

## VALUTAZIONE DI EFFICACIA DI ETOFENPROX SU POPOLAZIONI SELVATICHE DI *CYDIA MOLESTA*

E. MAZZONI<sup>1</sup>, F. MOLINARI<sup>1</sup>, M. ANACLERIO<sup>1</sup>, M. PANINI<sup>1</sup>, C. FEDELI<sup>1</sup>, F. PANINI<sup>1</sup>, G. CASALI<sup>2</sup>, M. PAGNI<sup>2</sup>, L. ZANZI<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Istituto di Entomologia e Patologia vegetale - Università Cattolica del Sacro Cuore  
Via Emilia parmense, 84, 29100 Piacenza

<sup>2</sup> Terremerse Soc. Coop., Ravenna  
emanuele.mazzoni@unicatt.it

### RIASSUNTO

Al fine di valutare il rischio d'insorgenza di possibili fenomeni di minor sensibilità all'etofenprox da parte di popolazioni selvatiche di *Cydia molesta*, dopo più di 10 anni dalla sua immissione in commercio, si è intrapreso uno studio poliennale di laboratorio per misurare l'efficacia del formulato Trebon Star, alle normali dosi d'impiego, su: a) una popolazione di *C. molesta* allevata in laboratorio e individuata come ceppo di riferimento non essendo mai stata sottoposta a trattamenti con insetticidi a base di etofenprox; b) varie popolazioni selvatiche, prelevate da pescheti romagnoli, dove il prodotto viene impiegato da diversi anni. Trebon Star, anche in situazioni "difficili" per altri insetticidi, mantiene pienamente la sua efficacia ed ha consentito di ottenere sulle popolazioni selvatiche percentuali di mortalità identiche e in alcuni casi anche migliori rispetto a quelle ottenute con la popolazione di riferimento.

**Parole chiave:** biosaggi, *baseline*, resistenza agli insetticidi

### SUMMARY

#### EVALUATION OF THE EFFICACY OF ETOFENPROX AGAINST WILD POPULATIONS OF *CYDIA MOLESTA*

To assess the risk of occurrence of potential cases of lesser etofenprox sensitivity in wild populations of *Cydia molesta*, more than 10 years after its commercial release, a multi-year laboratory study was started to measure the efficacy of Trebon Star, at normal used doses, on: a) a laboratory reared population of *C. molesta* and identified as a reference strain as it has been never subjected to treatments with etofenprox based insecticide; b) several wild populations, collected from peach orchards in Romagna, where the product has been used for many years. Trebon Star, even in such situations where the control with other insecticides was difficult, retains fully its effectiveness and was able to produce, on wild populations, mortality rates that are identical and in some cases even better than those obtained with the reference population.

**Keywords:** bioassays, *baseline*, insecticide resistance

### INTRODUZIONE

Il panorama fitoiatrico ha visto negli ultimi tempi una rapida evoluzione verso una maggiore attenzione alla qualità delle produzioni e al rispetto dei consumatori e dell'ambiente. Tuttavia, anche se nell'ambito di molte produzioni agricole le strategie di produzione integrata hanno compiuto straordinari progressi e la loro applicazione su larga scala è oggi una realtà, il rischio di diffusione di fenomeni di resistenza agli agrofarmaci permane in modo piuttosto preoccupante. Per poter contrastare efficacemente questo fenomeno occorrono conoscenze derivanti da ricerche interdisciplinari ma alla base di tutto sta la possibilità di individuare per tempo la presenza, nelle popolazioni di campo, degli individui caratterizzati da una minor

sensibilità agli insetticidi considerati (Mazzoni e Cravedi, 2002; Mazzoni, 2009).

Se l'utilizzo di tecniche biochimiche e biomolecolari potrebbe consentire una rapida individuazione della presenza di resistenza anche in singoli individui, tali tecniche richiedono tuttavia una precisa conoscenza di quali meccanismi fisiologici sono alla base della resistenza agli insetticidi in una data popolazione di una certa specie (Devonshire, 1990).

