

Efficacia in laboratorio e sul campo dei prodotti naturali contro il parassita invasivo *Halyomorpha halys* ed effetti collaterali sull'agente di biocontrollo *Trissolcus japonicus*

AUTORI

Elena Chierici¹, Elisa Marchetti², Adriana Poccia¹, Antonio Russo², Vito Antonio Giannuzzi¹, Lorenzo Governatori², Luca Zucchi², Gabriele Rondoni^{1,3} & Eric Conti¹

¹Department of Agricultural, Food and Environmental Sciences, University of Perugia, Perugia 06121, Italy.

²AGRI, 2000 Net S.r.l., Castel Maggiore, Bologna 40013, Italy. ³email: gabriele.rondoni@unipg.it

DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-025-87325-9>

Sintesi

Premessa:

La cimice marmorata asiatica, *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Pentatomidae), è un insetto invasivo che causa gravi perdite economiche ai raccolti. Dalle sue epidemie in Nord America ed Europa, *H. halys* è stato controllato con pesticidi sintetici. Sono stati proposti metodi più sostenibili, tra cui il biocontrollo e l'uso di prodotti naturali. Qui, abbiamo condotto indagini di laboratorio e sul campo per valutare prodotti biologicamente registrati per la loro efficacia contro *H. halys* e il loro effetto non bersaglio sul parassitoide delle uova, *Trissolcus japonicus* (Hymenoptera: Scelionidae). In laboratorio, azadiractina, olio d'arancia, sali di potassio degli acidi grassi, caolino, Farina di Basalto® XF, terra di diatomee, zeolite, formulazioni di zolfo, polisolfuro di calcio e miscele di zolfo più terra di diatomee o zeolite hanno mostrato una letalità superiore contro le ninfe di *H. halys* rispetto al controllo. Il polisolfuro di calcio, l'azadiractina e lo zolfo hanno raggiunto una mortalità superiore al 50%. Tutti i trattamenti, eccetto azadiractina e caolino, hanno avuto effetti negativi su *T. japonicus*, con mortalità superiore all'80% per polisolfuro di calcio e zolfo. Esperimenti sul campo sono stati condotti nel 2021 e 2022 nei frutteti di peri. La terra di diatomee sola o alternata a zolfo o polisolfuro di calcio ha fornito un controllo simile di *H. halys*, rispetto alle strategie agricole basate principalmente su trattamenti con neonicotinoidi (acetamiprid). Vengono discusse le implicazioni per il controllo di *H. halys* nella gestione integrata dei parassiti.

Parole chiave:

Biopesticida, Effetto letale, Effetto non bersaglio, Pentatomidae, Scelionidae

Data di presentazione: 26 novembre 2024

Data di accettazione: 17 gennaio 2025

DATA DI PUBBLICAZIONE 7 febbraio 2025

Introduzione

La diffusione delle specie invasive è uno dei problemi di biosicurezza più rilevanti degli ultimi anni e si prevede che aumenterà nel tempo¹. L'introduzione di piante, animali, patogeni o altri organismi esotici è spesso il risultato di eventi accidentali causati dalle attività umane, con la globalizzazione che ne promuove ulteriormente la diffusione^{2,3}. A seconda della specie, le invasioni biologiche possono rappresentare una minaccia significativa per l'agricoltura, la biodiversità locale, la salute umana e animale^{4,5}. Molte specie invasive sono insetti erbivori che danneggiano le colture agricole⁶, e sebbene la gestione integrata dei parassiti promuova l'uso di strategie sia biologiche che chimiche per un approccio di protezione delle colture più sostenibile^{7,8}, convenzionalmente il metodo prevalente contro i parassiti invasivi è l'uso di insetticidi sintetici⁹⁻¹¹. Tuttavia, applicazioni ripetute di sostanze chimiche causano diversi effetti collaterali, come ad esempio lo sviluppo di resistenza nei parassiti target e la conseguente riduzione dell'efficacia dei pesticidi¹²⁻¹⁴. Allo stesso modo, l'uso esteso di prodotti sintetici ha effetti negativi sugli organismi non target, sulla salute umana e sull'ambiente^{15,16}. Pertanto, prodotti come organofosfati e diversi neonicotinoidi sono stati vietati in Europa¹⁷⁻¹⁹. Nel frattempo, si stanno sviluppando pesticidi più ecologici e naturali, e diversi prodotti si sono dimostrati eccellenti alternative ai prodotti chimici sintetici per il controllo dei parassiti. Queste sostanze provengono da varie fonti e includono polveri naturali, oli essenziali²⁰⁻²² e bioinsetticidi derivati da microrganismi^{23,24}. Ad esempio, la polvere di roccia, una polvere di origine naturale consentita nell'agricoltura biologica, si è dimostrata efficace nel prevenire e ridurre l'attacco del parassita delle olive *Bactrocera oleae* (Rossi) (Diptera: Tephritidae)^{25,26}. I bioinsetticidi basati su *Beauveria bassiana* sono stati anche molto efficaci nel controllare i tripidi dei fiori occidentali, *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae)²⁷⁻²⁹. Tuttavia, l'origine naturale di un pesticida non è necessariamente correlata alla sua sicurezza per insetti benefici non target³⁰⁻³³. Sebbene generalmente considerati più sicuri degli insetticidi sintetici, gli insetticidi naturali possono essere associati a effetti letali e subletali su predatori e parassitoidi³⁴⁻³⁸. Questi effetti non vanno trascurati, poiché sia nell'agricoltura biologica che nella produzione integrata di colture un elemento chiave per la gestione dei parassiti agricoli invasivi è il controllo biologico^{39,40}. Questo include il controllo biologico classico, che si riferisce all'introduzione e al rilascio di nemici naturali, originari della stessa area geografica del parassita invasivo^{41,42}. Pertanto, quando si utilizzano prodotti naturali insieme al controllo biologico, è fondamentale valutarne gli effetti letali sul nemico naturale introdotto.

Attualmente, uno degli insetti erbivori invasivi più importanti dell'emisfero nord è la cimice marmorata asiatica *Halyomorpha halys* Stål (Heteroptera: Pentatomidae), originaria dell'Asia e diffusa anche nel continente americano, in Europa e nel Nord Africa⁴³⁻⁴⁵. Essendo altamente polifaga, la sua gamma di ospiti nelle aree native e invase comprende alberi da frutto, ortaggi, colture orticole, piante ornamentali e vegetazione naturale^{43,46}. In Europa, *H. halys* è stato trovato per la prima volta in Svizzera nel 2004 e da allora si è diffuso in tutto il continente⁴⁷. È stato rilevato in Italia nel 2012, causando gravi danni al settore agricolo⁴⁸. Il parassitoide delle uova *Trissolcus japonicus* (Ashmead) (Hymenoptera: Scelionidae) è stato riconosciuto come il principale nemico naturale di *H. halys* nella sua

area nativa, e pertanto è stato valutato e rilasciato per il controllo biologico classico⁴⁹⁻⁵¹.

Il primo obiettivo di questa ricerca era testare in laboratorio l'efficacia di diversi prodotti naturali per un possibile utilizzo come strategia agricola, alternativa ai pesticidi sintetici, contro *H. halys*. Un secondo obiettivo era valutare i possibili effetti collaterali degli stessi prodotti su *T. japonicus*. Tutti i prodotti testati sono ammessi nell'agricoltura biologica, come elencati nel Regolamento (UE) 2018/848 e nel Regolamento di Applicazione della Commissione (UE) 2021/1165. La maggior parte di essi (azadiractina, olio d'arancia, sali di potassio degli acidi grassi, zolfo, terra di diatomee e polisolfuro di calcio) sono inclusi e approvati nel database UE dei pesticidi (https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-db_en). Esperimenti precedenti su *H. halys* si sono concentrati sugli effetti degli entomopatogeni⁵²⁻⁵⁴. Gli effetti di letalità dell'azadiractina e dei sali di potassio degli acidi grassi sono stati anch'essi studiati su adulti di *H. halys*, ma hanno mostrato effetti contrastanti quando applicati da soli, sia in analisi diretta che da contatto^{55,56}. Alcune indagini sugli effetti non bersaglio su *T. japonicus* hanno esplorato l'impatto di prodotti naturali, come spinosad e piretrine⁵⁷⁻⁵⁹. Un terzo obiettivo era testare l'efficacia di prodotti promettenti nella riduzione dei danni ai frutti nei frutteti di pere per due stagioni consecutive, confrontandolo con le attuali strategie di gestione comunemente adottate in ciascun frutteto, basate principalmente su applicazioni di acetamiprid. Considerando la prevista limitazione futura nell'uso dell'acetamiprid⁶⁰ e l'aumento della presenza di parassitoidi delle uova nei frutteti, dovuta al programma di controllo biologico in corso⁶¹, i nostri risultati aiuteranno a implementare strategie di gestione dei parassiti con rischi inferiori per gli agenti di biocontrollo.

Risultati

Analisi di laboratorio sull'effetto letale su *Halyomorpha halys*

Tutti i prodotti testati hanno causato effetti letali sulle ninfe di *H. halys* (Tabella 1). Per quanto riguarda l'Esperimento 1, gli insetticidi liquidi azadiractina, sali di potassio degli acidi grassi e olio d'arancia sono stati ugualmente efficaci nel causare mortalità dopo 4 giorni dall'applicazione, e i loro effetti sono stati significativamente superiori rispetto al controllo (modello lineare; confronto dei trattamenti: $F(2,12) = 0,11$, $P = 0,89$; trattamenti vs. controllo: $t = 17,17$, $df = 1$, $P < 0,0001$). Le percentuali sono aumentate dopo 7 giorni e gli effetti significativi sono stati confermati (confronto dei trattamenti: $F(2,12) = 2,21$, $P = 0,15$; trattamenti vs. controllo: $t = 7,68$, $df = 1$, $P < 0,0001$). Risultati simili sono stati ottenuti nell'Esperimento 2, quando Farina di Basalto®, caolino, terra di diatomee e zeolite sono stati confrontati tra loro e con il controllo, sia a 4 giorni (confronto dei trattamenti: $F(3,16) = 1,68$, $P = 0,21$; trattamento vs. controllo: $t = 8,51$, $df = 1$, $P < 0,0001$) sia a 7 giorni dal trattamento (confronto dei trattamenti: $F(3,16) = 0,69$, $P = 0,57$; trattamenti vs. controllo: $t = 9,71$, $df = 1$, $P < 0,0001$).

