valutare l'attività di parassitizzazione da parte di microimenotteri, gli indici a cui si fa solitamente riferimento sono:

- ***Discovery efficiency***, che potremmo tradurre come "efficienza di ricerca": è la percentuale di ovature con almeno un uovo sicuramente parassitizzato da un determinato di gruppo di microimenotteri, espresso in percentuale sul totale delle ovature controllate.
- ***Exploitation efficiency***, ovvero l'efficienza di ovideposizione: è il numero di uova parassitizzate sul numero di uova delle ovature visitate da quel particolare parassitoide.
- ***Overall egg parasitism***, o indice di parassitizzazione: il numero di uova parassitizzate rispetto alle uova totali.

Nel caso in cui non sia possibile definire con metodi di ricerca avanzata (comprese le analisi molecolari) la parassitizzazione delle uova non nate, ci si basa (per calcolare gli indici sopra descritti) sull'identificazione dei microimenotteri sfarfallati o sui fori di sfarfallamento lasciati sulle uova.

Realizzazione a cura di RINOVA, Enrico Gabrielli e APOFRUIT ITALIA nell'ambito del progetto di ricerca presentato da AOP Gruppo VIVA nel Programma Operativo Pluriennale 2023-2029 "Innovazione delle tecniche colturali e miglioramento qualitativo dei prodotti ortofrutticoli dei soci Aop Gruppo Vi.Va. – acronimo ricerca Viva", "Reg. UE 2021/2115 art. 50 programmi operativi settore ortofrutta - CUP E18H23000820004" –

Sotto-progetto n.09 "Tecniche innovative di difesa biologica per il contrasto alla cimice asiatica".

Si ringraziano tutte le aziende agricole che hanno partecipato al progetto, Antonio Masetti per la determinazione dei parassitoidi (Univ. di Bologna) e CBC Bioplanet soc agr.s.r.l. per la fornitura di *Anastatus bifasciatus* per i lanci.