Viceversa l'uso dei più classici "biosaggi", pur avendo potenzialmente problemi di sensibilità, consente di evidenziare la mancata efficacia di un prodotto verso un fitofago resistente senza necessariamente avere una conoscenza dettagliata dei meccanismi di resistenza coinvolti. E' tuttavia necessaria la conoscenza della sensibilità "di base" del fitofago rilevata su una popolazione riferimento, allevata in laboratorio e non sottoposta all'azione di insetticidi. Questo dato può poi essere utilizzato come riferimento per diagnosticare cambiamenti nella sensibilità nelle popolazioni di campo (Prabhaker *et al.*, 2006).

In Italia, in particolare nelle aree peschicole dell'Emilia-Romagna, le popolazioni della tignola orientale del pesco, *Cydia molesta* (Busck), negli ultimi anni, hanno creato crescenti problemi fitoiatrici. Si è in particolare osservata una sempre maggiore intensità di attacco anche sulle pomacee e soprattutto il numero di trattamenti insetticidi che viene effettuato, per limitare al di sotto di una soglia economica l'entità dei danni, è cresciuto considerevolmente.

Ciò spinge a sospettare una minor sensibilità verso vari agrofarmaci ma anche a cercare di individuare possibili variazioni di sensibilità verso insetticidi che al momento, in condizioni operative, sembrano mantenere appieno la loro efficacia nei confronti di questo fitofago.

Lo scopo dell'indagine è perciò stato quello di valutare se la sensibilità di popolazioni naturali di *C. molesta*, sottoposte negli ultimi anni a trattamenti con prodotti a base di etofenprox (Trebbon Star), sia cambiata rispetto a quella di una popolazione da tempo allevata in laboratorio e mai trattata con questo insetticida.

## MATERIALI E METODI

### Stima della baseline teorica

La baseline di una popolazione sensibile di laboratorio è stata stimata eseguendo biosaggi su larve mature di *C. molesta*, secondo la metodica di Sambado *et al.* (2006). Al fine di valutare la curva "dose-mortalità", sono state preparate diverse concentrazioni del prodotto commerciale Trebbon Star (etofenprox al 15 %, pari a 158 g/L) in acqua. La preparazione delle soluzioni insetticide è stata effettuata pochi minuti prima dell'esecuzione dei trattamenti. Le larve mature sono state immerse a gruppi di 5 per 5" nella soluzione insetticida e dopo averle asciugate con carta da filtro, in cappa aspirante, sono state trasferite in un contenitore pulito in presenza sia di substrato alimentare per consentire il completamento dello sviluppo, sia di cartone ondulato per favorire l'imbozzolamento. L'efficacia è stata valutata conteggiando il numero di adulti sfarfallati.

L'esperimento è stato replicato 5 volte e ogni volta con ciascuna delle concentrazioni utilizzate sono state trattate 25 larve mature. I dati di mortalità sono stati sottoposti all'analisi dei probit per stimare la relazione "concentrazione-mortalità".

### Stima della sensibilità delle popolazioni naturali

Nel biennio 2008-2009, a seguito di specifiche segnalazioni pervenute attraverso il Servizio Fitosanitario Regionale dell'Emilia-Romagna oppure direttamente attraverso il personale di vari organismi di assistenza tecnica presenti sul territorio regionale, si è provveduto a raccogliere direttamente in campo varie popolazioni larvali di *C. molesta*, prelevando, a seconda della fase vegetativa germogli infestati o frutti colpiti. Si è inoltre posta particolare

attenzione a quelle situazioni nelle quali si erano verificate difficoltà di controllo ed il livello di danno accertato era particolarmente elevato.

In totale sono state raccolte 5 popolazioni di larve mature nel 2008 e ulteriori 3 nel 2009. L'elenco di tali popolazioni, con data di raccolta, località e organo vegetale è riportato nella tabella seguente (tabella 1).

