

VERIFICA DELL'EFFICACIA ABBATTENTE SU *Aedes albopictus* DI UN FORMULATO INSETTICIDA A BASE DI PIRETRINE NATURALI

IL MERCATO ITALIANO OFFRE VARI PRODOTTI INSETTICIDI A BASE DI PIRETRINE E, UN TEST PER VERIFICARNE LE PRESTAZIONI IN CAMPO

Introduzione

Le cosiddette Piretrine includono sei composti (piretrina-1, piretrina-2, cinarina 1, cinarina 2, jasmolina 1 e jasmolina 2) con spiccate proprietà insetticide, tutti presenti nella polvere essiccata dei capolini della margherita del piretro (*Chrysanthemum cinerariaefolium*, fam. Compositae). L'effetto tossico negli insetti si ha quando le piretrine penetrano nella cuticola e raggiungono le cellule nervose nelle quali si legano ai canali del sodio di membrana, strutture responsabili della trasmissione del segnale nervoso. Il legame delle piretrine nei canali del sodio rallenta e altera il normale flusso degli ioni, con

conseguente ipereccitazione e paralisi, che porta a morte l'insetto. Il mercato italiano offre vari prodotti insetticidi a base di piretrine e, soprattutto, di piretroidi (che di queste sono gli analoghi sintetici) destinati all'uso professionale e non, per soddisfare una domanda che negli ultimi decenni, l'insediamento della Zanzara Tigre ha fatto crescere sensibilmente.

Le piretrine mostrano rapida fotodegradazione all'aperto con tempi di emivita da 2 ore a 2 giorni, ragione che ha stimolato la sintesi di nuove molecole, comprese nella categoria dei piretroidi, dotate di maggiore tossicità e persistenza. Se contro insetti fitofagi o striscianti all'interno di edifici, la lunga

emivita dei piretroidi può rappresentare una proprietà utile, nella lotta alle zanzare in ambiente aperto la persistenza ne aumenta gli effetti collaterali. Oltre al danno ambientale legato al largo spettro d'azione insetticida e ai rischi per la salute, la persistenza contribuisce allo sviluppo della resistenza da parte delle zanzare, fenomeno osservato di recente nei confronti di permetrina e cipermetrina in popolazioni di Zanzara Tigre in alcuni luoghi della nostra penisola. La mitigazione di tali impatti negativi richiede un ricorso oculato agli adulticidi che dovrebbero essere impiegati soltanto in caso di assoluta necessità e laddove sia concreto il rischio di trasmissione di malattie



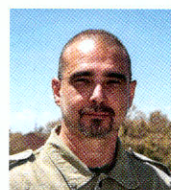
Veronesi Rodolfo
Centro Agricoltura
Ambiente "G. Nicoli",
Crevalcore (BO)



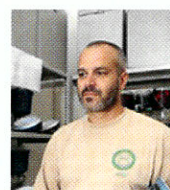
Marco Carrieri
Centro Agricoltura
Ambiente "G. Nicoli",
Crevalcore (BO)



Romeo Bellini
Centro Agricoltura
Ambiente "G. Nicoli",
Crevalcore (BO)



Dario Guidi
ANTEA,
Comacchio (FE)



Enrico Luciani
ANTEA,
Comacchio (FE)



Gli aduclticipidi andrebbero impiegati soltanto in caso di assoluta necessità

da arbovirus con vettore zanzara. In subordine vi è la scelta del principio attivo che può trovare nelle piretrine, rispetto alle attuali conoscenze tossicologiche e per la loro rapida foto-decomposizione, un male minore. Peraltro, tale orientamento è possibile che sia rafforzato dagli effetti dell'applicazione del Regolamento UE Biocidi che nel breve-medio periodo probabilmente ridurrà l'assortimento dei principi attivi da utilizzare per la lotta alle zanzare all'aperto a favore delle molecole con profilo tossicologico più "rassicurante". Nella consapevolezza di quanto finora esposto presentiamo l'esito di prove di campo sull'efficacia abbattente nei confronti di *Aedes albopictus* di un formulato commerciale a base di piretrine naturali.

Materiali e metodi

Area di prova. La prova, consistente in tre repliche effettuate in data 10, 17 settembre e 23 ottobre 2020, è stata condotta in un boschetto in Valle Pega presso l'abitato di Comacchio (FE). I dati climatici relativi al momento di esecuzione dei trattamenti sono stati ottenuti dal sito Arpae Emilia-Romagna, stazione meteo "Guagnino", distante circa 3 km in linea d'aria.

