

CONTRIBUTO PER LA GESTIONE DELLA RESISTENZA IN *CYDIA MOLESTA*: SENSIBILITA' DI BASE A TRIFLUMURON

P. SAMBADO ⁽¹⁾, C. ARIOLI ⁽²⁾, C. BASSANETTI ⁽¹⁾, E. MAZZONI ⁽¹⁾, F. MOLINARI ⁽¹⁾

⁽¹⁾ Istituto di Entomologia e Patologia vegetale, Università Cattolica del Sacro Cuore

Via Emilia parmense, 84 – 29100 Piacenza

fabio.molinari@unicatt.it

⁽²⁾ EMBRAPA Grape & Wine, CNPUV,

P.O. Box 130, 95.700-000, Bento Gonçalves, Brazil

arioli@cnpuv.embrapa.br

RIASSUNTO

Cydia molesta è un fitofago chiave per la coltura del pesco in Italia. In molti disciplinari di produzione integrata attualmente la difesa contro questo fitofago, è basata sull'utilizzo di prodotti che agiscono in modo specifico sui meccanismi di sviluppo degli insetti. Maggiore è l'impiego di tali prodotti e maggiore è il rischio di comparsa di popolazioni resistenti. Per valutare la sensibilità di base ad uno dei prodotti maggiormente impiegati (triflumuron) sono stati allestiti dei biosaggi con uova neodeposte e larve mature di *C. molesta*. I risultati dei biosaggi serviranno come riferimento per valutare in futuro variazioni di sensibilità verso questo insetticida nelle popolazioni di campo del Lepidottero.

Parole chiave: Tignola orientale del pesco, gestione della resistenza, biosaggi, dip-test

SUMMARY

CONTRIBUTION FOR RESISTANCE MANAGEMENT IN *CYDIA MOLESTA*: BASELINE SUSCEPTIBILITY TO TRIFLUMURON

Cydia molesta (Busck) is a serious pest in peach fruit orchards in Italy. Insecticides acting on insect specific metabolic targets like chitin synthesis inhibitor are now greatly preferred in several Italian integrated pest management guidelines. An increase in the use of an insecticide is also an increase in the risk of resistance towards the same product. To evaluate the baseline susceptibility to triflumuron of the eggs and of the mature larvae of *C. molesta*, a series of bioassays have been performed. Results of these bioassays will be useful in the future to evaluate any changes in susceptibility to triflumuron in wild populations of the Oriental Fruit Moth.

Keywords: Oriental Fruit Moth, resistance management, bioassays, dip-test

INTRODUZIONE

Cydia molesta (Busck) è considerata da tempo il fitofago principale nella coltivazione del pesco in Italia (Molinari, 2005). Nonostante la ricerca di nuove strategie di controllo, come ad esempio l'uso dei feromoni, gli insetticidi rimangono lo strumento primario di controllo quando la popolazione del fitofago supera la soglia del danno economico (Cravedi e Molinari, 2002; Molinari, 2003).

Parte degli insetticidi attualmente utilizzati appartengono a categorie di relativamente nuova introduzione come ad esempio i prodotti che agiscono in modo specifico sui meccanismi di sviluppo degli insetti o come i neonicotinoidi. Soprattutto i primi, a causa dei loro meccanismi

di azione molto specifici verso particolari stadi di sviluppo, necessitano di maggiori attenzioni nell'utilizzo rispetto agli insetticidi neurotossici tradizionali quali esteri fosforici o carbammati, in particolare nella ricerca del momento ottimale per l'applicazione.

I buoni risultati ottenuti con questi principi attivi hanno avuto come conseguenza un incremento del loro utilizzo nei programmi fitosanitari anche se ciò non sempre si traduce nel raggiungimento di risultati migliori. Una buona strategia di difesa richiede un'attenta valutazione delle caratteristiche dei prodotti disponibili e in particolare una buona conoscenza del loro meccanismo di azione, così da poterne programmare l'utilizzo al fine di ottenere la massima efficacia.

Ciò risulta oltremodo interessante poiché lo sviluppo di resistenze rimane sempre un rischio potenziale quando gli insetticidi sono utilizzati in grande quantità e ripetutamente.

L'individuazione tempestiva di fenomeni di resistenza richiede la conoscenza della sensibilità "di base" del fitofago. Conoscendo la curva di mortalità alle diverse dosi di un insetticida, rilevata su una popolazione riferimento di *C. molesta*, allevata in laboratorio e non sottoposta all'azione di antiparassitari, è possibile utilizzare questi dati come riferimento per diagnosticare cambiamenti nella sensibilità nelle popolazioni di campo (Prabhaker *et al.*, 2006).