Tabella 1. Mortalità (percentuale media $\pm$ SE) delle ninfe di *Halyomorpha halys* trattate con prodotti diversi in condizioni di laboratorio. La mortalità registrata è stata corretta usando la formula di Abbott. Nel caso di un effetto significativo del trattamento all'interno di un esperimento, le medie seguite da lettere diverse sono significativamente diverse secondo modelli lineari seguiti con la procedura di confronto multiplo.

Exp.	Treatment	Mortality at 4 days			Mortality at 7 days		
		Mean % $\pm$ SE	Comparison among treatments	Comparison of treatments vs. control	Mean % $\pm$ SE	Comparison among treatments	Comparison of treatments vs. control
1	Azadirachtin	36.00 $\pm$ 5.10	$F_{(2,12)} = 0.11$, $P = 0.89$	All treatments vs. control: $t = 17.17$, $df = 1$, $P < 0.0001$	53.02 $\pm$ 9.16	$F_{(2,12)} = 2.21$, $P = 0.15$	All treatments vs. control: $t = 7.68$, $df = 1$, $P < 0.0001$
	Potassium salts of fatty acids	32.00 $\pm$ 5.83			49.81 $\pm$ 12.15		
	Orange oil	34.00 $\pm$ 6.78			26.67 $\pm$ 11.74		
2	Basalt dust	32.39 $\pm$ 6.31	$F_{(3,16)} = 1.68$, $P = 0.21$	All treatments vs. control: $t = 8.51$, $df = 1$, $P < 0.0001$	44.17 $\pm$ 14.71	$F_{(3,16)} = 0.69$, $P = 0.57$	All treatments vs. control: $t = 9.71$, $df = 1$, $P < 0.0001$
	Kaolin	21.61 $\pm$ 7.16			30.00 $\pm$ 9.35		
	Diatomaceous earth	14.89 $\pm$ 7.16			31.67 $\pm$ 6.26		
	Zeolite	32.17 $\pm$ 8.22			43.33 $\pm$ 8.08		
3	Sulphur type 1	28.89 $\pm$ 7.87	$F_{(4,20)} = 1.63$, $P = 0.21$	All treatments vs. control: $t = 7.05$, $df = 1$, $P < 0.0001$	40.63 $\pm$ 15.57	$F_{(4,20)} = 0.68$, $P = 0.61$	All treatments vs. control: $t = 11.77$, $df = 1$, $P < 0.0001$
	Sulphur type 1 + Zeolite	21.39 $\pm$ 7.40			44.33 $\pm$ 10.12		
	Sulphur type 2	29.72 $\pm$ 8.62			50.60 $\pm$ 6.31		
	Sulphur type 2 + Diatomaceous earth	9.44 $\pm$ 5.80			47.82 $\pm$ 5.13		
	Sulphur type 2 + Zeolite	12.22 $\pm$ 5.60			29.44 $\pm$ 12.32		
4	Calcium polysulfide 20 g/L	2.22 $\pm$ 2.22 c	$F_{(2,12)} = 13.43$, $P = 0.0009$	Polysulfide 20 g/L vs. control: $t = 0.57$, $df = 1$, $P = 0.58$	10.16 $\pm$ 5.23 c	$F_{(2,12)} = 12.41$, $P = 0.001$	Polysulfide 20 g/L vs. control: $t = 2.11$, $df = 1$, $P = 0.056$
	Calcium polysulfide 30 g/L	19.17 $\pm$ 5.00 b			33.85 $\pm$ 6.69 b		
	Calcium polysulfide 50 g/L	59.17 $\pm$ 13.53 a			71.90 $\pm$ 11.04 a		

Nell'Esperimento 3, l'efficacia dello zolfo di tipo 1 e di tipo 2 al giorno 4 era simile, e quando sono stati applicati in miscela con zeolite o terra diatomacea non sono state osservate differenze significative, e tutte hanno causato una mortalità più alta rispetto al controllo (confronto dei trattamenti: $F_{(4,20)} = 1,63$, $P = 0,21$; trattamenti vs. controllo: $t = 7,05$, $df = 1$, $P < 0,0001$). Dopo 7 giorni l'efficacia complessiva è aumentata, sebbene con livelli di significatività simili (confronto dei trattamenti: $F_{(4,20)} = 0,68$, $P = 0,61$; trattamenti vs. controllo: $t = 11,77$, $df = 1$, $P < 0,0001$). Nell'Esperimento 4, le diverse dosi di polisolfuro di calcio hanno causato livelli differenti di mortalità, con la dose più alta di 50 g/L che si è dimostrata la più efficace, la dose di 30 g/L ha mostrato un'efficacia intermedia, e la dose più bassa di 20 g/L non si è discostata dal controllo (confronto dei trattamenti: $F_{(2,12)} = 13,43$, $P = 0,0009$; polisolfuro 20 g/L vs. controllo: $t = 0,57$, $df = 1$, $P = 0,58$). A 7 giorni dal trattamento, l'efficacia complessiva del polisolfuro di calcio è aumentata in tutti i trattamenti, con la stessa tendenza tra le dosi (confronto dei trattamenti: $F_{(2,12)} = 12,41$, $P = 0,001$) e la dose minima di 20 g/L non differenziava dal controllo (polisolfuro 20 g/L vs. controllo: $t = 2,11$, $df = 1$, $P = 0,056$).

Analisi di laboratorio sull'effetto letale su *Trissolcus japonicus*

I prodotti testati, ad eccezione di azadiractina e caolino, hanno causato effetti letali anche sul parassitoide *T. japonicus*, ma con percentuali molto variabili (Tabella 2). A 4 giorni dal trattamento, il polisolfuro di calcio ha avuto l'effetto più alto tra i trattamenti, seguito da zolfo di tipo 1 e tipo 2, zeolite, terra di diatomee, sali di potassio degli acidi grassi e Farina di Basalto® (modello lineare; confronto dei trattamenti: $F_{(9,30)} = 3,86$, $P = 0,0025$). La mortalità causata da azadiractina, caolino e olio d'arancia non differiva dal controllo (azadiractina vs. controllo: $t = 0,58$, $df = 1$, $P = 0,57$; caolino vs. controllo: $t = 0,84$, $df = 1$, $P = 0,41$; olio d'arancia vs. controllo: $t = 1,97$, $df = 1$, $P = 0,058$). Nel complesso, tutte le percentuali di mortalità sono aumentate dopo 7 giorni dal trattamento, con il polisolfuro di

calcio e entrambe le tipologie di zolfo che hanno mostrato effetti maggiori rispetto a tutti gli altri prodotti (confronto dei trattamenti: $F(9,30) = 8,16$, $P < 0,0001$). La mortalità causata da azadiractina e caolino non differiva dal controllo (azadiractina vs. controllo: $t = 0,53$, $df = 1$, $P = 0,60$; caolino vs. controllo: $t = 1,06$, $df = 1$, $P = 0,30$).

Tabella 2. Mortalità (percentuale media $\pm$ SE) di *Trissolcus japonicus* trattato con diversi prodotti in condizioni di laboratorio. La mortalità registrata è stata corretta usando la formula di Abbott. Le medie seguite da diverse lettere sono significativamente diverse secondo modelli lineari seguiti con la procedura di confronto multiplo.

Treatment	Mortality at 4 days			Mortality at 7 days		
	Mean % $\pm$ SE	Comparison among treatments	Comparison of treatments vs. control	Mean % $\pm$ SE	Comparison among treatments	Comparison of treatments vs. control
Azadirachtin	2.78 $\pm$ 2.78 c	$F_{(9,30)} = 3.86$, $P = 0.0025$	Azadirachtin vs. control: $t = 0.58$, $df = 1$, $P = 0.57$; Kaolin vs. control: $t = 0.84$, $df = 1$, $P = 0.41$; Orange oil vs. control: $t = 1.97$, $df = 1$, $P = 0.058$	3.13 $\pm$ 3.13 b	$F_{(9,30)} = 8.16$, $P < 0.0001$	Azadirachtin vs. control: $t = 0.53$, $df = 1$, $P = 0.60$; Kaolin vs. control: $t = 1.06$, $df = 1$, $P = 0.30$
Potassium salts of fatty acids	18.61 $\pm$ 7.90 abc			20.09 $\pm$ 9.15 b		
Orange oil	10.83 $\pm$ 4.54 bc			19.30 $\pm$ 4.39 b		
Basalt dust	13.61 $\pm$ 5.37 abc			30.41 $\pm$ 11.59 b		
Kaolin	5.56 $\pm$ 5.56 c			11.11 $\pm$ 11.11 b		
Diatomaceous earth	21.39 $\pm$ 13.41 abc			24.65 $\pm$ 13.61 b		
Zeolite	35.28 $\pm$ 11.55 abc			35.07 $\pm$ 16.23 b		
Sulphur type 1	43.33 $\pm$ 7.93 ab			81.25 $\pm$ 11.97 a		
Sulphur type 2	49.44 $\pm$ 17.58 ab			84.38 $\pm$ 15.63 a		
Calcium polysulfide	58.61 $\pm$ 11.70 a			93.75 $\pm$ 6.25 a		

Esperimenti sul campo e valutazione dei danni ai frutti

Le strategie sperimentali testate nei frutteti di pere nel 2021 e 2022 hanno mostrato un'efficacia variabile nel controllare i danni ai frutti causati da *H. halys* rispetto alle strategie aziendali. I danni ai frutti variavano tra i frutteti e gli anni e aumentavano in tutti i lotti con il progredire della stagione, con differenze significative tra i trattamenti, in particolare alla terza data di campionamento (Tabella 3).

Nel 2021, è stato progettato un confronto tra strategie biologiche nel frutteto A. Entrambi i trattamenti sperimentali, *Akanthomyces muscarius* Ve6 e *B. bassiana* GHA, hanno fornito un controllo migliore del danno ai frutti rispetto alla strategia aziendale basata su terra di diatomee e al controllo non trattato. Queste differenze sono state osservate per tutta la stagione, tranne che l'efficacia della terra di diatomee rispetto al controllo non trattato è emersa lentamente ed è risultata significativa solo alla seconda e terza data di campionamento (Modelli Lineari; 29/06/2021: $F(3,12) = 7,10$, $P = 0,0053$; 20/07/2021: $F(3,12) = 37,18$, $P < 0,0001$; 08/02/2021: $F(3,12) = 48,41$, $P < 0,0001$).

Nello stesso anno, un confronto simile tra una strategia aziendale basata su insetticida sintetico e due strategie alternative biologiche è stato effettuato nei frutteti B e C. In modo sorprendente, nel frutteto B i trattamenti con terra di diatomee hanno determinato bassi valori di danno, simili a quelli delle parcelle trattate con acetamiprid (strategia aziendale).

