

STUDIO DELL'ATTIVITÀ DI CYANTRANILIPROLE (CYAZYPYR) SUL COMPORTAMENTO ALIMENTARE DEGLI ADULTI DI *BEMISIA TABACI* ATTRAVERSO EPG SYSTEM

S. CIVOLANI^{1,2}, M. VECCHIATTINI², G. PARRELLA³, M. GIORGINI³, S. CASSANELLI⁴

¹ Dipartimento di Scienze della Vita e Biotecnologie - Università di Ferrara - Via L. Borsari, 46, 44121 Ferrara

² Innovaricerca Srl - Via Argenta, 36/a, 44124 Monestirolo (FE)

³ Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante, CNR - Via Università 133, 80055 Portici (NA)

⁴ Dipartimento di Scienze della Vita - Università di Modena e Reggio Emilia –
Via J.F. Kennedy, 17, 42124 Reggio nell'Emilia
stefano.civolani@unife.it

RIASSUNTO

Cyantraniliprole (Cyazypyr®) è un nuovo principio attivo per il controllo multiplo sia di insetti masticatori che fitomizi. Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare l'effetto di cyazypyr sul comportamento alimentare dell'adulto di *Bemisia tabaci*, tramite uno studio di ElettroPenetroGrafia (EPG) su pomodoro. I test sono stati condotti su adulti della specie MED, variante mitocondriale Q2. I dati EPG ottenuti indicano come l'applicazione fogliare di cyazypyr impedisce il raggiungimento dei vasi floematici da parte dell'apparato boccale del fitofago rispetto agli insetticidi imidacloprid e pimetozine ed al testimone non trattato. All'interno di questo tessuto *B. tabaci* acquisisce e inocula diversi virus, in particolare geminivirus. Di conseguenza è attesa una riduzione della trasmissione di virus floematici. Alla luce di questa ricerca si può affermare che Cyazypyr rappresenta un nuovo mezzo di protezione della coltura del pomodoro da *B. tabaci* e virosi trasmesse.

Parole chiave: aleurodidi

SUMMARY

AN EPG STUDY OF THE PROBING BEHAVIOUR OF ADULT *BEMISIA TABACI* FOLLOWING EXPOSURE TO CYANTRANILIPROLE (CYAZYPYR)

Cyantraniliprole (Cyazypyr®) is a novel insecticide for the control of multiple chewing and sucking insect pest species including the sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci*, which is one of the most important polyphagous pests in tropical, subtropical and Mediterranean regions. This study aims to evaluate the effects of Cyazypyr on the probing behaviour of *B. tabaci* on tomato. Electrical Penetration Graph (EPG) data indicated that in plants treated with Cyazypyr adult of the MED species, mitotype Q2, were not able to reach the phloem and consequently did not perform the activities related to E1 and E2 waveforms, related to geminivirus inoculation and geminivirus acquisition, respectively. The complete failure of Q2 adults to feed from the phloem of tomato plants treated with Cyazypyr could be explained by the fast feeding cessation due to the mode of action of this insecticide. Overall, these findings indicated that Cyazypyr might represent a useful new tool for producers to protect tomato plants from damage by *B. tabaci* and consequently, reduce the infection by TYLCV.

Keywords: whitefly

INTRODUZIONE

Bemisia tabaci (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), è uno dei più importanti fitofagi diffusi nelle aree tropicali, subtropicali, nel bacino del mediterraneo e nelle colture protette delle aree più settentrionali. Il danno prodotto da questa specie, estremamente polifaga, è dovuto alla