Tabella 1. Date e località di raccolta delle popolazioni studiate

Data	Località	Organo
15/5/2008	Imola	germogli
15/5/2008	Bagnacavallo	germogli
22/5/2008	Borgofaina (RA)	germogli
31/7/2008	Calisese	frutti
27/8/2008	S. Stefano di Ravenna	frutti
22/5/2009	Cesena	germogli
22/5/2009	S. Agata sul Santerno	germogli
27/8/2009	S. Stefano di Ravenna	frutti

Le larve mature sono state estratte dai germogli o dai frutti e distribuite a caso in gruppi di 5 esemplari. Ciascun gruppo è stato quindi sottoposto al trattamento applicando la metodologia più sopra descritta. Per ogni popolazione almeno 2 gruppi di larve sono stati trattati con acqua per stimare la mortalità naturale mentre, in funzione del numero di larve disponibili, sono state applicate da 2 a 4 diverse concentrazioni a 2-3 gruppi (10-15 larve) prendendo come punto di riferimento i 100 ml/hl (concentrazione di etichetta).

## RISULTATI

### Stima della *baseline* teorica

Le percentuali di efficacia ottenute nel corso della sperimentazione dal formulato Trebon Star nei confronti delle larve mature della popolazione sensibile di *C. molesta*, sono riportate nel grafico (figura 1). La mortalità del testimone si è attestata complessivamente al 9,7%. Alle concentrazioni più basse, fino a circa 20 ml/hl, la mortalità osservata è stata spesso inferiore a quella del testimone mentre alle concentrazioni superiori ai 20 ml/hl la mortalità appare legata agli incrementi di concentrazione applicata ma nel complesso piuttosto variabile. I parametri della relazione “concentrazione–risposta” per l’attività larvicida, stimati con l’analisi dei probit sulla base dei dati di mortalità acquisiti nel corso della sperimentazione, sono riportati in tabella 2. L’equazione della curva di mortalità e i relativi intervalli di confidenza (IC) è tracciata in figura 2.

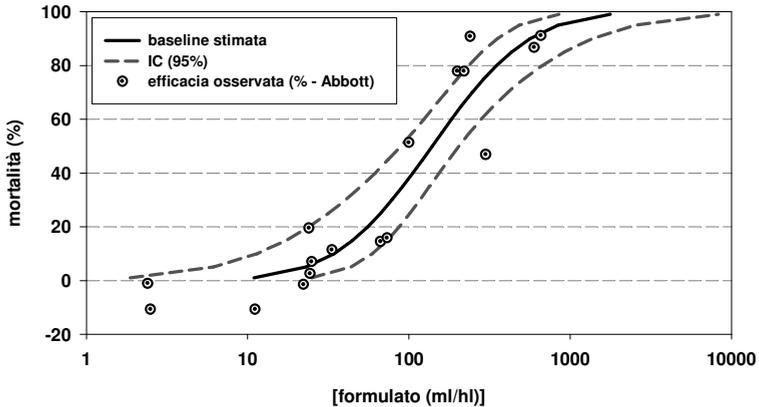
Tabella 2. Parametri riassuntivi della *baseline* stimata per Trebon Star applicato contro le larve mature di *C. molesta*

Larve utilizzate	614
Pendenza $\pm$ SE	2,107 $\pm$ 0,244
CL50 [ml/hl] (limiti fiduciarci al 95%)	139,46 (89,15 – 204,48)
CL90 [ml/hl] (limiti fiduciarci al 95%)	565,67 (353,08 - 1380.03)
$\chi^2$ (g.l.)	43,01 (18)

### Stima della sensibilità delle popolazioni naturali

Le mortalità ottenute trattando larve raccolte nei vari frutteti sono presentate nei grafici seguenti (figure 2 e 3) e messe a confronto con la *baseline* e i relativi intervalli di confidenza (IC nei grafici).