Tabella 3. Livello di danno ai frutti (percentuale media $\pm$ SE) nei frutteti gestiti con trattamenti diversi durante il 2021 e il 2022. Per ogni anno e località, le medie seguite da diverse lettere sono significativamente diverse secondo modelli lineari seguiti con la procedura di confronto multiplo.

Year, location	Treatment	Fruit injury (mean % $\pm$ SE)		
		29 Jun	20 Jul	02 Aug
2021, Orchard A	Diatomaceous earth	33.31 $\pm$ 2.37 a	40.18 $\pm$ 1.26 b	44.82 $\pm$ 1.25 b
	<i>Akanthomyces muscarius</i> Ve6	27.56 $\pm$ 0.91 b	32.59 $\pm$ 1.30 c	36.94 $\pm$ 2.05 c
	<i>Beauveria bassiana</i> GHA	26.28 $\pm$ 1.07 b	35.01 $\pm$ 1.82 c	39.89 $\pm$ 1.66 bc
	Water	34.27 $\pm$ 1.33 a	51.08 $\pm$ 0.48 a	62.46 $\pm$ 1.39 a
		$F_{(3,12)} = 7.10, P = 0.0053$	$F_{(3,12)} = 37.18, P < 0.0001$	$F_{(3,12)} = 48.41, P < 0.0001$
2021, Orchard B		02 Jul	23 Jul	05 Sep
	Acetamiprid	8.81 $\pm$ 1.73 c	13.08 $\pm$ 3.13 b	17.74 $\pm$ 1.73 c
	Diatomaceous earth	11.83 $\pm$ 1.09 bc	15.51 $\pm$ 0.93 b	19.08 $\pm$ 2.16 bc
	<i>Beauveria bassiana</i> ATCC 74040	13.11 $\pm$ 1.06 b	16.26 $\pm$ 1.00 b	23.23 $\pm$ 1.18 b
	Water	31.57 $\pm$ 1.43 a	35.63 $\pm$ 0.59 a	48.45 $\pm$ 0.30 a
2021, Orchard C		02 Jul	23 Jul	05 Sep
	Acetamiprid	11.69 $\pm$ 1.06 c	13.21 $\pm$ 2.09 c	30.55 $\pm$ 2.43 c
	Diatomaceous earth	33.08 $\pm$ 0.38 b	36.94 $\pm$ 1.26 b	40.08 $\pm$ 1.57 b
	<i>Beauveria bassiana</i> GHA	36.44 $\pm$ 1.36 b	37.87 $\pm$ 0.57 b	45.82 $\pm$ 1.05 b
	Water	41.92 $\pm$ 0.66 a	50.62 $\pm$ 0.09 a	60.8 $\pm$ 3.01 a
2022, Orchard B		11 Jul	16 Aug	02 Sep
	Acetamiprid	5.21 $\pm$ 0.34 a	7.78 $\pm$ 0.88 bc	9.97 $\pm$ 1.01 b
	Calcium polysulfide + Diatomaceous earth	1.72 $\pm$ 0.25 b	11.08 $\pm$ 1.04 b	12.16 $\pm$ 1.12 b
	Sulphur type 2 + Diatomaceous earth	4.96 $\pm$ 0.59 a	6.31 $\pm$ 0.95 c	8.15 $\pm$ 0.87 b
	Water	4.8 $\pm$ 0.84 a	29.66 $\pm$ 2.87 a	30.88 $\pm$ 3.55 a
2022, Orchard C		11 Jul	16 Aug	02 Sep
	Acetamiprid + Diatomaceous earth	4.14 $\pm$ 0.28 a	4.95 $\pm$ 0.73 a	5.99 $\pm$ 0.52 a
	Calcium polysulfide + Diatomaceous earth	1.96 $\pm$ 0.68 b	3.53 $\pm$ 0.29 ab	4.53 $\pm$ 0.46 ab
	Sulphur type 2 + Diatomaceous earth	1.90 $\pm$ 0.30 b	2.65 $\pm$ 0.56 b	3.09 $\pm$ 0.82 b
		$F_{(2,9)} = 5.80, P = 0.024$	$F_{(2,9)} = 4.36, P = 0.048$	$F_{(2,9)} = 4.91, P = 0.036$

I trattamenti con *B. bassiana* ATCC 74040 hanno fornito una minore efficacia nella riduzione del danno, ma comunque un'efficacia superiore rispetto al controllo non trattato (07/02/2021: $F_{(3,12)} = 42,05, P < 0,0001$; 23/07/2021: $F_{(3,12)} = 23,28, P < 0,0001$; 09/05/2021: $F_{(3,12)} = 68,58, P < 0,0001$). A differenza del frutteto B, nel frutteto C sia la terra di diatomee che i trattamenti GHA di *B. bassiana* hanno fornito un controllo inferiore rispetto all'acetamiprid (strategia aziendale), sebbene tutti i trattamenti siano risultati efficaci rispetto al controllo non trattato (07/02/2021: $F_{(3,12)} = 179,35, P < 0,0001$; 23/07/2021: $F_{(3,12)} = 101,92, P < 0,0001$; 09/05/2021: $F_{(3,12)} = 33,20, P < 0,0001$).

Nel 2022, due strategie sperimentali biologiche combinate sono state confrontate con la strategia aziendale a base di insetticidi sintetici sia nei frutteti B che C. Nel frutteto B, l'efficacia della miscela zolfo tipo 2 + diatomee e della

miscela di polisolfuro di calcio + terra di diatomee è stata simile a quella dell'acetamiprid (strategia aziendale) nel contenere i danni ai frutti, con valori inferiori rispetto al controllo non trattato (07/11/2022: $F(3,12) = 11,87$, $P = 0,0007$; 16/08/2022: $F(3,12) = 45,07$, $P < 0,0001$; 09/02/2022: $F(3,12) = 31,92$, $P < 0,0001$). Nel frutteto C, la miscela di zolfo tipo 2 + terra diatomee ha fornito un'efficacia maggiore rispetto alla miscela di acetamiprid + terra diatomee (strategia aziendale). L'efficacia intermedia è stata fornita dalla miscela di polisolfuro di calcio + terra diatomee (07/11/2022: $F(2,9) = 5,80$, $P = 0,024$; 16/08/2022: $F(2,9) = 4,36$, $P = 0,048$; 09/02/2022: $F(2,9) = 4,91$, $P = 0,036$).

Discussione

I nostri esperimenti di laboratorio dimostrano che diversi prodotti naturali ammessi nell'agricoltura biologica possono controllare efficacemente gli stadi giovanili di *H. halys*. Inoltre, le strategie sperimentali biologiche testate nei frutteti di pere si sono rivelate efficaci nel ridurre i danni causati da cimici ai frutti, spesso con un'efficacia simile rispetto a una strategia basata su un insetticida chimico (acetamiprid). Tuttavia, la maggior parte dei prodotti biologici testati si è rivelata letale per *T. japonicus*, pertanto è necessario valutare gli effetti non bersaglio sul campo su questo importante agente di biocontrollo.

Tutti i prodotti testati in laboratorio hanno causato una mortalità di *H. halys* più alta rispetto al controllo, sia a 4 che a 7 giorni dall'applicazione. Tra gli insetticidi liquidi, l'azadiractina ha causato una mortalità rilevante dopo 7 giorni, che non è risultata significativamente superiore a quella dei sali di potassio degli acidi grassi e dell'olio d'arancia. L'azadiractina, isolata dai semi di *Azadirachta indica* (A. Juss), è un metabolita secondario con una ben nota attività insetticida⁶². Il nostro risultato è coerente con quello ottenuto in un biosaggio in cui l'applicazione del composto tramite immersione di insetti ha determinato un'elevata mortalità delle ninfe di *H. halys* (78%) e degli adulti (55%)⁵⁶. In un altro studio, l'applicazione topica di alte concentrazioni di azadiractina ha determinato una mortalità dall'86 al 100% del quinto stadio di *Nezara viridula* L. (Heteroptera: Pentatomidae)⁶³. I nostri dati sembrano contraddire quelli di Lee *et al.*⁵⁵, che hanno mostrato che i residui secchi di azadiractina non hanno causato mortalità su *H. halys* in un periodo di 7 giorni dopo l'esposizione. Tuttavia, in questo caso *H. halys* è stato testato allo stadio adulto ed è stato esposto per un periodo molto breve. In particolare, l'azadiractina determina difetti di muta⁶⁴, pertanto i suoi effetti potrebbero continuare per un periodo superiore a 7 giorni, il che dovrebbe quindi essere indagato in esperimenti futuri. È interessante notare che, quando abbiamo valutato in laboratorio gli effetti dell'azadiractina contro *T. japonicus*, questo insetticida ha causato la percentuale di mortalità più bassa tra tutti i prodotti testati. Ciò è coerente con la mancanza di tossicità da contatto osservata sul parassitoide *Encarsia sophia* (Girault e Dodd) (Imenotteri: Aphelinidae)⁶⁵.

Per quanto riguarda i nostri risultati sui sali di potassio degli acidi grassi, il loro alto effetto letale causato alle ninfe di *H. halys* è coerente con Lee *et al.*⁵⁵, che hanno riscontrato un'elevata mortalità degli adulti di *H. halys* in saggio di contatto con questo insetticida organico. Inoltre, ha mostrato solo una tossicità moderata contro *T. japonicus*. Suma *et al.*⁶⁶ hanno notato che l'emergenza di *Lysiphlebus* spp. (Hymenoptera: Braconidae) da afidi parassitati

spruzzati non è stata negativamente influenzata da questo insetticida. Per quanto riguarda l'olio d'arancia, questo prodotto ha causato circa il 30% della mortalità giovanile di *H. halys* e una bassa mortalità a *T. japonicus*. L'olio d'arancia (Prev-Am) causava un'elevata mortalità agli insetti a corpo molle, come afidi e moscerini bianche, mentre influenzava solo la risposta comportamentale nel predatore eterottero *Nesidiocoris tenuis* (Reuter) (Heteroptera: Miridae)^{67,68}. Quando *Bracon nigricans* Szépligeti (Hymenoptera: Braconidae) è stato esposto a residui di pesticidi di 1 ora, la sopravvivenza è stata superiore all'80% e non ha causato effetti sub-letali sulla longevità del parassitoide e sulla produzione di prole rispetto al controllo⁶⁹.