sottrazione di linfa, alla successiva produzione di melata e soprattutto alla trasmissione di virus floematici come i geminivirus, di cui si conoscono più di 300 specie distinte (Brown *et al.*, 2012). Alcuni di questi virus sono particolarmente devastanti su colture agrarie, come ad esempio il *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) su pomodoro. *B. tabaci* rappresenta un complesso di specie criptiche (in parte definite nel passato come biotipi) con presenza di varianti geniche (mitotipi) all'interno di ciascuna specie (De Barro *et al.*, 2011). In Italia, dal 2008 e nell'arco temporale di circa 8 anni, si è assistito dapprima allo spiazzamento della specie MEAM1 (ex biotipo B; MEAM1 = specie Middle East-Asia Minor 1) da parte della specie MED (ex biotipo Q; MED = specie Mediterranean), mitotipo Q1 (Parrella *et al.*, 2012) e poi, in tempi recentissimi, in alcune aree del Sud Italia, alla sostituzione di quest'ultimo da parte del mitotipo più competitivo Q2 (Parrella *et al.*, 2014). Questa variante mitocondriale di *B. tabaci* è caratterizzata da una maggiore invasività e soprattutto da una minore suscettibilità agli insetticidi rispetto ai genotipi B e Q1. Studi recenti hanno evidenziato inoltre che le popolazioni italiane di tale variante mitocondriale sono caratterizzate da una particolare associazione con batteri endosimbionti, rappresentati in maggior misura da *Rickettsia* (in molte popolazioni presente quasi nel 100% degli individui) e *Arsenophonus* (presente quasi nel 50% degli individui) (Parrella *et al.*, 2014). E' noto, ormai da diverso tempo, che le prestazioni biologiche dei genotipi di *B. tabaci* possono essere influenzate dalla presenza di endosimbionti quali *Cardinium*, *Hamiltonella*, *Rickettsia*, *Wolbachia* e *Arsenophonus*, i quali oltre a regolare la fitness generale dell'insetto, possono influenzare caratteri peculiari come aumentare la suscettibilità agli insetticidi (Ghanim *et al.*, 2009) o favorire la trasmissione di geminivirus (Gottlieb *et al.*, 2010). La difesa da questo fitofago è spesso difficoltosa per la veloce insorgenza di resistenze dopo poche generazioni dall'applicazione di un dato insetticida. Cyazypyr è un nuovo insetticida appartenente alla famiglia chimica delle antracnil ammidi e agisce come modulatore del recettore intracellulare ryanodinico (Gruppo IRAC 28) portando velocemente a morte il fitofago oltre che a bloccare l'alimentazione. Lo scopo di questo lavoro è la valutazione del comportamento alimentare di *B. tabaci* su pomodoro trattato con Cyazypyr e la putativa riduzione di TYLCV attraverso un biosaggio di Elettropenetragrafia (EPGsystem). Il sistema EPG permette di valutare tutte le fasi del comportamento alimentare di un insetto con apparato boccale pungente succhiatore all'interno dei tessuti fogliari.

MATERIALI E METODI

Gli individui di *B. tabaci* utilizzati in questo lavoro di EPG sono stati raccolti originariamente su stella di natale *Euphorbia pulcherrima* in una serra in provincia di Ferrara e allevati in camera di crescita a 24 ± 1 °C e fotoperiodo 16/8 h su piante di pomodoro in vaso. Il genotipo di questa popolazione è stato identificato adottando la metodica descritta da Parrella *et al.* (2012), basata sul diverso polimorfismo di restrizione che si ottiene per ciascuno dei principali genotipi di *B. tabaci* presenti nel Bacino Mediterraneo dopo digestione con l'endonucleasi *ApoI* dell'amplicone corrispondente al gene mitocondriale della citocromo ossidasi subunità 1 (*COI*).