In questo studio ci si propone quindi di verificare la relazione "dose – mortalità" in uova neodeposte e in larve mature di *C. molesta* per uno degli insetticidi più comunemente impiegati per la lotta contro questo Tortricide.

MATERIALI E METODI

Le prove sono state svolte su due differenti stadi di sviluppo dell'insetto: uova deposte da meno di un giorno (uova neodeposte) e larve mature.

Gli insetti provengono da un ceppo allevato da tempo presso i laboratori dell'Istituto di Entomologia e Patologia vegetale dell'Università Cattolica del Sacro Cuore di Piacenza, senza alcuna pressione di selezione operata con insetticidi.

Larve mature

Le larve sono state prelevate direttamente dall'allevamento utilizzando le esemplari che stavano abbandonando il substrato per costruire il bozzolo entro cui incrisalidare.

Uova di un giorno di età

Adulti di tre giorni di età (5 coppie), provenienti dalla colonia mantenuta presso l'Istituto di Entomologia e Patologia vegetale di Piacenza, sono stati introdotti in bottiglie di PET da 500 ml e lasciati deporre per 24 ore; le bottiglie sono state quindi tagliate in piccole porzioni di forma quadrata di circa 20-30 mm di lato.

Insetticida

Nella prova è stato utilizzato un solo principio insetticida, il triflumuron, appartenente alla categoria degli inibitori di sintesi della chitina (ISC). Al fine di valutare la curva dose mortalità del principio attivo, sono state applicate diverse dosi del prodotto commerciale Alsystin SC (triflumuron al 39,4 %, pari a 480 g/l).

A partire dalla dose di etichetta (d.e. = 25 ml/hl), attraverso prove di mortalità preliminari sono state individuate 5 concentrazioni: 10 d.e. (250 ml/hl); 1 d.e. (25 ml/hl); 10^{-1} d.e. (2,5 ml/hl); 10^{-2} d.e. (0,25 ml/hl); 10^{-3} d.e. (0,025 ml/hl)

La preparazione delle soluzioni insetticide con acqua sono state effettuate il giorno stesso dei trattamenti.

Ognuna delle tesi sopra descritte è stata replicata 4 volte e ogni replica era composta da almeno 25 unità per le larve mature e circa 300 unità per le uova.

Saggio di laboratorio sulle larve mature

Il trattamento è stato applicato per contatto attraverso l'immersione delle larve in soluzioni alle diverse concentrazioni del prodotto. A questo scopo gruppi di 25 larve sono stati introdotti in gabbie di rete appositamente preparate e immerse per 5 secondi nelle soluzioni insetticide. A queste si è aggiunto un gruppo testimone trattato unicamente con acqua.

Le larve sono state lasciate asciugare sotto cappa aspirante e successivamente sono state introdotte in scatole ermetiche contenenti sia substrato alimentare in modo che potessero completare il loro sviluppo, sia materiale idoneo a costituire un rifugio per l'imbozzolamento.

I rilievi sono stati effettuati giornalmente cercando di valutare la mortalità delle larve durante la prova e successivamente l'incrisalidamento e lo sfarfallamento degli adulti.

Saggio di laboratorio su uova di un giorno

La metodica utilizzata nella sperimentazione è quella del "dip test". Già in precedenza applicata per valutare l'attività di vari insetticidi nei confronti delle uova di *C. molesta* (Mazzoni e Molinari, 2005).

I prodotti sono stati applicati immergendo i pezzi di bottiglie contenenti le uova per 5 sec nelle varie concentrazioni dell'insetticida. Il testimone è stato trattato con acqua. Dopo asciugatura per 15 minuti in flusso d'aria, i pezzi sono stati raccolti in contenitori e tenuti in cella termostata a 23 °C e umidità relativa del 70% sino alla schiusura totale. Con l'ausilio di un microscopio binoculare è stato quindi verificato il numero delle uova schiuse e delle uova non schiuse.

Analisi statistica

I valori di mortalità registrati in ciascuna delle prove sono stati aggregati e analizzati statisticamente con l'analisi dei probit (POLO-PC, LeOra Software, 1987). I valori di efficacia sono stati calcolati applicando la formula di Abbott (Abbott, 1925).

RISULTATI

Attività ovicida

L'attività ovicida di Alsystin riscontrata nel corso della sperimentazione è mostrata nel grafico n. 1. La mortalità del testimone non trattato si è mantenuta piuttosto limitata e complessivamente pari all'8,5%. Le concentrazioni di insetticida applicate hanno ottenuto una attività ovicida compresa nell'intervallo tra il 10% ed il 90%. Tali valori sono già corretti per la mortalità naturale per mezzo della formula di Abbott (1925). E' chiaramente evidente un incremento di mortalità in risposta all'aumento della concentrazione di insetticida applicata. La dose di etichetta (25 ml/hl) ha ottenuto efficacia media di circa 86% (Abbott). L'applicazione di una concentrazione 10 volte superiore ha solo marginalmente incrementato mortalità (90%; Abbott).