Tra i prodotti a base di polvere testati nel nostro studio, abbiamo osservato un'elevata mortalità con il caolino e la zeolite sulle ninfe di *H. halys*. La loro attività repellente o deterrente su altri parassiti, come psillidi, afidi, acari, moscerini della frutta e anche ninfe e adulti di *H. halys*, è stata studiata^{26,70-72}. Gli altri prodotti testati, ovvero la terra di diatomee e la Farina di Basalto®, sono utilizzati per controllare i parassiti di prodotti immagazzinati, ad esempio⁷³⁻⁷⁵, e sono composti da silice, che determina la disidratazione degli insetti^{76,77}. Nei nostri esperimenti, entrambi i prodotti hanno indotto la mortalità delle ninfe di *H. halys* a 4 e 7 giorni dall'applicazione. Tuttavia, sebbene non a livelli elevati, tutte le polveri testate hanno indotto effetti letali sul parassitoide *T. japonicus*. Alcuni studi riportano gli effetti letali di queste polveri sui parassitoidi, mostrando risultati distintivi. Ad esempio, il contatto con superfici trattate con caolino non ha indotto mortalità in *Psytalia concolor* (Szépligeti) (Hymenoptera: Braconidae), un endoparassitoide di *Bactrocera oleae* (Rossi) (Diptera: Tephritidae)⁷⁸. Al contrario, una formulazione a base di terra di diatomee ha indotto un alto tasso di mortalità su *Anisopteromalus calandrae* (Howard) (Hymenoptera: Pteromalidae), ectoparassitoide di *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae)⁷⁹.

Due tipi di zolfo e le loro miscele con zeolite e/o terra di diatomee hanno indotto livelli notevoli di mortalità delle ninfe. Lo sfruttamento dello zolfo per la sua attività fungicida ha una lunga storia^{80,81}. Inoltre, formulazioni a base di zolfo sono state utilizzate per la gestione dei parassiti, in particolare degli acari, e sono note anche per avere un effetto deterrente/repellente sugli adulti di *H. halys*^{84,85}. L'efficacia della terra di diatomee contro *H. halys* è risultata aumentata quando combinata con zolfo di tipo 2 (Mannino) in condizioni di laboratorio. L'effetto potenziato della terra di diatomee sull'attività entomopatogena è ben noto, quindi possiamo ipotizzare che un meccanismo simile possa verificarsi anche con lo zolfo, che può indurre la mortalità degli artropodi ma la vera modalità d'azione è ancora sconosciuta (⁸⁶⁻⁸⁸ e riferimenti in esso). Al contrario, l'elevata mortalità di *T. japonicus* ha confermato gli effetti collaterali degli zolfi su parassitoidi e predatori. Per quanto riguarda il polisolfuro di calcio, questo prodotto ha indotto un'elevata mortalità di *H. halys*, confermandone così la già nota tossicità contro erbivori, come acari, cocciniglie e moscerini della frutta⁹¹⁻⁹³.

Negli esperimenti sul campo del 2021, trattamenti con terra di diatomee e acetamiprid (frutteto B) hanno mostrato un'efficacia simile, il che indica che il composto organico può essere un'alternativa più sicura all'insetticida sintetico. Considerando le future restrizioni sull'uso dell'acetamiprid nell'UE⁶⁰ e le segnalazioni dei suoi effetti collaterali sul

comportamento di *T. japonicus*⁹⁴, questo risultato può essere di grande rilevanza. Inoltre, in presenza di elevate infestazioni di *H. halys* (> 60% dei frutti danneggiati nei lotti non trattati del frutteto A e B nel 2021), i trattamenti sia con terra di diatomee sia con i due entomopatogeni testati sono stati efficaci nel ridurre i danni ai frutti, il che ne evidenzia l'efficacia nel controllo degli attacchi di parassiti. In particolare, negli esperimenti sul campo del 2022, i trattamenti con terra di diatomee alternati a zolfo o polisolfuro di calcio sono stati efficaci nel ridurre i danni ai frutti rispetto alle parcelle di controllo (frutteto B) o addirittura alla strategia agricola basata su acetamiprid (frutteto C). Poiché la crescita, e quindi l'efficacia, dei funghi entomopatogeni sono negativamente influenzati dalle alte temperature che possono essere raggiunte in condizioni di campo (Materiali supplementari Figura S2; ⁹⁵), l'uso di terra di diatomee alternata a formulazioni a base di zolfo potrebbe essere preferito nelle applicazioni sul campo. Inoltre, tali prodotti possono essere più persistenti dei botanicals. Ad esempio, gli oli essenziali mancano di persistenza e possono subire una degradazione termica e fotochimica più rapida rispetto alle polveri naturali⁹⁶.

Combinare studi di laboratorio e sul campo è fondamentale per migliorare le strategie di gestione dei parassiti. I risultati della nostra ricerca potrebbero suggerire l'uso di terra di diatomee in combinazione con biopesticidi a base di zolfo per la gestione di *H. halys*. Tuttavia, la persistenza di questi prodotti dovrebbe essere valutata in studi futuri, poiché ciò potrebbe determinare la frequenza delle applicazioni sul campo e gli impatti economici e ambientali conseguenti^{58,97}. Sono stati evidenziati gli effetti collaterali di questi prodotti sull'agente di biocontrollo *T. japonicus*. Questo sottolinea che una valutazione specifica del rischio su possibili effetti non target è necessaria anche combinando gestione biologica e nemici naturali. Studi futuri dovrebbero anche valutare la mortalità dei parassitoidi allo stadio larvale, protetta all'interno delle uova dell'ospite^{58,97}. L'attuale strategia di rilascio del parassitoide consiste nell'inoculazione delle femmine fisogastriche durante i picchi di oviposizione di *H. halys* in aree naturali, ai bordi dei campi e nei corridoi verdi⁹⁸. Nelle aree dove è necessario garantire l'insediamento di *T. japonicus*, per evitare il contatto diretto dei parassitoidi in cerca di cibo con pesticidi chimici, si raccomanda che i parassitoidi vengano rilasciati a una distanza di sicurezza di almeno 100 m dalle colture erbacee e dai frutteti. Dovrebbe essere valutato anche l'effetto dell'esposizione a basse dosi (subletali) di prodotti naturali sul comportamento di foraggiamento dei parassitoidi, poiché gli effetti non letali possono alterare l'efficacia dei parassiti sul campo^{69,100}. La valutazione della tossicità residua dopo l'applicazione di prodotti naturali fornirebbe informazioni sull'intervallo sicuro per il rilascio dei parassitoidi. Infine, ulteriori esperimenti sul campo dovrebbero considerare prodotti aggiuntivi, come azadiractina e sali di potassio degli acidi grassi, che hanno fornito buoni livelli di letalità contro i giovani di *H. halys*.

Metodi

Allevamento di insetti

Halyomorpha halys

La colonia di *H. halys* è stata costituita raccogliendo esemplari adulti durante la primavera e l'estate 2021 da colture

erbacee, aree non coltivate e frutteti nel Nord Italia. Le raccolte sono state effettuate tramite retini o raccolta manuale su erbe, cespugli e alberi. Circa 60 adulti raccolti sul campo sono stati trasferiti in laboratorio e allevati in gabbie a rete (Kweekkooi, 40 × 40 × 60 cm, Vermandel, Hulst, Paesi Bassi) in condizioni ambientali controllate (25 ± 1 °C, $60 \pm 5\%$ di umidità relativa e 16/8 h luce/buio). Le masse di uova raccolte giornalmente sono state utilizzate fresche per mantenere la colonia di cimici, oppure congelate a -20 °C per allevare i parassitoidi. Le cimici sono state allevate come segue. Un barattolo di vetro capovolto, pieno d'acqua e sigillato con cotone sul fondo di una piastra di Petri è stato utilizzato come fonte d'acqua. La dieta consisteva in pomodori, carote, semi di girasole e baccelli di fagiolini. La dieta veniva cambiata tre volte a settimana. Per gli esperimenti di laboratorio, gruppi di dieci ninfe di secondo stadio di *H. halys* sono stati sottoposti a trattamenti o a un gruppo di controllo. La dieta delle ninfe usata per gli esperimenti includeva solo un baccello fresco di fagiolini.

Trissolcus japonicus

La colonia di *T. japonicus* deriva dalla specie fornita dal Dipartimento dell'Agricoltura degli Stati Uniti (USDA) (dettagli in^{51,101}). La popolazione è stata mantenuta esponendo masse di uova congelate di *H. halys* a femmine di parassitoidi accoppiate (una femmina per massa di uova). I parassitoidi sono stati allevati in provette Falcon™ (50 ml) e mantenuti in una camera climatica a condizioni controllate (25 ± 1 °C, $60 \pm 5\%$ di umidità relativa, 16/8 ore L/D). La dieta consisteva in gocce di miele puro distribuite su un pezzo (2 × 2 cm) di pellicola da laboratorio (Parafilm, Bemis, USA). I test sono stati eseguiti su gruppi di dieci femmine di *T. japonicus*, di circa 7 giorni di vita.

Test di letalità in laboratorio su *Halyomorpha halys*

Gli esperimenti di laboratorio sono stati progettati per valutare gli effetti letali di diversi prodotti naturali sulle ninfe di *H. halys* esposte al contatto. Le ninfe sono state collocate in bicchieri trasparenti di polipropilene da 280 ml, trattati o non trattati, con coperchio ermetico (Plastitalia Group s.r.l., Firenze). Il coperchio presentava fori di apertura (1,5 mm di diametro) per permettere lo scambio d'aria. Sono stati condotti quattro esperimenti basati sul tipo di prodotto testato, ovvero: (1) formulazioni di insetticidi liquidi; (2) polveri di roccia silicea e argilla; (3) formulazioni in polvere di prodotti a base di zolfo e le loro miscele con polveri; e (4) formulazione liquida di polisolfuro di calcio. Tutti i prodotti sono stati applicati simulando le dosi di campo raccomandate per gli alberi da frutto. Le formulazioni liquide sono state distribuite sulla superficie interna del bicchiere utilizzando un aerografo a bassa pressione, al volume di 1,4 ml di soluzione (biopesticida più acqua distillata). Le polveri, invece, sono state distribuite con un pennello, con una quantità di 15 mg per coprire la superficie interna del bicchiere. Come controllo sono stati utilizzati bicchieri di plastica trattati con acqua o puliti. In dettaglio, nell'Esperimento 1 sono stati testati i seguenti insetticidi liquidi: azadiractina (Oikos, Sipcam Oxon S.p.A, Milano, Italia; dose da campo: 1,2 ml/L), olio d'arancia (Prev-Am Plus, Oro Agri Europe S.A., Portogallo; dose di campo: 3 ml/L) e sali di potassio di acidi grassi (Flipper, Alpha Biopesticides Ltd, Regno Unito; dose di campo: 20 ml/L). Nell'Esperimento 2 sono stati utilizzati diversi prodotti in polvere. Il caolino ("Polvere di roccia", CBC Europe S.r.l. divisione Biogard, Bergamo, Italia), Farina

