

RISPOSTA A EMAMECTINA BENZOATO (AFFIRM) DI POPOLAZIONI DI CARPOCAPSA RACCOLTE IN MELETI ITALIANI E DI ALTRI PAESI EUROPEI

S. CHIESA¹, C. TOMASI¹, G. ANGELI¹, G. PRADOLESI², A. BUTTURINI³,
R. LIGUORI⁴, C. IORIATTI¹

¹ Fondazione E. Mach - Istituto Agrario San Michele All'Adige Via Mach 1,
38010 San Michele All'Adige (TN)

² Terremerse Soc. Coop. – Via Cà del Vento, 2, 48012 Bagnacavallo (RA)

³ Servizio Fitosanitario Regione Emilia Romagna – Via di Saliceto, 81, 40128 Bologna

⁴ Syngenta Crop Protections SpA, Via Gallarate 139, Milano
serena.chiesa@iasma.it

RIASSUNTO

È stata indagata la sensibilità a emamectina benzoato (Affirm 0,95 SG) di popolazioni di *C. pomonella* (CM) provenienti da distretti frutticoli italiani (Trentino, Veneto e Emilia Romagna) ed europei (Spagna, Portogallo) i cui frutteti sono gestiti secondo linee di difesa fitosanitaria convenzionali. L'esposizione al prodotto si è realizzata allevando le larve neonate (0 - 12 ore) su un substrato nutritivo trattato con diverse dosi della soluzione insetticida. Un ceppo sensibile di CM allevato in laboratorio è servito da referente. Il controllo della mortalità realizzato 7 giorni dopo il trattamento ha evidenziato un'elevata attività di emamectina benzoato nei confronti delle popolazioni allo studio, comparabile con quella rilevata nella popolazione suscettibile di riferimento.

Parole chiave: *Cydia pomonella*, Affirm, emamectina benzoato, baseline

SUMMARY

EFFICACY OF EMAMECTIN BENZOATE (AFFIRM) ON DIFFERENT EUROPEAN POPULATIONS OF *CYDIA POMONELLA*

A bioassay was performed to verify the activity of emamectin benzoate (Affirm 0.95 SG) on different European populations (5 from Italy, 1 from Spain, 1 from Portugal) of codling moth. The laboratory assay was performed in microplate wells with artificial diet and the insecticide solutions was applied to the surface of diet. Newly hatched larvae (0–12 h old), obtained by adults emerged from overwintering larvae, were individually placed in the wells. The results, observed 7 days after the treatment, proved the high activity of the insecticide on the field populations, comparable to that of the reference susceptible population.

Keywords: *Cydia pomonella*, Affirm, emamectine benzoato, baseline

INTRODUZIONE

Da sempre *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae), rappresenta il fitofago di maggior importanza in melicoltura e pericoltura, nonostante la presenza e la dannosità dipendano molto dalla gestione fitosanitaria, dall'ambiente e dall'andamento climatico stagionale. Tra i diversi effetti negativi legati all'uso reiterato di insetticidi, la resistenza talvolta sviluppata da questo carpo-fago è uno degli aspetti che ha maggiori implicazioni sul piano pratico ed economico.

Alcune popolazioni raccolte in frutteti europei hanno mostrato una ridotta sensibilità a diversi gruppi di insetticidi (Reyes *et al.*, 2007; Stara e Kocourek, 2007), da ricondurre ad una aumentata attività dei sistemi di detossificazione (Reyes *et al.*, 2009). È stata inoltre osservata

la comparsa in alcune popolazioni di carpocapsa di resistenze incrociate tra diverse classi di insetticidi (Sauphanor e Bouvier, 1995), un problema che complica ulteriormente il controllo di questo carpofago nel meleto.

Emamectina benzoato (Affirm®) manifesta una potente attività larvicida contro numerose specie di lepidotteri ed è dotato di spiccate proprietà translaminari (Dybas e Babu, 1988; Lasota e Dybas, 1991; Pasqualini *et al.*, 2008). L'attività prevalente è per ingestione, ma presenta anche un'attività di contatto che, sebbene di breve durata, può essere interessante per il controllo di alcune specie di lepidotteri quali i ricamatori (Arioli *et al.*, 2004; Ahmad *et al.*, 2002).

Inoltre, per le sue proprietà di bassa residualità e di buona selettività nei confronti degli organismi utili (Newman *et al.*, 2004; Ferreira *et al.*, 2005; Rubboli *et al.*, 2010), l'emamectina benzoato viene considerato un valido strumento per il controllo della carpocapsa e dei ricamatori (Angeli *et al.*, 2010; Giuliani *et al.*, 2010) nelle strategie di gestione fitosanitaria integrata e nei programmi a residuo minimo (Ioriatti *et al.*, 2009).

È tuttavia prevedibile che l'applicazione estesa e ripetuta di emamectina benzoato porti alla comparsa di resistenze. Per garantire l'efficacia delle tattiche fitoiatriche verso i fitofagi, serve attivare per ciascun insetticida, specie se di recente immissione sul mercato, un programma di gestione del rischio; in tale contesto l'individuazione della risposta funzionale di ceppi di riferimento deve essere rilevata già nelle fasi iniziali di utilizzo (Roush e Miller 1986).