Figura 1. Grafico della relazione “concentrazione-mortalità” per Trebon Star applicato contro le larve mature di una popolazione sensibile di *C. molesta*. I punti rappresentano le percentuali di mortalità corrette con la formula di Abbott (1925) osservati nel corso della sperimentazione ed impiegati per la stima della curva (IC: intervallo di confidenza)



L'abbondanza, in genere ridotta, delle popolazioni raccolte non ha consentito di effettuare il trattamento con l'intero intervallo di concentrazioni impiegate per la stima della *baseline*. Tutte le popolazioni sono però state trattate almeno con la concentrazione di etichetta (100 ml/hl) e una concentrazione immediatamente inferiore (10 ml/hl). Quando il numero di larve raccolte era superiore l'intervallo di concentrazioni è stato ampliato includendo anche una concentrazione pari a 10 volte la dose di etichetta (1000 ml/hl) o inferiore (1 ml/hl).

Figura 2. 2008. Mortalità osservata per le larve mature di 5 popolazioni naturali di *C. molesta* dopo il trattamento con Trebon Star, confrontata con la *baseline* ottenuta da una popolazione sensibile. I punti rappresentano le percentuali di mortalità corrette con la formula di Abbott (1925) (IC: intervallo di confidenza)

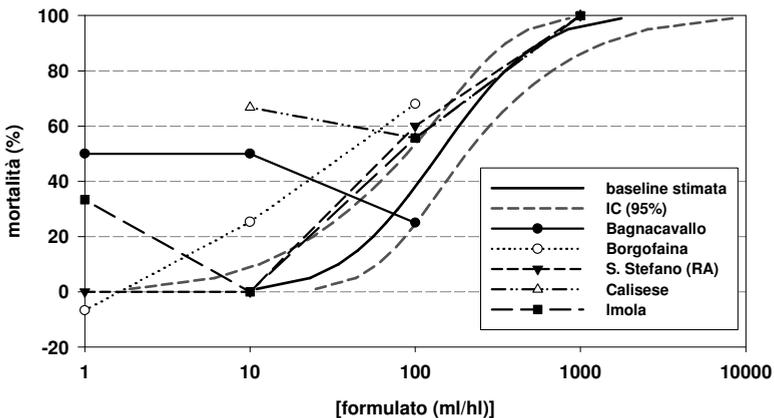
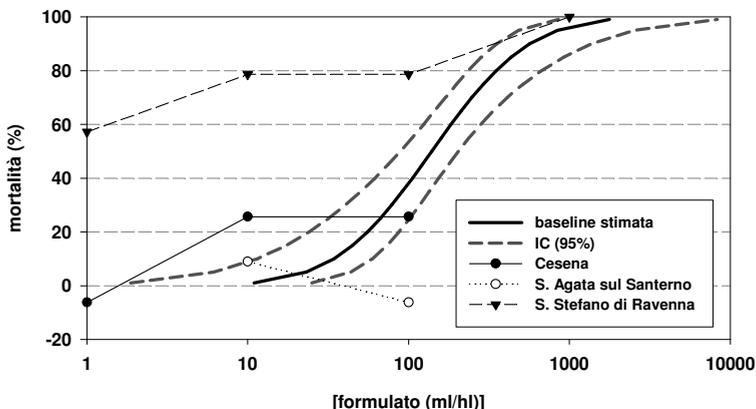


Figura 3. 2009. Mortalità osservata per le larve mature di 3 popolazioni naturali di *C. molesta* dopo il trattamento con Trebon Star, confrontata con la *baseline* ottenuta da una popolazione sensibile. I punti rappresentano le percentuali di mortalità corrette con la formula di Abbott (1925) (IC: intervallo di confidenza)



A causa del ridotto numero di larve disponibili per alcune popolazioni i valori di efficacia del formulato non sono risultati positivamente correlati alla concentrazione applicata e si sono quindi osservate mortalità minori alla concentrazione superiore applicata (es: Bagnacavallo, 2008 e S. Agata sul Santerno, 2009). In entrambi i casi si trattava di larve prelevate da germogli. Negli altri casi le mortalità osservate sono invece risultate progressivamente crescenti all'incremento della concentrazione applicata dell'insetticida. Confrontando poi le percentuali di mortalità registrate per le popolazioni naturali con la *baseline* ed i relativi intervalli di confidenza, si osserva un buon allineamento tra i dati e anche che le mortalità delle popolazioni naturali nella quasi totalità dei casi sono ottenute con concentrazioni inferiori a quelle indicate anche dall'intervallo di confidenza inferiore.