Specie bersaglio. Gli adulti di *Ae. albopictus*, maschi e femmine, impiegati in tutte le tre repliche, provenivano da un ceppo sensibile in allevamento presso il laboratorio CAA di Crevalcore (BO). Un numero variabile di esemplari veniva collocato in 25 cilindretti di tulle

(media di $28,3 \pm 17,8$ DS esemplari per cilindretto) (Figura 1 e 1.2), dei quali 20 erano appesi ai rami ad altezza variabile da 0,5 a 2,0 m, gli stessi nelle tre repliche, lungo un transetto orientato SE-NE, parallelo al passaggio del nebulizzatore. Il transetto è stato scelto sulla base della direzione prevalente del vento. I retini distanziavano da 2 a 8 m dal percorso seguito dall'automezzo fuoristrada portante il nebulizzatore. I restanti 5 cilindretti, utilizzati come testimone non trattato, sono stati appesi a rami di alberi in una zona del boschetto non impattata dall'insetticida (Fig. 2).



Figura 1 e 1.2 - Retini contenenti *Aedes albopictus* prima (a sx) e dopo (a dx) il trattamento in una delle tre repliche della prova

Prodotto e tecnica di trattamento. L'insetticida testato, SPEEDY-PY 50 (REA Srl, autorizzato come PMC dal Ministero per la Salute con n° 20475), è un formulato in microemulsione acquosa senza solventi in cui l'estratto di piretro al 50% è presente al 5% (g. 5 ogni 100 g. di prodotto). Secondo le indicazioni di etichetta il formulato è stato impiegato alla dose del 2% e irrorato con un nebulizzatore Dyna-Fog Maxi-Pro 145™ (Fig. 3). Secondo la scheda tecnica della macchina, la nebbia fredda prodotta è costituita dal 90% di goccioline con diametro medio inferiore a 20 µm con la portata d'aria massima di 11,2 m³/min. In ciascuna replica l'automezzo ha percorso in andata e ritorno un tratto parallelo al transetto lungo il quale erano stati appesi, poco prima, i retini con le zanzare.

Sulla base del volume di sospensione insetticida erogata (5 litri), della sua concentrazione (2%), e della superficie

teorica coinvolta dalla nube irrorata (m 160X20), si può stimare una dose irrorata di 0,03 ml di prodotto per mq (pari a 300 ml/ha).

I retini sono stati controllati dopo un'ora dal trattamento e per ciascuno sono state contate le zanzare vive. Gli individui che mostravano segni di stress sono stati conteggiati come vivi. Il numero totale di esemplari, vivi e morti, in ogni retino è stato invece conteggiato successivamente in laboratorio.

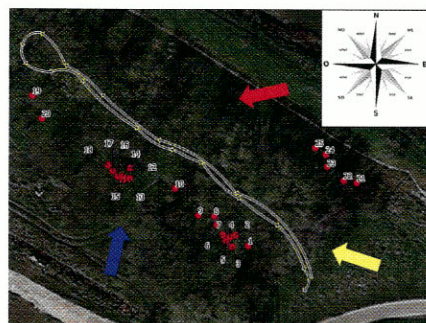


Fig. 2 - Area di svolgimento delle tre prove (Valle Pega di Comacchio). Retini con esemplari di *Aedes albopictus*: codici da 1 a 20 trattati; codici da 21 a 25 testimone non trattati. Linea gialla: percorso del nebulizzatore in andata e ritorno. Freccie colorate: direzione del vento durante le tre repliche (blu 10/9; rosso 17/9; giallo 23/10)



Fig. 3 - Nebulizzazione dell'insetticida durante la prova

Risultati e discussione

La situazione meteorologica durante le tre repliche è riepilogata in Tab.1.

Data e periodo del trattamento	Direzione media degli ultimi 30 minuti del vento a 10 m dal suolo (Gradi)	Velocità media degli ultimi 30 minuti del vento a 10 m dal suolo (Km/h)	Temperatura media dell'aria istantanea a 2 m dal suolo (°C)
10/09/2020 18:00:00	193 (SSW)	7,92	23,85
10/09/2020 18:30:00			
17/09/2020 19:00:00	78,5 (ENE)	18,36	25,45
17/09/2020 19:30:00			
23/10/2020 11:00:00	108 (ESE)	4,42	13,75
23/10/2020 11:30:00			

La mortalità media ottenuta è stata del 53,99% nel trattamento del 10 settembre, del 95,12% in quello del 17 settembre e dell'85,29% nell'ultimo del 23 ottobre. Nei retini testimoni la mortalità è risultata nulla il 10/9, del 1,7% ($\pm 2,89$) il 17/9 e del 2,98% ($\pm 5,09$) il 23/10 (Tab. 2).