di Basalto® ("Farina di Basalto XF", Basalti Orvieto S.r.l., Terni, Italia), zeolite con oltre il 50% di cabasite ("Zem 70", Bal-co Spa, Modena, Italia) e terra di diatomee ("Farina fossile", Palumbo Trading srl, Milano, Italia); tutte le polveri sono state applicate a una dose di campo di 30 kg/ha. Nell'Esperimento 3 sono stati valutati prodotti a base di zolfo e le loro miscele con insetticidi in polvere. In particolare, sono stati testati zolfo ventilato tipo 1 ("Zolfo doppio ventilato raffinato"; Manica Spa, Trento, Italia), zolfo ventilato tipo 2 ("Zolfo triventilato scorrevole 95% S"; Zolfi Ventilati Mannino Spa, Agrigento, Italia), zolfo tipo 1 più zeolite (miscela 40–60%), zolfo tipo 2 + zeolite (miscela 50–50%) e zolfo tipo 2 + terra di diatomee (miscela 50–50%); tutti testati alla dose di 30 kg/ha. Nell'Esperimento 4 è stato utilizzato il polisolfuro di calcio (Polisenio S.r.l., Ravenna, Italia), un fungicida normalmente ottenuto aggiungendo calce viva (CaO) allo zolfo⁹¹. Le concentrazioni testate erano 20, 30 e 50 g/L, quelle raccomandate per l'applicazione in campo su diverse colture. In tutte le prove, le ninfe di *H. halys* sono state conservate in una camera climatica a 25 ± 1 °C, $70 \pm 5\%$ di umidità relativa e a 16/8 h luce/buio. Sono state effettuate cinque repliche per ogni prodotto e controllo, e sono stati testati 10 insetti per ciascuna replica. Il tasso di mortalità è stato valutato dopo 4 e 7 giorni dall'applicazione del prodotto. Gli insetti sono stati considerati morti se non si muovevano dopo essere stati toccati con un pennello.

Test di letalità in laboratorio su *Trissolcus japonicus*

Le cellule di Munger sono state utilizzate per valutare gli effetti letali di contatto dei prodotti naturali sulle femmine parassitoidi^{102,103}. Gli esperimenti sono stati condotti in un'arena chiusa composta da una piastra in policarbonato (spessore 90 × 90 × 8 mm, con un foro circolare centrale di 60 mm di diametro) con due fori di ventilazione in ottone coperti a rete (diametro 0,4 cm) posizionati verticalmente su due lati opposti della placca. L'arena era incastonata tra due lastre di vetro (spesse 90 × 90 × 5 mm), e la parte inferiore era coperta con carta filtro utilizzata come superficie di contatto per il cammino, sia nei trattati che nel controllo. Tutti i prodotti testati su *H. halys* sono stati utilizzati anche sul parassitoide, ad eccezione delle miscele polvere-zolfo. Per quanto riguarda *H. halys*, le dosi di campo di ciascun prodotto venivano utilizzate anche per il parassitoide secondo le specifiche del produttore. Formulazioni liquide dei prodotti o dell'acqua distillata (per il controllo) venivano applicate su carta filtro a un volume di 0,4 ml. Le carte filtro sono state poi lasciate asciugare sotto cappa per 1 ora. I prodotti, le formulazioni e le dosi (o concentrazioni nel caso delle soluzioni) testati erano le seguenti. Gli insetticidi liquidi erano: azadiractina (1,2 ml/L), olio d'arancia (3 ml/L), sali di potassio degli acidi grassi (20 ml/L). Sono stati applicati caolino, Farina di Basalto®, zeolite, terra di diatomee, così come zolfo di tipo 1 e 2 al dosaggio di 0,0085 g. L'unico fungicida liquido era il polisolfuro (30 g/L). Gli adulti di *T. japonicus* sono stati esposti ai prodotti per un periodo di 7 giorni e, come per *H. halys*, la letalità è stata osservata tra i 4 e i 7 giorni. Una dieta a base di gocce di miele è stata distribuita sulle pareti dell'arena. Sono state effettuate quattro repliche per ciascun prodotto e sono state testate dieci femmine parassitoidi per ciascuna replica. Per quanto riguarda le cimici, gli insetti venivano considerati morti se non si muovevano dopo essere stati toccati con un pennello. Gli insetti utilizzati per i biosaggi sono stati mantenuti nelle

stesse condizioni controllate della colonia di parassitoidi.

Tabella 4. Panoramica dei diversi esperimenti sul campo condotti in tre frutteti nel 2021 e in due nel 2022 per la gestione di *Halyomorpha halys*.

Year, location	Product	Dosage
2021, Orchard A	Diatomaceous earth (Palumbo) (farm strategy)	30 kg/ha
	<i>Akanthomyces muscarius</i> Ve6 (Mycotal)	4 kg/ha
	<i>Beauveria bassiana</i> GHA (Botanigard OD)	2 L/ha
	Water (untreated control)	
2021, Orchard B	Acetamiprid (Epik SL, Kestrel, or Gazelle) (farm strategy)	Label doses
	Diatomaceous earth (Palumbo)	30 kg/ha
	<i>Beauveria bassiana</i> ATCC 74040 (Naturalis)	2 L/ha
	Water (untreated control)	
2021, Orchard C	Acetamiprid (Epik SL or Kestrel) (farm strategy)	Label doses
	Diatomaceous earth (Palumbo)	30 kg/ha
	<i>Beauveria bassiana</i> GHA (Botanigard OD)	2 L/ha
	Water (untreated control)	
2022, Orchard B	Acetamiprid (Epik SL or Kestrel) (farm strategy)	Label doses
	Calcium polysulfide (Polisenio) + Diatomaceous earth (Palumbo)	3 L/hl + 30 kg/ha
	Sulphur type 2 (Mannino) + Diatomaceous earth (Palumbo)	30 kg/ha + 30 kg/ha
	Water (untreated control)	
2022, Orchard C	Acetamiprid (Epik SL or Kestrel) + Diatomaceous earth (Palumbo) (farm strategy)	Label doses + 30 kg/ha
	Calcium polysulfide (Polisenio) + Diatomaceous earth (Palumbo)	3 L/hl + 30 kg/ha
	Sulphur type 2 (Mannino) + Diatomaceous earth (Palumbo)	30 kg/ha + 30 kg/ha

Esperimenti sul campo e valutazione dei danni ai frutti

Gli esperimenti in campo sono stati condotti nei frutteti di pere per due anni e hanno coinvolto tre aziende agricole nel 2021 (frutteti A, B e C) e due aziende nel 2022 (frutteti B e C) (Tabella 4). I frutteti si trovano nelle province di Modena e Ferrara (Nord Italia; frutteto A: 44°52'18.8"N 10°59'45.4"E; frutteto B: 44°50'08.6"N 11°48'49.6"E; frutteto C: 44°50'26.9"N 11°48'54.4"E). Il frutteto A è una coltivazione biologica di *Pyrus communis* L. var. William (1200 m²; 8 file; gli alberi sono piantati a 1 m di distanza e le file sono interspaziate di 4 m; 8 anni), mentre i frutteti B (1152 m²; 12 file; alberi a 0,8 m di distanza, interspazio tra 2,4 m tra le file; 11 anni) e C (1152 m²; 12 file; alberi a 0,8 m di distanza, interspazio tra le file e 2,4 m; 9 anni) sono sistemi di coltivazione integrata con *P. communis* var. Abate Fétel. Per gli esperimenti, i frutteti sono stati suddivisi in 4 parcelle (3 nel caso del frutteto C nel 2022), ciascuno utilizzato per un trattamento diverso (nel frutteto A ogni parcella era di 300 m², 2 file; nel frutteto B e C ogni parcella era di 288 m², 3 file). Per ottenere una copertura soddisfacente delle piante, sono stati applicati trattamenti liquidi utilizzando una pompa a motore a zaino Maruyama MS0835W con ugelli "CONHOLE 03" a una pressione di 5 bar, mentre per le applicazioni in polvere veniva utilizzata una Stihl SR 450. Per valutare e contare i frutti danneggiati, ogni parcella è stata ulteriormente suddivisa in quattro sotto-parcelle dove un campione di circa

100 frutti per sotto-parcella è stato esaminato per la possibile presenza di danni da alimentazione da *H. halys*.

I dettagli degli esperimenti sono mostrati nella Tabella 4. In ogni frutteto è stata confrontata la strategia aziendale per la gestione biologica (controllo trattato, gestione biologica) o la gestione integrata di *H. halys* (controllo trattato, gestione integrata) con strategie sperimentali alternative (trattamenti sperimentali) e con le parcelle trattate con acqua (controllo non trattato). Sono state scelte sei diverse strategie sperimentali in base ai dati della letteratura e agli esperimenti preliminari in azienda, tenendo conto dei vincoli agricoli inevitabili e scelte dettate dal mercato. Poiché gli esperimenti di laboratorio e di campo sono stati condotti simultaneamente, non è stato possibile progettare esperimenti di campo basati sui risultati di laboratorio.

Nel 2021, i trattamenti sperimentali hanno contemplato la terra di diatomee e i funghi entomopatogeni *B. bassiana* (ceppi ATCC 74040 e GHA) e *A. muscarius*, entrambe specie note per il loro impiego contro diversi taxa di insetti¹⁰⁴⁻¹⁰⁷. *Beauveria bassiana* si era precedentemente dimostrata in grado di causare un'elevata letalità nelle ninfe e negli adulti di *H. halys* in condizioni di laboratorio^{52,108}. *Akanthomyces muscarius* si è dimostrato efficace in laboratorio contro una specie di cimice imparentata, *Palomena prasina* (L.) (Ehm.: *Pentatomidae*)¹⁰⁹. Le strategie agricole e i trattamenti sperimentali erano diversi nei tre frutteti. Nel frutteto A la strategia agricola biologica era la terra di diatomee (Palumbo; 10 applicazioni), mentre i trattamenti sperimentali erano *A. muscarius* Ve6 (Mycotal, Koppert B. V., Paesi Bassi; 10 applicazioni) e *B. bassiana* GHA (Botanigard OD, Certis Europe B.V., Utrecht, Paesi Bassi; 10 applicazioni). È stata applicata solo acqua nel controllo non trattato. Nel frutteto B la strategia biologica si è basata sull'utilizzo di acetamiprid (Epik SL, Sipcam Italia S.p.A., Milano, Italia; o Kestrel, Nufarm Italia S.r.l., Milano, Italia; o Gazelle, Sipcam Italia S.p.A., Milano, Italia; in totale 5 applicazioni) mentre i trattamenti sperimentali consistevano in terra di diatomee (Palumbo; 11 applicazioni) e *B. bassiana* ATCC 74040 (Naturalis, CBC Europe S.r.l., Bergamo, Italia; 11 applicazioni). È stata applicata solo acqua nel controllo non trattato. Nel frutteto C la strategia biologica si è basata anch'essa sull'acetamiprid (Epik SL o Kestrel; 4 applicazioni), mentre i trattamenti sperimentali consistevano in terra di diatomee (Palumbo; 12 applicazioni) e *B. bassiana* GHA (Botanigard OD; 12 applicazioni). Questo frutteto includeva anche un appezzamento di controllo non trattato.