I parametri della relazione "concentrazione – risposta", stimati con l'analisi dei probit, sono riportati in tabella 1.

Attività larvicida

L'attività larvicida di Alsystin riscontrata nel corso della sperimentazione è mostrata nel grafico n. 2. Anche trattando le larve la mortalità del testimone si è mantenuta piuttosto limitata e complessivamente pari al 7,4%. A differenza dei trattamenti contro le uova, le stesse

concentrazioni di insetticida applicate hanno ottenuto una efficacia totale a partire dalla concentrazione di etichetta (25 ml/hl). A questa concentrazione l’insetticida ha bloccato completamente lo sviluppo larvale in 3 repliche su 4 ottenendo una efficacia complessiva del 99% (Abbott). Come atteso, l’applicazione della concentrazione superiore (250 ml/hl) ha ottenuto una mortalità del 100%.

I parametri della relazione “concentrazione – risposta” per l’attività larvicida di Alsystin, stimati con l’analisi dei probit, sono riportati in tabella 2.

Tabella 1-Tossicità di Alsystin su uova neodeposte di *C. molesta*

uova utilizzate	11883
pendenza ± SE	0,642 ± 0,013
CL ₅₀ [ml/hl] (limite fiduciario 95%)	0,587 (0,254-1,200)
CL ₉₀ [ml/hl] (limite fiduciario 95%)	58,139 (23,357-210,345)
χ ² (g.l.)	479,34 (18)

Figura 1 - Percentuale di efficacia (Abbott) di Alsystin su uova neodeposte di *C. molesta*

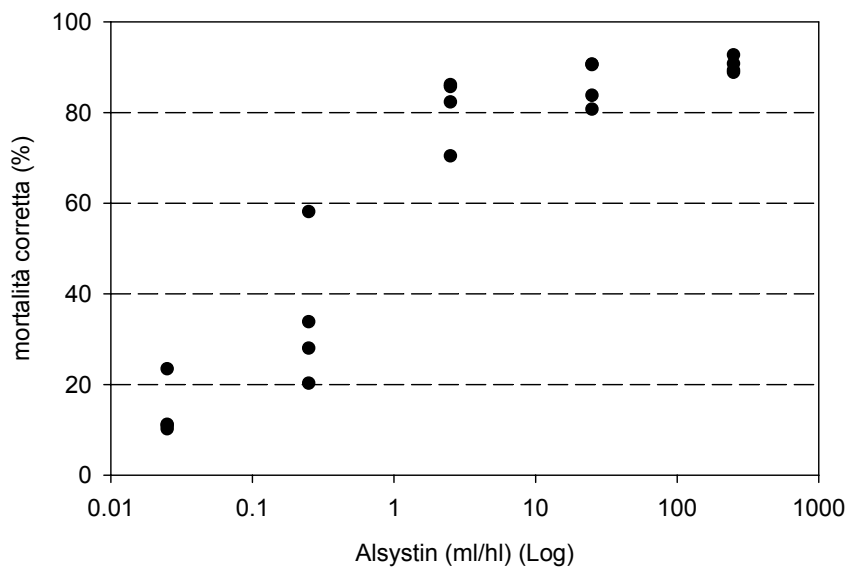
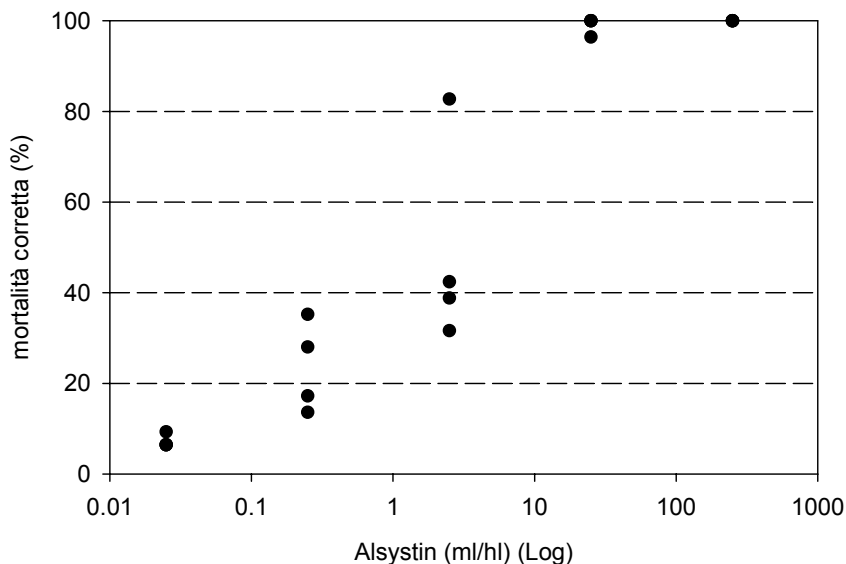