Tab.1

Tab.2

Tab. 2 - Mortalità media ottenuta nelle tre repliche (T1= trattamento del 10/9; T2 trattamento del 17/9; T3 trattamento del 23/9)

Replica	Dist. media (m)	Vento		Temp. °C	Mortalità (%)			Test Tukey
		km/h	Direz		N	Media	Dev.st.	
T1	4.75	7.92	SSW	23.85	20	53.99	39.79	a
T2	4.75	18.36	ENE	25.45	20	95.12	11.52	b
T3	4.75	4.42	ESE	13.75	20	85.29	17.69	b

L'analisi della varianza tra le tre repliche (trasformazione angolare delle percentuali di mortalità) e con l'applicazione del test di Tukey per la separazione delle medie, evidenzia una differenza statisticamente significativa ($F_{2,59}=14.04$ e $p<0,0001$) tra la mortalità della prima replica e quella delle altre due, tra le quali non c'è differenza significativa (Tab. 2).

La mortalità media non particolarmente elevata ottenuta nel primo trattamento può trovare spiegazione nell'effetto della leggera brezza (circa 8 km/h) che soffiava da SSW, quindi verosimilmente in grado di ostacolare la nebbia dell'insetticida irrorata verso i retini. La direzione del vento durante gli altri due trattamenti era invece a favore.

In media nei tre trattamenti la mortalità registrata è stata del $78.13 \pm 21.48\%$. Non emergono differenze significative tra le mortalità osservate nei retini collocati a diverse distanze dal percorso del nebulizzatore (ANOVA $F_{59}=1.73$ e $P=0.18$). Dato del tutto coerente e atteso per il ristretto range utilizzato (2-8 m) (Fig. 4).

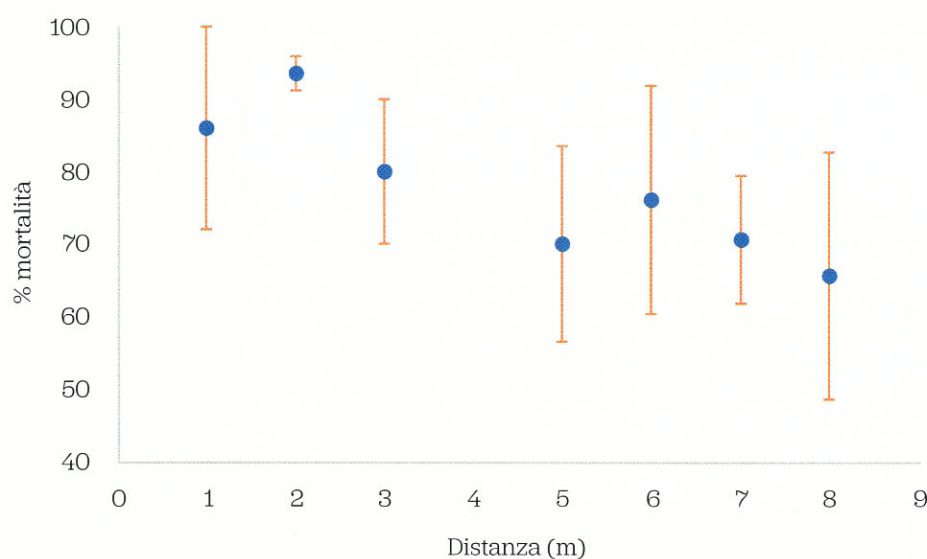


Fig. 4 - Rappresentazione grafica (media \pm SE) della mortalità media nei retini delle tre repliche in relazione alla distanza del passaggio del nebulizzatore

Infine, rispetto all'altezza alla quale erano posizionati i retini (da 0,5 a 2,0 m), non si è dimostrata una correlazione significativa con la mortalità.

In conclusione, il prodotto testato ha mostrato una buona capacità abbattente. Le diverse temperature registrate nel corso delle tre repliche (14-25°C) non sembrano aver avuto influenze rilevanti sulle prestazioni dell'insetticida, mentre la brezza sfavorevole sembra avere un sensibile ruolo negativo.

A fronte di una dose di distribuzione minima consigliata indicata nella scheda tecnica per i trattamenti contro le zanzare di 0,8-1,3 ml/mq, la quantità distribuita in ogni replica della prova è stata di 0,03 ml/mq (considerando prudenzialmente un fronte nebulizzato di 20 m) quindi 27 volte inferiore. Nonostante ciò, la mortalità ottenuta è stata soddisfacente, compreso il cosiddetto effetto abbattente immediato (*knock-down*). Oltre alla proprietà insetticida del prodotto testato, hanno senz'altro contribuito al risultato le prestazioni del nebulizzatore, tarato per lavorare a bassissimo volume e per produrre un aerosol di particelle con diametro nel range 10-50 µm.