Nel 2022, i trattamenti sperimentali erano diversi rispetto al 2021 e si concentravano sulla terra di diatomee combinata con polisolfuro di calcio o zolfo. Gli esperimenti furono condotti solo nei frutteti B e C. Nel frutteto B, la strategia agricola si basava sull'acetamiprid (Epik SL o Kestrel; 3 applicazioni), mentre i trattamenti sperimentali erano terra di diatomee (Palumbo; 30 kg/ha) in applicazioni settimanali alternate con polisolfuro di calcio (Polisenio; 600 L/ha; 15 applicazioni combinate), oppure con zolfo tipo 2 (Mannino; 30 kg/ha; 15 applicazioni combinate). È stata inclusa una parcella di controllo non trattata. Nel frutteto C la strategia aziendale era diversa rispetto all'anno precedente, poiché l'acetamiprid (Epik SL o Kestrel; 3 applicazioni) è stato alternato con terra di diatomee (Palumbo; 7 applicazioni). I trattamenti sperimentali erano simili a quelli del frutteto B, mentre non era incluso alcun controllo non trattato.

In generale, in entrambi gli anni il momento della prima applicazione è coinciso con la comparsa di *H. halys* dai siti di svernamento, basandosi sulle catture registrate nelle trappole di monitoraggio (Materiali supplementari Figura S1), e i trattamenti sono proseguiti fino al raccolto. Campioni di circa 400 frutti sono stati raccolti casualmente per ogni trattamento e controllo. Sono stati campionati solo i frutti situati nella parte centrale della fila, escludendo così il bordo. Durante la stagione sono state effettuate tre valutazioni dei danni. Ogni frutto è stato ispezionato per individuare eventuali danni. Le lesioni da frutti esterni sono state valutate utilizzando uno dei seguenti codici: 0 (frutto intatto), 1 (frutto danneggiato), 2 (frutto gravemente deformato) (in modo simile a ¹¹⁰).

Analisi statistica

La mortalità di *H. halys* e *T. japonicus* in condizioni di laboratorio è stata corretta utilizzando la formula di Abbott^{111,112}. Le differenze tra i trattamenti (trasformata con arcoseno) sono state analizzate tramite modelli lineari (LM) seguiti da una procedura di confronto multiplo (livello di significatività, alfa = 0,05). Per ogni esperimento, il significato rispetto al controllo non trattato è stato estrapolato dal modello. Per le prove sul campo del 2021 e 2022, le percentuali di frutti danneggiati sono state calcolate utilizzando la formula Townsend–Heuberger^{113,114}. I dati sono stati analizzati tramite modelli lineari in un ambiente statistico R¹¹⁵.

Disponibilità dei dati

I dati generati durante lo studio attuale sono disponibili presso l'autore corrispondente su richiesta.

Riferimenti

- [1]. Seebens, H. et al. Projecting the continental accumulation of alien species through to 2050. *Glob. Change Biol.* **27**, 970–982 (2021).
- [2]. Vitousek, P. M., D'antonio, C. M., Loope, L. L., Rejmanek, M. & Westbrooks, R. Introduced species: a significant component of human-caused global change. *New. Z. J. Ecol.* **21**, 1–16 (1997).
- [3]. Meyerson, L. A. & Mooney, H. A. Invasive alien species in an era of globalization. *Front. Ecol. Environ.* **5**, 199–208 (2007).
- [4]. Tobin, P. C. Managing invasive species. *F1000Research* **7**, 1686 (2018).
- [5]. Pysek, P. et al. Scientists' warning on invasive alien species. *Biol. Rev.* **95**, 1511–1534 (2020).
- [6]. Seebens, H. et al. No saturation in the accumulation of alien species worldwide. *Nat. Commun.* **8**, 14435 (2017).
- [7]. Barzman, M. et al. Eight principles of integrated pest management. *Agron. Sustain. Dev.* **35**, 1199–1215 (2015).
- [8]. Damos, P., Colomar, L. A. & Ioriatti, C. Integrated fruit production and pest management in Europe: the apple case study and how far we are from the original concept? *Insects* **6**, 626–657 (2015).
- [9]. Shower, R., Tonina, L., Tirello, P., Duso, C. & Mori, N. Laboratory and field trials to identify effective chemical control strategies for integrated management of *Drosophila suzukii* in European cherry orchards. *Crop Prot.* **103**, 73–80 (2018).

- [10]. Guedes, R. N. C. et al. Insecticide resistance in the tomato pinworm *Tuta absoluta*: patterns, spread, mechanisms, management and outlook. *J. Pest Sci.* **92**, 1329–1342 (2019).
- [11]. Tabet, D. H. et al. Efficacy of insecticides against the invasive apricot aphid, *Myzus mumecola*. *Insects* **14**, 746 (2023).
- [12]. Wang, Z., Yan, H., Yang, Y. & Wu, Y. Biotype and insecticide resistance status of the whitefly *Bemisia tabaci* from China. *Pest Manag. Sci.* **66**, 1360–1366 (2010).
- [13]. Campos, M. R. et al. Spinosad and the tomato borer *Tuta absoluta*: a bioinsecticide, an invasive pest threat, and high insecticide resistance. *PLoS One.* **9**, e103235 (2014).
- [14]. Siddiqui, J. A. et al. Insights into insecticide-resistance mechanisms in invasive species: challenges and control strategies. *Front. Physiol.* **13**, 1112278 (2023).
- [15]. Nicolopoulou-Stamati, P., Maipas, S., Kotampasi, C., Stamatis, P. & Hens, L. Chemical pesticides and human health: the urgent need for a new concept in agriculture. *Front. Public. Health.* **4**, 148 (2016).
- [16]. Rani, L. et al. An extensive review on the consequences of chemical pesticides on human health and environment. *J. Clean. Prod.* **283**, 124657 (2021).
- [17]. Karabelas, A. J., Plakas, K. V., Solomou, E. S., Drossou, V. & Sarigiannis, D. A. Impact of European legislation on marketed pesticides—a view from the standpoint of health impact assessment studies. *Environ. Int.* **35**, 1096–1107 (2009).
- [18]. Hillocks, R. J. Farming with fewer pesticides: EU pesticide review and resulting challenges for UK Agriculture. *Crop Prot.* **31**, 85–93 (2012).
- [19]. Jactel, H. et al. Alternatives to neonicotinoids. *Environ. Int.* **129**, 423–429 (2019).
- [20]. Pavela, R. & Benelli, G. Essential oils as ecofriendly biopesticides? Challenges and constraints. *Trends Plant Sci.* **21**, 1000–1007 (2016).
- [21]. Giunti, G. et al. Repellence and acute toxicity of a nano-emulsion of sweet orange essential oil toward two major stored grain insect pests. *Ind. Crops Prod.* **142**, 111869 (2019).
- [22]. Rizzo, R. et al. Bioactivity of *Carlina acaulise* essential oil and its main component towards the olive fruit fly, *Bactrocera oleae*: ingestion toxicity, electrophysiological and behavioral insights. *Insects* **12**, 880 (2021).
- [23]. Copping, L. G. & Menn, J. J. Biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. *Pest Manag. Sci.* **56**, 651–676 (2000).
- [24]. Chandler, D. et al. The development, regulation and use of biopesticides for integrated pest management. *Philosophical Trans. Royal Soc. B: Biol. Sci.* **366**, 1987–1998 (2011).
- [25]. Daher, E. et al. Field and laboratory efficacy of low-impact commercial products in preventing olive fruit fly, *Bactrocera oleae*, infestation. *Insects* **13**, 213 (2022).
- [26]. Daher, E. et al. Characterization of olive fruit damage induced by invasive *Halyomorpha halys*. *Insects* **14**, 848 (2023).
- [27]. Gao, Y., Reitz, S. R., Wang, J., Xu, X. & Lei, Z. Potential of a strain of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Hypocreales: Cordycipitaceae) as a biological control agent against western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). *Biocontrol Sci. Technol.* **22**, 491–495 (2012).
- [28]. Wu, S., He, Z., Wang, E., Xu, X. & Lei, Z. Application of *Beauveria bassiana* and *Neoseiulus barkeri* for improved control of *Frankliniella occidentalis* in greenhouse cucumber. *Crop Prot.* **96**, 83–87 (2017).
- [29]. Zhang, X., Lei, Z., Reitz, S. R., Wu, S. & Gao, Y. Laboratory and greenhouse evaluation of a granular formulation of *Beauveria bassiana* for control of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Insects* **10**, 58 (2019).
- [30]. Williams, T., Valle, J. & Viñuela, E. Is the naturally derived Insecticide Spinosad® Compatible with Insect Natural enemies? *Biocontrol Sci. Technol.* **13**, 459–475 (2003).