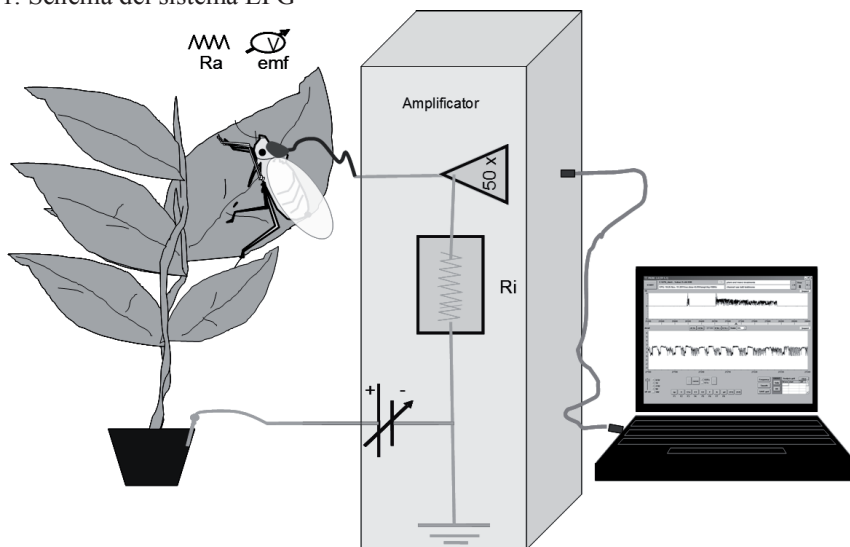
L'attività di tre insetticidi (vedi tabella 1) sul comportamento alimentare di *B. tabaci* è stata valutata su piante in cui l'applicazione è stata effettuata 24 ore prima della registrazione EPG. I tre insetticidi sono stati distribuiti sulla vegetazione con modalità spray fino al punto di gocciolamento. Prima di ogni esperimento ogni adulto di *B. tabaci* è stato immobilizzato in una piastra Petri raffreddata per permettere di incollare ad arte sul dorso con colla naturale un elettrodo flessibile costituito da un sottile filo d'oro di 12,5 µm di diametro e lungo 2 cm. Un ulteriore elettrodo più rigido del primo era inserito nel terreno umido del vaso contenente la pianta trattata o non trattata. Durante l'esperimento (che consisteva in una registrazione della durata di 8 ore) allorché l'insetto per alimentarsi introduceva progressivamente gli stiletto

dell'apparato boccale nei diversi tessuti della pianta si determinava la chiusura del circuito elettrico (figura 1). Attraverso l'analisi EPG dei diversi tracciati grafici che coincidono con i vari tessuti raggiunti (e differenti fasi alimentari, come la salivazione nel floema e l'ingestione dal floema) è possibile misurare e confrontare la durata delle fasi alimentari. Tali misurazioni sono state condotte sia per le piante trattate con insetticidi che per quelle non trattate. Per ogni insetticida oggetto di valutazione sono stati saggiati circa 20 adulti di *B. tabaci*. L'analisi statistica dei dati ottenuti è stata realizzata con il test non parametrico di Kruskal-Wallis ($p < 0,05$) (Statistica 6.0).

Tabella 1. Prodotti insetticidi e dosi di applicazione

Formulato commerciale	Principio attivo	Concentrazione p.a.	Dose formulato (g mL /hL)
Benevia	cyantranilprole	100 g/L	75
Confidor 200 SL	imidacloprid	200 g/L	75
Plenum 50 WG	pimetrozine	50%	50

Figura 1. Schema del sistema EPG



RISULTATI

I risultati dell'analisi del comportamento alimentare di individui adulti di *B. tabaci*, mitotipo Q2, su piante di pomodoro trattate con i tre insetticidi in confronto ad un testimone non trattato, sono mostrati nella tabelle 2-7. La tabella 2 relativa alla fase di non penetrazione mostra significative differenze fra le tesi trattate (ad esclusione di pymetrozine) ed il testimone non trattato. Non vi sono differenze sostanziali nella successiva fase di penetrazione intercellulare degli stiletti nei tessuti periferici di epidermide e mesofillo (tabella 3). In questi tessuti tuttavia si verifica nel testimone non trattato un maggior numero di brevi punture d'assaggio rispetto alle tesi trattate con insetticidi (tabella 4). Successivamente, nel testimone non trattato il 68,8% degli individui saggiati raggiungono il floema nelle 8 ore di registrazione, mentre il 14,3 % degli individui nella tesi trattata con imidacloprid e il 33,3% nella tesi trattata con pymetrozine sono

in grado di raggiungere il floema. Nessun individuo nella tesi trattata con cyantranilprole (Cyazypyr®) raggiunge questo tessuto. Gli individui che raggiungono il floema nelle tesi trattate con imidacloprid e in maggior misura con pymetrozine effettuano, anche se in misura inferiore al testimone non trattato, sia la salivazione che l'ingestione dal floema, fasi notoriamente associate all'inoculazione ed all'acquisizione di virus con localizzazione in questo tessuto (tabelle 5-6). Per quanto riguarda la permanenza nello xilema non vi sono differenze significative fra le varie tesi a confronto (tabella 7).