Tabella 2 - Tossicità di Alsystin su larve mature di *C. molesta*

larve utilizzate	805
pendenza ± SE	1,348 ± 0,178
CL ₅₀ [ml/hl] (limite fiduciario 95%)	1,653 (0,666-2,905)
CL ₉₀ [ml/hl] (limite fiduciario 95%)	14,758 (7,931-46,676)
χ ² (g.l.)	38,888 (18)

Figura 2 - Percentuale di efficacia (Abbott) di Alsystin su larve mature di *C. molesta*



CONCLUSIONI

I risultati conseguiti nel presente lavoro sono un primo passo per ottenere dati sulla risposta di una popolazione di riferimento di *C. molesta* sensibile a triflururon. Questi dati potranno in futuro essere utilizzati come standard di riferimento per valutare eventuali cambiamenti nella sensibilità verso triflururon in popolazioni raccolte in campo.

Le tecniche di biosaggio adottate per valutare l'attività di triflururon nei confronti di *C. molesta* hanno dimostrato ottime caratteristiche di rapidità di esecuzione e di ripetibilità e anche di non essere particolarmente legate alla manualità dell'operatore. Inoltre, soprattutto nel caso delle larve, il tipo di biosaggio è applicabile a individui raccolti direttamente in campo. Nel caso di *C. molesta* è relativamente semplice raccogliere frutti infestati e consentire alle larve di completare lo sviluppo in laboratorio per poi effettuare i biosaggi. L'unico limite è dato dalla possibilità di reperire un numero di larve sufficiente all'esecuzione del test.

Da un punto di vista più applicativo il prodotto conferma una buona efficacia sia nei confronti delle uova neodeposte che delle larve mature. In condizioni di campo entrambi gli stadi sono quelli più esposti all'attività di contatto di questo insetticida. Soprattutto nel caso delle larve il metodo di biosaggio adottato è una buona simulazione della situazione che si verifica in realtà quando le larve mature muovendosi sulla pianta per cercare i luoghi idonei all'incrisalidamento entrano in contatto con i residui dell'insetticida. In queste condizioni la CL_{50} , pari a circa 14,8 ml/hl di formulato è ancora ben al disotto della dose di etichetta.

Nel caso delle uova neodeposte il prodotto conferma la già nota attività ovicida che però non è totale alle normali concentrazioni di impiego. Occorre tuttavia ricordare che in condizioni di campo la struttura di età delle uova è molto complessa essendo presenti contemporaneamente uova neodeposte accanto a uova in più avanzato stadio di sviluppo e inoltre ci saranno uova che saranno deposte successivamente all'applicazione dell'insetticida, direttamente sulle sul substrato trattato. Saranno quindi necessari ulteriori approfondimenti per valutare anche la

sensibilità delle uova in altre fasi dello sviluppo embrionale, tenendo conto che alcuni risultati preliminari si sono rilevati talvolta contraddittori (Mazzoni e Molinari, 2005).

LAVORI CITATI

- Abbott W.S., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18, 256-267.
- Cravedi P., Molinari F., 2002. La difesa delle drupacee in produzione integrata. *Informatore Fitopatologico*, 5, 8-12.
- Le Ora Software. 1987. POLO-PC. A user's guide to probit or logit analysis. *In*: LeOra Software, Berkley, CA.
- Mazzoni E., Molinari F., 2005. The egg stage as the target for the control of the Oriental Fruit Moth (*Cydia molesta* (Busck); Lepidoptera: Tortricidae). *Proceeding of the 6th Conference on Integrated fruit production – IOBC wprs Bulletin* 28 (7) 91-95.
- Molinari F., 2003. Trends in Integrated Pest Mangement in peach orchards. *VIIIth European Congress of Entomology, Thessaloniki (Greece)* 7-13 ottobre 2002, 124.
- Molinari F., 2005. I carpofagi delle drupacee, *Agricoltura* 12, 89-90.
- Prabhaker N., Castle S., Byrne F., Henneberry T.J., Toscano N. C., 2006. Establishment of baseline suscettibility data to various insecticides for *Homalodisca coagulata* (Homoptera: Cicadellidae) by comparative bioassay techniques. *J. Econ. Entomol.* 99, 141-154.