- [31]. Jepsen, S. J., Rosenheim, J. A. & Bench, M. E. The effect of sulfur on biological control of the grape leafhopper, *Erythroneura elegantula*, by the egg parasitoid *Anagrus erythroneurae*. *BioControl* 52, 721–732 (2007).
- [32]. Babin, A., Lemauf, S., Rebuf, C., Poirié, M. & Gatti, J. L. Effects of *Bacillus thuringiensis* kurstaki bioinsecticide on two non-target *Drosophila* larval endoparasitoid wasps. *Entomol. Generalis.* 42, 611–620 (2022).
- [33]. Giunti, G. et al. Non-target effects of essential oil-based biopesticides for crop protection: impact on natural enemies, pollinators, and soil invertebrates. *Biol. Control.* 176, 105071 (2022).
- [34]. Desneux, N., Decourtye, A. & Delpuech, J. M. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Ann. Rev. Entomol.* 52, 81–106 (2007).
- [35]. Biondi, A., Desneux, N., Siscaro, G. & Zappala, L. Using organic-certified rather than synthetic pesticides may not be safer for biological control agents: selectivity and side effects of 14 pesticides on the predator *Orius laevigatus*. *Chemosphere* 87, 803–812 (2012).
- [36]. Teder, T. & Knapp, M. Sublethal effects enhance detrimental impact of insecticides on non-target organisms: a quantitative synthesis in parasitoids. *Chemosphere* 214, 371–378 (2019).
- [37]. Parsaeyan, E., Saber, M., Safavi, S. A., Poorjavad, N. & Biondi, A. Side effects of chlorantraniliprole, phosalone and spinosad on the egg parasitoid, *Trichogramma brassicae*. *Ecotoxicology* 29, 1052–1061 (2020).
- [38]. Passos, L. C. et al. Sublethal effects of plant essential oils toward the zoophytophagous mirid *Nesidiocoris tenuis*. *J. Pest Sci.* 95, 1609–1619 (2022).
- [39]. Stenberg, J. A. A conceptual framework for integrated pest management. *Trends Plant Sci.* 22, 759–769 (2017).
- [40]. Tiwari, A. K.. IPM Essentials Combining Biology, Ecology, and Agriculture for sustainable Pest Control. *J. Adv. Biology Biotechnol.* 27, 39–47 (2024).
- [41]. Cock, M. J. W. et al. Trends in the classical biological control of insect pests by insects: an update of the BIOCAT database. *BioControl* 61, 349–363 (2016).
- [42]. Kenis, M., Hurley, B. P., Hajek, A. E. & Cock, M. J. W. classical biological control of insect pests of trees: facts and figures. *Biol. Invasions.* 19, 3401–3417 (2017).
- [43]. Kriticos, D. J. et al. The potential global distribution of the brown marmorated stink bug, *Halyomorpha halys*, a critical threat to plant biosecurity. *J. Pest Sci.* 90, 1033–1043 (2017).
- [44]. Leskey, T. C. & Nielsen, A. L. Impact of the invasive brown marmorated stink bug in North America and Europe: history, biology, ecology, and management. *Ann. Rev. Entomol.* 63, 599–618 (2018).
- [45]. van der Heyden, T., Saci, A. & Dioli, P. First record of the brown marmorated stink bug *Halyomorpha halys* (Stål, 1855) in Algeria and its presence in North Africa (Heteroptera: Pentatomidae). *Revista Gaditana De Entomología.* 12, 147–154 (2021).
- [46]. Leskey, T. C. et al. Pest Status of the Brown Marmorated Stink bug, *Halyomorpha Halys* in the USA. *Outlooks Pest Manage.* 23, 218–226 (2012).
- [47]. Haye, T., Abdallah, S., Garipey, T. & Wyniger, D. Phenology, life table analysis and temperature requirements of the invasive brown marmorated stink bug, *Halyomorpha halys*, in Europe. *J. Pest Sci.* 87, 407–418 (2014).
- [48]. Bariselli, M., Bugiani, R. & Maistrello, L. Distribution and damage caused by *Halyomorpha halys* in Italy. *EPPO Bull.* 46, 332–334 (2016).
- [49]. Yang, Z. Q., Yao, Y. X., Qiu, L. F. & Li, Z. X. A new species of *Trissolcus* (Hymenoptera: Scelionidae) parasitizing eggs of *Halyomorpha halys* (Heteroptera: Pentatomidae) in China with comments on its biology. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 102, 39–47 (2009).
- [50]. Haye, T. et al. Fundamental host range of *Trissolcus japonicus* in Europe. *J. Pest Sci.* 93, 171–182 (2020).

- [51]. Sabbatini-Peverieri, G. et al. Combining physiological host range, behavior and host characteristics for predictive risk analysis of *Trissolcus japonicus*. *J. Pest Sci.* 94, 1003–1016 (2021).
- [52]. Parker, B. L., Skinner, M., Gouli, S., Gouli, V. & Kim, J. S. Virulence of BotaniGard(R) to second Instar Brown Marmorated Stink bug, *Halyomorpha halys* (Stål) (Heteroptera: Pentatomidae). *Insects* 6, 319–324 (2015).
- [53]. Tozlu, E. et al. Potentials of some entomopathogens against the brown marmorated stink bug, *Halyomorpha halys* (Stål, 1855) (Hemiptera: Pentatomidae). *Egypt. J. Biol. Pest Control* 29 (2019).
- [54]. Gonella, E., Orrù, B. & Alma, A. Symbiotic control of *Halyomorpha halys* using a microbial biopesticide. *Entomol. Generalis.* 42, 901–909 (2022).
- [55]. Lee, D. H., Short, B. D., Nielsen, A. L. & Leskey, T. C. Impact of Organic insecticides on the Survivorship and mobility of *Halyomorpha halys*(Stål) (Hemiptera: Pentatomidae) in the Laboratory. *Fla. Entomol.* 97, 414–421 (2014).
- [56]. Morehead, J. A. & Kuhar, T. P. Efficacy of organically approved insecticides against brown marmorated stink bug, *Halyomorpha halys* and other stink bugs. *J. Pest Sci.* 90, 1277–1285 (2017).
- [57]. Lowenstein, D. M., Andrews, H., Mugica, A. & Wiman, N. G. Sensitivity of the egg parasitoid *trissolcus japonicus* (Hymenoptera: Scelionidae) to field and laboratory applied insecticide residue. *J. Econ. Entomol.* 112, 2077–2084 (2019).
- [58]. Ribeiro, A. V., Holle, S. G., Hutchison, W. D. & Koch, R. L. Lethal and sublethal effects of conventional and organic insecticides on the parasitoid *Trissolcus japonicus*, a biological control agent for *Halyomorpha halys*. *Front. Insect Sci.* 1, 685755 (2021).
- [59]. Fouani, J. M. et al. Dose-response and sublethal effects from insecticide and adjuvant exposure on key behaviors of *Trissolcus japonicus*. *Entomol. Generalis.* 2024, 1–9 (2024).
- [60]. EFSA. Statement on the toxicological properties and maximum residue levels of acetamiprid and its metabolites. *EFSA J.* 22, e8759 (2024).
- [61]. Falagiarda, M. et al. Factors influencing short-term parasitoid establishment and efficacy for the biological control of *Halyomorpha halys* with the samurai wasp *trissolcus japonicus*. *Pest Manag. Sci.* 79, 2397–2414 (2023).
- [62]. Mordue, A. J. & Blackwell, A. Azadirachtin: an update. *J. Insect. Physiol.* 39, 903–924 (1993).
- [63]. Riba, M., Martí, J. & Sans, A. Influence of azadirachtin on development and reproduction of *Nezara viridula* L. (Het., Pentatomidae). *J. Appl. Entomol.* 127, 37–41 (2003).
- [64]. Morgan, E. D. Azadirachtin, a scientific gold mine. *Bioorg. Med. Chem.* 17, 4096–4105 (2009).
- [65]. Aggarwal, N. & Brar, D. S. Effects of different neem preparations in comparison to synthetic insecticides on the whitefly parasitoid *Encarsia sophia* (Hymenoptera: Aphelinidae) and the predator *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) on cotton under laboratory conditions. *J. Pest Sci.* 79, 201–207 (2006).
- [66]. Suma, P., Cocuzza, G. M., Maffioli, G. & Convertini, S. Efficacy of a fast acting contact bio insecticide-acaricide of vegetable origin in controlling greenhouse insect pests. *IOBC-WPRS Bull.* 147, 141–143 (2019).
- [67]. Smith, G. H., Roberts, J. M. & Pope, T. W. Terpene based biopesticides as potential alternatives to synthetic insecticides for control of aphid pests on protected ornamentals. *Crop Prot.* 110, 125–130 (2018).
- [68]. Soares, M. A. et al. Detrimental sublethal effects hamper the effective use of natural and chemical pesticides in combination with a key natural enemy of *Bemisia tabaci* on tomato. *Pest Manag. Sci.* 76, 3551–3559 (2020).
- [69]. Biondi, A., Zappala, L., Stark, J. D. & Desneux, N. Do biopesticides affect the demographic traits of a parasitoid wasp and its biocontrol services through sublethal effects? *PLoS One.* 8, e76548 (2013).
- [70]. Glenn, D. M., Puterka, G. J., Vanderzwet, T., Byers, R. E. & Feldhake, C. Hydrophobic particle films: a new paradigm for suppression of arthropod pests and plant diseases. *J. Econ. Entomol.* 92, 759–771 (1999).

- [71]. De Smedt, C., Someus, E. & Spanoghe, P. Potential and actual uses of zeolites in crop protection. *Pest Manag. Sci.* 71, 1355–1367 (2015).
- [72]. Kuhar, T. P., Morehead, J. A. & Formella, A. J. Applications of kaolin protect fruiting vegetables from brown marmorated stink bug (Hemiptera: Pentatomidae). *J. Entomol. Sci.* 54, 401–408 (2019).
- [73]. Golob, P. Current status and future perspectives for inert dusts for control of stored product insects. *J. Stored Prod. Res.* 33, 69–79 (1997).
- [74]. Korunic, Z. Diatomaceous earths, a group of natural insecticides. *J. Stored Prod. Res.* 34, 87–97 (1998).
- [75]. Zeni, V., Balota, G. V., Benelli, G., Canale, A. & Athanassiou, C. G. Diatomaceous earth for arthropod pest control: back to the future. *Molecules* 26, 7487 (2021).
- [76]. Shah, M. A. & Khan, A. A. Use of diatomaceous earth for the management of stored-product pests. *Int. J. Pest Manage.* 60, 100–113 (2014).
- [77]. Elimem, M. et al. Evaluation of insecticidal efficiency of basalt powder Farina Di Basalto® to control *Tribolium castaneum* (Coleoptera, Tenebrionidae), *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera, Bostrichidae) and *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera, Pyralidae) on stored wheat. *J. Agric. Veterinary Sci.* 14, 1–6 (2021).
- [78]. Bengochea Budia, P. Side effects of kaolin on natural enemies found on olive crops. *IOBC WPRS Bull.* 55, 61–67 (2010).
- [79]. Perez-Mendoza, J., Baker, J. E., Arthur, F. H. & Flinn, P. W. Effects of Protect-It on efficacy of *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae) parasitizing rice weevils (Coleoptera: Curculionidae) in wheat. *Environ. Entomol.* 28, 529–534 (1999).
- [80]. Williams, J. S. & Cooper, R. M. The oldest fungicide and newest phytoalexin – a reappraisal of the fungitoxicity of elemental sulphur. *Plant. Pathol.* 53, 263–279 (2004).
- [81]. Devendar, P. & Yang, G. F. Sulfur-containing agrochemicals. *Top. Curr. Chem.* 375, 82 (2017).
- [82]. Griffith, C. M., Woodrow, J. E. & Seiber, J. N. Environmental behavior and analysis of agricultural sulfur. *Pest Manag. Sci.* 71, 1486–1496 (2015).
- [83]. Dahlawi, S. M. & Siddiqui, S. Calcium polysulphide, its applications and emerging risk of environmental pollution-a review article. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 24, 92–102 (2017).
- [84]. Scaccini, D. et al. Application of sulfur-based products reduces *Halyomorpha halys* infestation and damage in pome fruit orchards. *Pest Manag. Sci.* 80, 6251–6261 (2024).
- [85]. Scaccini, D. et al. Wettable sulphur application for *Halyomorpha halys* (Stal) (Hemiptera: Pentatomidae) management: laboratory and semi-field experiments. *Pest Manag. Sci.* 80, 3620–3627 (2024).
- [86]. Akbar, W., Lord, J. C., Nechols, J. R. & Howard, R. W. Diatomaceous earth increases the efficacy of *Beauveria bassiana* against *Tribolium castaneum* larvae and increases conidia attachment. *J. Econ. Entomol.* 97, 273–280 (2004).
- [87]. Athanassiou, C. G. & Steenberg, T. Insecticidal effect of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Ascomycota: Hypocreales) in combination with three diatomaceous earth formulations against *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Biol. Control.* 40, 411–416 (2007).
- [88]. Wakil, W. et al. Entomopathogenic fungus and enhanced diatomaceous earth: the sustainable lethal combination against *Tribolium castaneum*. *Sustainability* 15, 4403 (2023).
- [89]. Thompson, G. D., Dutton, R. & Sparks, T. C. Spinosad - a case study: an example from a natural products discovery programme. *Pest Manag. Sci.* 56, 696–702 (2000).
- [90]. Zappalà, L. et al. Efficacy of sulphur on *Tuta absoluta* and its side effects on the predator *Nesidiocoris tenuis*. *J. Appl. Entomol.* 136, 401–409 (2012).
- [91]. Beers, E. H., Martinez-Rocha, L., Talley, R. R. & Dunley, J. E. Lethal, sublethal, and behavioral effects of sulfur-containing products in bioassays of three species of orchard mites. *J. Econ. Entomol.* 102, 324–335 (2009).