Tabella 2. Risultati relativi alla fase di non penetrazione degli stiletti in 8 ore di registrazione EPG

	Durata totale della fase di non penetrazione per insetto (minuti)	Numero di non penetrazioni	Durata media di una penetrazione nei tessuti periferici (minuti)
Testimone non trattato	179,5±25,4 a*	55,7±7,4 ns	5,5±1,6 a
Cyantranilprole	376,8±22,7 b	54,9± 9,6 ns	54,2±35,7 b
Imidacloprid	370,9±34,7 b	36,3±10,6 ns	73,6±55,0 b
Pymetrozine	295,4±65,7 ab	54,3±8,9 ns	5,8±1,5 ab

*I valori della stessa colonna affiancati dalla stessa lettera non differiscono significativamente al test di Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$)

Tabella 3. Risultati relativi alla fase di penetrazione intercellulare degli stiletti nei tessuti periferici in 8 ore di registrazione EPG

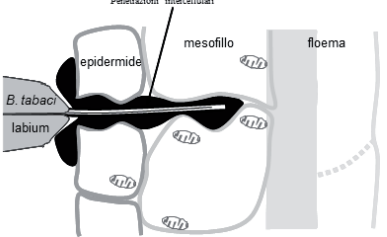
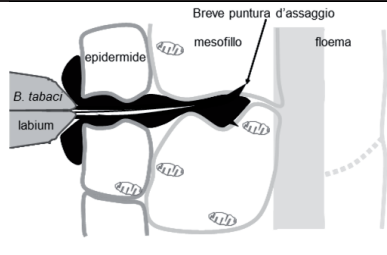
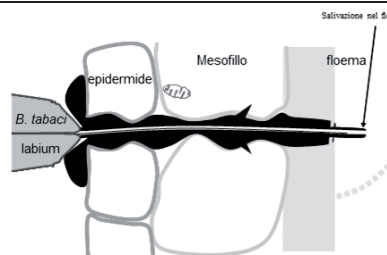
	% di individui che inseriscono gli stiletti nei tessuti periferici	Numero di penetrazioni nei tessuti periferici	Durata media di una penetrazione nei tessuti periferici (minuti)
Testimone non trattato	100	56,7±7,2 ns	4,2.0±0,9 ns
Cyantranilprole	100	54,7±9,9 ns	5,5±3,9 ns
Imidacloprid	100	37,0±10,5 ns	3,2±1,0 ns
Pymetrozine	100	55,8±8,7 ns	1,8±0,4 ns

Tabella 4. Risultati relativi alle brevi punture d'assaggio effettuate in 8 ore di registrazione EPG

	% di individui che effettuano brevi punture d'assaggio nei tessuti periferici	Numero di brevi punture d'assaggio nei tessuti periferici	Durata di ogni puntura d'assaggio (in secondi)
Testimone non trattato	81,3	8,5±1,6 a*	12,2±1,4 a
Cyantranilprole	15,4	0,2±0,1 b	5,0±1,4 b
Imidacloprid	42,9	1,3±1,0 b	7,8±3,2 b
Pymetrozine	33,3	0,8±0,5 b	5,8±0,3 b

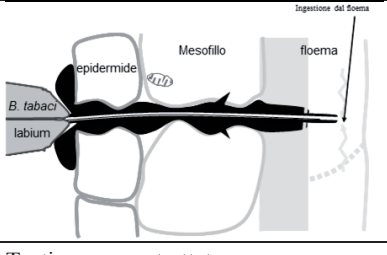
*Vedi tabella 2

Tabella 5. Risultati relativi alla fase di salivazione all'interno del floema in 8 ore di registrazione EPG

	% di individui che salivano nel floema	Numero di eventi di salivazione nel floema per individuo	Durata di un evento di salivazione nel floema per individuo (minuti)
Testimone non trattato	68,8	1,3±0,3 a*	3,6±1,6 ns
Cyantranilprole	0	0 b	0 ns
Imidacloprid	14,3	0,1±0,1 b	7,6±7,6 ns
Pymetrozine	33,3	0,3±0,2 ab	2,3±1,2 ns