### CONCLUSIONI

La metodologia utilizzata ha dimostrato che è possibile valutare con relativa facilità la risposta delle popolazioni naturali di *C. molesta*, anche se la larva matura non è il bersaglio preferito per questo tipo di insetticida. La facilità di raccolta delle larve e la possibilità di valutare direttamente, senza necessità di allevamento, rende la metodica particolarmente interessante e impiegabile anche per valutare la sensibilità verso altri prodotti. È tuttavia emerso nel corso dell'indagine che la raccolta della larve partendo dai germogli sottopone le stesse a *stress*, ampiamente evidenziato dalla mortalità molto elevata registrata nei gruppi di controllo di alcune di queste popolazioni. È, inoltre, probabile che lo *stress* subito dalle larve abbia anche in parte contribuito a incrementare la mortalità osservata in alcune delle popolazioni, alle basse concentrazioni. Tuttavia osservazioni compiute trattando alcune di queste popolazioni anche con altri prodotti, indicano che, quando si è in presenza di minor sensibilità verso un insetticida, la mortalità, anche a basse concentrazioni è minore rispetto a quella indicata dalla *baseline* (Mazzoni *et al.*, comm. pers.).

Quindi, in generale, in base ai risultati ottenuti è possibile concludere che etofenprox, anche in situazioni "difficili" per altri insetticidi, mantiene pienamente la sua efficacia e ha consentito di ottenere sulle popolazioni selvatiche, a parità di concentrazione applicata,

percentuali di mortalità del tutto comparabili e in alcuni casi anche migliori di quelle ottenute con la popolazione di riferimento. L'effetto è particolarmente importante soprattutto alle concentrazioni minori per le quali, in campo, quando si riduce l'attività residuale, è maggiore il rischio di selezione di individui resistenti.

La confermata efficacia del prodotto non deve comunque indurre a ritenere il prodotto immune dal rischio di selezionare popolazioni resistenti. Sarà perciò indispensabile in futuro adottare o incrementare tutte le opportune strategie per prevenire il fenomeno della resistenza conservando il più a lungo possibile l'efficacia di un valido strumento per la difesa dei fruttiferi.

### **Ringraziamenti**

Si ringraziano i tecnici e le aziende che con la loro preziosa collaborazione hanno consentito lo svolgimento della ricerca.

Si ringrazia SIPCAM - Settore R&D per il supporto fornito allo svolgimento dell'indagine.

Attività svolta nell'ambito della progetto della Regione Emilia-Romagna "Ricerche sulla resistenza di *Carpocapsa* e *Cydia molesta* ai fitofarmaci impiegati nella difesa di melo, pero e pesco in Emilia-Romagna".

### **LAVORI CITATI**

- Abbott W.S., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, 18, 256-267.
- Devonshire A.L., 1990. Biochemical and molecular genetic analysis of insect populations resistant to insecticides. *Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference, Pests and Diseases*, 3, 889-896.
- Mazzoni E., 2009. La prevenzione delle resistenze. In: *Cydia - Lepidotteri dannosi su pomacee e drupacee (AA.VV.)*. Edizioni L'Informatore agrario Verona, 117-125.
- Mazzoni E., Cravedi P., 2002. Analysis of insecticide-resistant *Myzus persicae* (Sulzer) populations collected in Italian peach orchards. *Pest Management Science*, 58, 975-980.
- Prabhaker N., Castle S., Byrne F., Henneberry T.J., Toscano N.C., 2006. Establishment of baseline susceptibility data to various insecticides for *Homalodisca coagulata* (Homoptera: Cicadellidae) by comparative bioassay techniques. *J. Econ. Entomol.*, 99, 141-154.
- Sambado P., Arioli C., Bassanetti C., Mazzoni E., Molinari F., 2006. Contributo per la gestione della resistenza in *Cydia molesta*: sensibilità di base a triflumuron. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 1, 65-70.