- [92]. Andreazza, F. et al. Toxicity to and egg-laying avoidance of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) caused by an old alternative inorganic insecticide preparation. *Pest Manag. Sci.* 74, 861–867 (2018).
- [93]. Golan, K., Kot, I. & Kmieć, K. Górská-Drabik, E. approaches to integrated pest management in orchards: *Comstockaspis perniciosa* (Comstock) case study. *Agriculture* 13, 131 (2023).
- [94]. Rondoni, G. et al. How exposure to a neonicotinoid pesticide affects innate and learned close-range foraging behaviour of a classical biological control agent. *Biol. Control.* 196, 105568 (2024).
- [95]. Mishra, S., Kumar, P. & Malik, A. Effect of temperature and humidity on pathogenicity of native *Beauveria bassiana* isolate against *Musca domestica* L. *J. Parasitic Dis.* 39, 697–704 (2015).
- [96]. Nenaah, G. E., Ibrahim, S. I. A. & Al-Assiuty, B. A. Chemical composition, insecticidal activity and persistence of three Asteraceae essential oils and their nanoemulsions against *Callosobruchus maculatus* (F). *J. Stored Prod. Res.* 61, 9–16 (2015).
- [97]. Ludwick, D. C. et al. *Trissolcus japonicus* (Ashmead, (Hymenoptera: Scelionidae) into management programs for *Halyomorpha halys* (Stal, 1855) (Hemiptera: Pentatomidae) in apple orchards: Impact of insecticide applications and spray patterns. *Insects* 11 (2020). (1904).
- [98]. Simaz, O. et al. Field releases of the exotic parasitoid *Trissolcus japonicus* (Hymenoptera: Scelionidae) and survey of native parasitoids attacking *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Pentatomidae) in Michigan. *Environ. Entomol.* 52, 998–1007 (2023).
- [99]. Paul, R. L. et al. An effective fluorescent marker for tracking the dispersal of small insects with field evidence of mark-release-recapture of *Trissolcus japonicus*. *Insects* 15 (2024).
- [100]. Penagos, D. I., Cisneros, J., Hernández, O. & Williams, T. Lethal and sublethal effects of the naturally derived insecticide spinosad on parasitoids of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Biocontrol Sci. Technol.* 15, 81–95 (2005).
- [101]. Chierici, E., Sabbatini-Peverieri, G., Roversi, P. F., Rondoni, G. & Conti, E. Phenotypic plasticity in an egg parasitoid affects olfactory response to odors from the plant–host complex. *Front. Ecol. Evol.* 11, 1233655 (2023).
- [102]. Hassan, S. A. et al. Standard methods to test the side-effects of pesticides on natural enemies of insects and mites developed by the IOBC/WPRS Working Group 'Pesticides and beneficial organisms'. *Eppo Bull.* 15, 214–255 (1985).
- [103]. Morse, J. G., Bellows, T. S. & Iwata, Y. Technique for evaluating residual toxicity of pesticides to motile insects. *J. Econ. Entomol.* 79, 281–283 (1986).
- [104]. Feng, M. G., Poprawski, T. J. & Khachatourians, G. G. Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: current status. *Biocontrol Sci. Technol.* 4, 3–34 (1994).
- [105]. de Faria, M. R. & Wraight, S. P. Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biol. Control.* 43, 237–256 (2007).
- [106]. Goettel, M. S. et al. Potential of *Lecanicillium* spp. for management of insects, nematodes and plant diseases. *J. Invertebr. Pathol.* 98, 256–261 (2008).
- [107]. Wang, H., Peng, H., Li, W., Cheng, P. & Gong, M. The toxins of *Beauveria bassiana* and the strategies to improve their virulence to insects. *Front. Microbiol.* 12, 705343 (2021).
- [108]. Gouli, V. et al. Virulence of select entomopathogenic fungi to the brown marmorated stink bug, *Halyomorpha halys* (Stal) (Heteroptera: Pentatomidae). *Pest Manag. Sci.* 68, 155–157 (2012).
- [109]. Ozdemir, I. O., Tuncer, C. & Ozer, G. Molecular characterisation and efficacy of entomopathogenic fungi against the green shield bug *Palomena prasina* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae) under laboratory conditions. *Biocontrol Sci. Technol.* 31, 1298–1313 (2021).

- [110]. Fornasiero, D., Scaccini, D., Lombardo, V., Galli, G. & Pozzebon, A. Effect of exclusion net timing of deployment and color on *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Pentatomidae) infestation in pear and apple orchards. *Crop Prot.* 172, 106331 (2023).
- [111]. Abbott, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18, 265–267 (1925).
- [112]. Ahmad, M., Kamran, M., Abbas, M. N. & Shad, S. A. Ecotoxicological risk assessment of combined insecticidal and thermal stresses on *Trichogramma chilonis*. *J. Pest Sci.* 97, 921–931 (2023).
- [113]. Masetti, A. et al. Evaluation of an attract-and-kill strategy using long-lasting insecticide nets for the management of the brown marmorated stink bug in Northern Italy. *Insects* 15, 577 (2024).
- [114]. Townsend, G. R. & Heuberger, J. W. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *Plant. Disease Report.* 27, 340–343 (1943).
- [115]. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, (2022).

Ringraziamenti

Gli autori ringraziano Ciro Lazzarin, Mauro Gavioli, Costantino Pellati, Antonio Trovò, Andrea Luchetti e Daniela Fortini per l'assistenza amministrativa, di laboratorio e sul campo. Il finanziamento è stato in parte fornito dalla Regione Emilia-Romagna con il progetto "PSR 2014–2020, misura 16.1.01, Sistemi integrati sostenibili di comprensorio per il controllo della cimice asiatica (*Halyomorpha halys*), acronimo S.I.S.C.C.A.". GR è stato finanziato da H2020-MSCA-IF, ID accordo di sovvenzione: 101026399. Questa ricerca è stata condotta nell'ambito del progetto "Strategie agricole innovative che integrano fertilizzazione sostenibile con azona, gestione dell'acqua e controllo dei parassiti per ridurre l'inquinamento e la salinizzazione dell'acqua e del suolo nella Mediterranea-Safe-H2O-Farm. La Safe-H2O-Farm fa parte del Programma PRIMA, sostenuto dall'Unione Europea con cofinanziamento del Ministero dell'Università e della Ricerca italiano.

Contributi degli autori

E. M., A. R., G. R. e E.Co. concepirono il manoscritto. E.Ch., E.M., A.R., G.R. ed E. Co. svilupparono la metodologia. E.Ch., E.M., A.P., A.R., V.A.G., L.G., L.Z. e G.R. condussero indagini. E.Ch., E.M., A.P., A.R. e G.R. curavano i dataset. E.Ch., E.M. e G.R. hanno analizzato i dati. E.M., A.R., G.R. e E.Co. supervisionavano la ricerca. E.Ch., A.P., G.R. e E.Co. scrissero la prima bozza. Tutti gli autori hanno esaminato il manoscritto.

Dichiarazioni

Interessi in competizione

Gli autori dichiarano di non avere interessi in conflitto.

Informazioni aggiuntive

Informazioni supplementari: La versione online contiene materiale supplementare disponibile su <https://doi.org/10.1038/s41598-025-87325-9>.

La corrispondenza e le richieste di materiali devono essere indirizzate a G.R.

Ristampe e informazioni sui permessi sono disponibili su www.nature.com/reprints.

Nota dell'editore Springer Nature rimane neutrale riguardo alle rivendicazioni giurisdizionali nelle mappe pubblicate e nelle affiliazioni istituzionali.

Open Access Questo articolo è concesso in licenza con una Licenza Creative Commons Attribuzione-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International, che consente qualsiasi uso, condivisione, distribuzione e riproduzione non commerciale in qualsiasi mezzo o formato, purché si conceda il giusto credito all'autore originale e alla fonte, fornisca un link alla licenza Creative Commons e indichi se hai modificato il materiale in licenza. Non hai il permesso ai sensi di questa licenza di condividere materiale adattato derivato da questo articolo o da parti di esso. Le immagini o altri materiali di terze parti presenti in questo articolo sono inclusi nella licenza Creative Commons dell'articolo, salvo diversa indicazione in una linea di credito al materiale. Se il materiale non è incluso nella licenza Creative Commons dell'articolo e il tuo uso previsto non è consentito dalla normativa statutaria o supera l'uso consentito, dovrai ottenere il permesso direttamente dal titolare del copyright. Per visualizzare una copia di questa licenza, visita <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>.

© L'autore/i 2025, pubblicazione corretta 2025 Scientifico