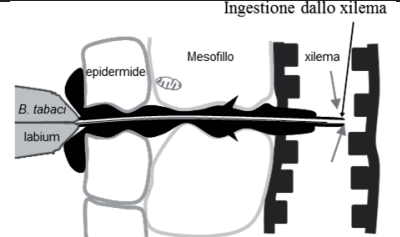
*Vedi tabella 2

Tabella 6. Risultati relativi alla fase di ingestione dal floema in 8 ore di registrazione EPG

	% di individui che ingeriscono nel floema	Numero di eventi di ingestione nel floema per individuo	Durata di un evento di ingestione nel floema per individuo (minuti)
Testimone non trattato	68,8	0,9±0,2 a*	79,8±16,4 a
Cyantranilprole	0	0 b	0 b
Imidacloprid	14,3	0,1±0,1 b	16,0±16,0 b
Pymetrozine	33,3	0,3±0,2 b	56,3±37,7 ab

*Vedi tabella 2

Tabella 7. Risultati relativi alla fase di ingestione dallo xilema in 8 ore di registrazione EPG

	%	Numero di eventi di ingestione nello xilema per individuo	Durata di un evento di ingestione nello xilema per individuo
Testimone non trattato	25	0,6±0,3 ns	13,2±2,8 ns
Cyantraniliprole	30,8	0,5±0,3 ns	12,2±9,4 ns
Imidacloprid	14,3	0,1±0,1 ns	122,0±122,0 ns
Pymetrozine	50,0	0,8±0,5 ns	101,5±60,0 ns

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

In questo studio EPG è stato valutato il comportamento alimentare di adulti di una popolazione di *B. tabaci* (specie MED, mitotipo Q2), su piante di pomodoro trattate con tre diversi insetticidi. Questo studio ha permesso di evidenziare come il trattamento con cyantraniliprole, a differenza di imidacloprid e ancor di più pymetrozine, riduca il raggiungimento del floema e le due fasi alimentari associate di salivazione ed ingestione da questo tessuto, fasi responsabili rispettivamente di inoculazione ed acquisizione di virus floematici da parte di *B. tabaci*, con particolare riferimento ai geminivirus.

Il nuovo principio attivo cyantraniliprole (Cyazypyr) rappresenta un nuovo mezzo di controllo di *Bemisia tabaci* e probabilmente anche del virus TYLCV in colture di pomodoro, contribuendone a ridurre la diffusione.

Ringraziamenti: Si ringrazia Du Pont De Nemours Italiana srl per la collaborazione fornita nell'esecuzione dello studio.

LAVORI CITATI

- Brown J.K., Fauquet C.M., Briddon R.W., Zerbini M., Moriones E., Navas-Castillo J., 2012. Geminiviridae. in: Virus Taxonomy. Ninth Report of the ICTV. King, A.M.Q., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J., (Editori). Elsevier Academic Press, London, 351–373.
- De Barro P.J., Liu S.S., Boykin L.M., Dinsdale A.B., 2011. *Bemisia tabaci*: a statement of species status. *Annual Review of Entomology*, 56, 1-19.
- Ghanim M., Kontsedalov S., 2009. Susceptibility to insecticides in the Q biotype of *Bemisia tabaci* is correlated with bacterial symbiont densities. *Pest Management Science*, 65, 939-942.
- Parrella G., Scassillo L., Giorgini M., 2012. Evidence for a new genetic variant in the *Bemisia tabaci* species complex and the prevalence of the biotype Q in southern Italy. *Journal of Pest Science*, 85, 227-238.
- Parrella G., Nappo A.G., Manco E., Greco B., Giorgini M., 2014. Invasion of the Q2 mitochondrial variant of Mediterranean *Bemisia tabaci* in southern Italy: possible role of bacterial endosymbionts. *Pest Management Science*, 70, 1514-1523.
- Yuval Gottlieb Y., Zchori-Fein E., Mozes-Daube N., Kontsedalov S., Skaljac M., Brumin M., Sobol I., Czosnek H., Vavre F., Fleury F., Ghanim M., 2010. The transmission efficiency of Tomato Yellow Leaf Curl Virus by the Whitefly *Bemisia tabaci* is correlated with the presence of a specific symbiotic bacterium species. *Journal of Virology*, 84, 9310-9317.!