Nel presente lavoro si è affrontata la questione utilizzando alcune popolazioni di carpocapsa raccolte in aree frutticole italiane, spagnole e portoghesi, mai sottoposte a trattamenti con emamectina benzoato. Su di esse è stato saggiato l'insetticida e la risposta funzionale emersa per ciascun ceppo è stata comparata con i livelli di sensibilità di una popolazione suscettibile di laboratorio.

MATERIALI E METODI

Larve diapausanti di *C. pomonella* sono state raccolte posizionando fasce trappola di cartone ondulato in sette frutteti europei durante le stagioni 2008, 2009 e 2010. I frutteti campionati localizzati in Italia (5), Spagna (1) e Portogallo (1) erano gestiti con difesa chimica (tabella 1). Tra le popolazioni italiane la popolazione San Michele è conosciuta per una ridotta suscettibilità nei confronti di tebufenozide (Ioriatti *et al.*, 2007). La popolazione emiliana BO 22 è caratterizzata da un'insufficiente suscettibilità in campo a regolatori di crescita e fosfororganici. Per FO 05, oltre alla scarsa efficacia delle strategie aziendali con regolatori di crescita e fosfororganici, è stata rilevata una ridotta efficacia di tebufenozide in biosaggi condotti su larve diapausanti (dati non pubblicati). La popolazione Noce è stata raccolta in un noceto gestito con difesa integrata. Le popolazioni Di Tommaso, S. Bons e Sample 1 derivano da frutteti gestiti con difesa chimica convenzionale.

Una popolazione di laboratorio, proveniente da Entomos AG (CH) è stata utilizzata come referente sensibile.

Le popolazioni diapausanti sono state mantenute ad una temperatura di 6°C con un fotoperiodo di 12:12 h (giorno:notte) per almeno tre mesi e successivamente poste in condizioni idonee allo sfarfallamento degli adulti (23 ± 2°C, UR 70% e fotoperiodo 16:8 giorno:notte). Gli adulti neosfarfallati sono stati posizionati per 48 ore in gabbie di accoppiamento in un meleto non trattato. Le larve, ottenute dalle uova deposte nelle gabbie, sono state trattate con diverse concentrazioni di emamectina benzoato (Affirm, 0,95% p.a., granuli idrosolubili)

Tabella 1. Popolazioni di *C. pomonella* saggiate, origine, gestione aziendale e informazioni su eventuali resistenze ad agrofarmaci

Popolazione	Origine	Frutteto	Resistenza
Entomos	Svizzera	Popolazione di laboratorio	-
San Michele	Trentino	difesa chimica	Tebufenozide
Di Tommaso	Friuli Venezia Giulia	difesa chimica	-
Noce	Veneto	difesa chimica	-
BO 22	Emilia Romagna	difesa chimica	IGR e fosfororganici
FO 05	Emilia Romagna	difesa chimica	IGR, fosfororganici, tebufenozide
S. Bons	Spagna	difesa chimica	-
Sample 1	Portogallo	difesa chimica	-

Il trattamento è stato eseguito secondo le modalità proposte da Reyes e Sauphanor (2008). Pozzetti di plastica di capacità di 300 µl (micropiastra 96 pozzetti MC01F-HB8, *biomat s.n.c.*), sono stati riempiti con 150 µl di dieta artificiale (Stonefly heliothis diet WARD'S international marketing group) e sulla superficie sono stati posti 6 µl di soluzione con insetticida preparata a diverse concentrazioni; una tesi trattata con acqua è stata utilizzata come testimone. In ogni pozzetto così preparato è stata posta una larva neonata (0-12 h) di *C. pomonella*, e il pozzetto è stato quindi chiuso con parafilm. I contenitori sono stati mantenuti a una temperatura di 23±2 °C e un fotoperiodo di 16:8 h giorno:notte. La mortalità è stata valutata dopo 7 giorni, considerando vive le larve che rispondevano ad uno stimolo meccanico. Per la valutazione delle DL sono necessarie 5 concentrazioni con una mortalità compresa tra 10% e 95%, e la mortalità del testimone inferiore al 15% (Robertson *et. al.*, 2003).

Le concentrazioni di p.a. in mg/l utilizzate nella sperimentazione sono: 28,5; 14,3; 9,50; 7,13; 3,56; 1,78; 0,890; 0,445; 0,223; 0,111; 0,0556; 0,0278; 0,0139.

I livelli di mortalità ottenuti nelle popolazioni allo studio sono stati rapportati con le osservazioni realizzate nel testimone trattato con acqua, secondo la formula di Abbott (1925); i valori di efficacia sono stati in seguito sottoposti all'analisi dei probit con il software POLO (PoloPlus LeOra Software 2.0) (Reyes e Sauphanor, 2008). Il programma ha fornito per ogni popolazione la pendenza della retta di mortalità, il coefficiente di regressione e le DL50 e DL90, con i rispettivi limiti di confidenza per $p < 0,05$.