Le piretrine naturali sono, come i più diffusi piretroidi, anch'esse prive di selettività ma hanno un profilo tossicologico da ritenersi migliore essendo per nulla persistenti a causa della forte fotosensibilità.

Altra considerazione riguarda l'assenza nel prodotto testato di piperonil butossido, sinergizzante molto spesso presente come coformulante. Tale sostanza ha la funzione di inibire la degradazione del principio attivo nell'organismo-bersaglio che normalmente avviene grazie agli enzimi della famiglia del citocromo P450, e protettiva, aumentando la durata dell'efficacia insetticida. Tuttavia, di contro, ha una tossicità da non sottovalutare come evidenzia il Regolamento CLP che impone, quando presente, di indicare in etichetta le seguenti frasi di Pericolo H400 ["Molto tossico per gli organismi acquatici"] e H410 ["Molto tossico per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata"].

Ringraziamenti

Si ringraziano il Comune di Comacchio e il Servizio Turismo, Commercio e Sport della Regione Emilia-Romagna che finanziano il progetto "Interventi di lotta ai culicidi nelle località turistiche costiere inserite nell'area del delta del Po" (LR 15/91), nell'ambito del quale la prova è stata condotta.

Riferimenti bibliografici

Bellini R., Veronesi R., Angelini P., Govoni C., Venturelli C., Ganzi A., Soracase A. 2019, *Per una strategia integrata di lotta alle zanzare. Linee guida per il corretto utilizzo dei trattamenti adulticidi*. Servizio sanitario regionale, Regione Emilia-Romagna, pp. 96.

Burns C.J., Pastoor T.P. 2018, *Pyrethroid epidemiology: a quality-based review*, Critical Reviews Toxicology 48(4), pp. 297-311, DOI: 10.1080/10408444.2017.1423463.

Davies T.G., Field L.M., Usherwood P.N., Williamson M.S. 2007. *DDT, pyrethrins, pyrethroids and insect sodium channels*, IUBMB Life 59(3), pp. 151-62. DOI: 10.1080/15216540701352042. PMID: 17487686.

Duchon S. et al. 2009. *Pyrethrum: amixture of natural pyrethrins has potential for malaria vector control*. J. Med. Entomol. 46, pp. 516-522.

Katsuda Y. 1999, *Development and future prospects for pyrethroid chemistry*. Pest. Sci. 55, pp. 775-782.

Kgoroebutswe T.K. et al. 2020, *Distribution of Anopheles mosquito species, their vectorial role and profiling of knock-down resistance mutations in Botswana*, Parasitol. Res. 119, pp. 1201-1208.

Muhammad Sarwar, Muhammad Salman. 2015, *Success Stories of Eco-friendly Organically Acceptable Insecticides as Natural Products Discovery*, International Journal of Materials Chemistry and Physics, 1(3), pp. 388-

394. <http://www.aiscience.org/journal/ijmcp>.

Pichler V., Bellini R., Veronesi R., Arnoldi D., Rizzoli A., Lia R.P., Otranto D., Montarsi F., Carlin S.,

Ballardinii M., Antognini E., Salvemini M., Brianti E., Gaglio G., Manica M., Cobre P., Sereni P.,

Velo E., Vontas J., Kioulos I., Pinto J., Della Torre A., Caputo B. 2017, *First evidence of resistance*

to pyrethroid insecticides in Italian Aedes albopictus populations after 26 years since invasion,

Pest Manag Sci. 74(6), pp.1319-1327.

Pichler V., Mancini E., Micocci M., Calzetta M., Arnoldi D., Rizzoli A., Lencioni V., Paoli F., Romeo Bellini R., Veronesi R., Martini S., Drago A., De Liberato C.,

Ermenegildi A., Pinto J., Della Torre A., Caputo B. 2021, *A novel allele specific polymerase chain reaction (AS-PCR) assay to detect the V1016G knockdown resistance mutation confirms its wide-spread presence in Aedes albopictus populations from Italy*. Insects, 12(1), p. 79; <https://doi.org/10.3390/insects12010079> - 17 Jan 2021.

Thatheyus, A.J., Selvam D.G. 2013, *Synthetic Pyrethroids: Toxicity and Biodegradation*. Applied Ecology and Environmental Sciences 1(3), pp. 33-36.

Thatheyus, A.J., Selvam D.G. 2013, *Synthetic Pyrethroids: Toxicity and Biodegradation*. Applied Ecology and Environmental Sciences 1(3), pp. 33-36.



La fotosensibilità è un vantaggio poichè mitiga gli impatti negativi