È stato ottenuto il fattore di resistenza (FR) calcolando il rapporto tra i valori di DL50 e DL90 delle popolazioni allo studio e quelli della popolazione di riferimento.

RISULTATI

I risultati vengono riportati in tabella 2.

Tabella 2: numero totale di larve utilizzate per l'elaborazione della curva di mortalità, mortalità nel controllo non trattato, LC50 e LC90 (mg/l) con i limiti inferiore e superiore, χ^2 ($P < 0,05$), Gradi di libertà (gdl) e pendenza della curva delle differenti popolazioni di *C. pomonella* elencate in ordine crescente del fattore di resistenza rispetto alla popolazione di riferimento (Entomos)

Popolazione	n. totale larve	Mortalità non trattato (%)	DL50 (mg/l)	FR DL50	DL90 (mg/l)	FR DL90	χ^2	gdl	pendenza
Sample 1	1204	13,6	0,011 A* (0,005-0,018)	0,0195	0,254 A* (0,174-0,407)	0,163	13,022	11	0,928
S. Bons	929	8,5	0,016 A (0,006-0,031)	0,0284	0,799 B (0,539-1,277)	0,514	7,716	11	0,753
Entomos	810	11,1	0,563 B (0,483 - 0,646)	1	1,554 C (1,303 - 1,958)	1	5,412	6	2,907
Noce	480	6,66	0,763 B (0,622-0,913)	1,355	2,804 D (2,225-3,808)	1,804	3,574	5	2,266
Di Tommaso	480	13,3	1,185 C (0,964 - 1,419)	2,104	3,692 E (2,942 - 5,045)	2,376	3,410	5	2,596
San Michele	480	8,33	1,738 C (1,307 - 2,243)	3,087	5,414 E (3,943 - 8,884)	3,484	6,6147	5	2,597
BO 22	864	6,25	1,785 C (1,065-2,656)	3,171	7,250 E (4,560-17,107)	4,665	30,630	6	2,106
FO 05	864	4,1	2,073 C (1,236-3,095)	3,682	8,141 E (5,085-20,176)	5,239	33,509	6	2,1571

*indicazione ottenuta considerando la sovrapposizione dei limiti di confidenza

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

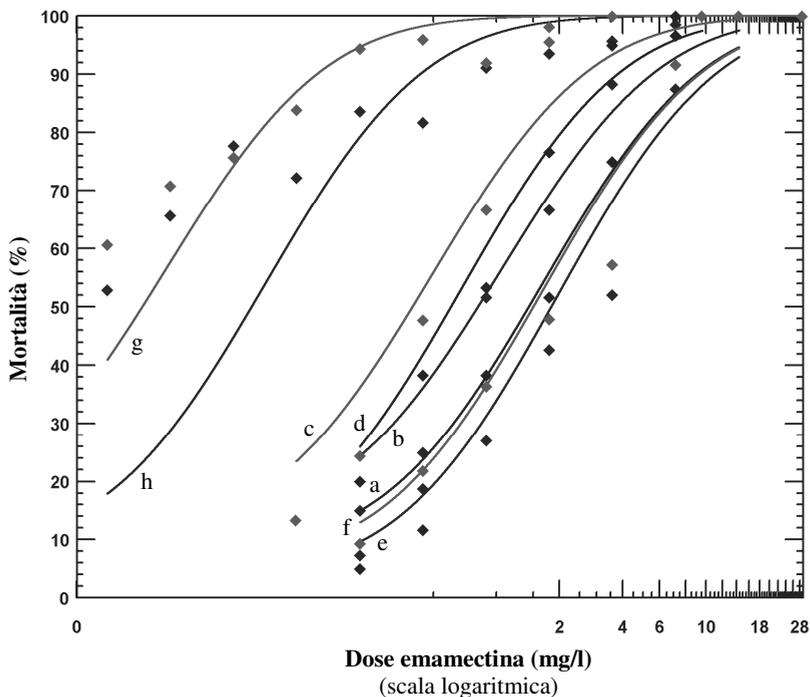
I valori di DL50 e DL90 ottenuti per popolazioni di campo di origine italiana non si discostano in maniera evidente dai valori ottenuti per la popolazione sensibile di laboratorio (Entomos A.G. –CH) a differenza di quelli ottenuti per le popolazioni spagnole e portoghesi, che risultano essere inferiori.

Il rapporto tra le DL50 delle popolazioni italiane e la popolazione referente di laboratorio varia tra 1,3 e 3,7; per la DL90 esso è compreso tra 1,8 e 5,23. Tali valori non sono elevati, ma indicano comunque una differente sensibilità delle popolazioni ad emamectina benzoato. Le popolazioni che maggiormente si discostano da quella suscettibile di laboratorio, ovvero San Michele, BO 22 e FO 05, sono le stesse che hanno risentito della selezione operata in campo da regolatori di crescita e fosfororganici. Per queste popolazioni saranno necessarie quindi ulteriori valutazioni per seguire eventuali variazioni di sensibilità all'emamectina.

Allo stato attuale non è stata comunque ancora documentata resistenza incrociata tra altre sostanze attive ed emamectina benzoato (Charmillot *et al.*, 2005a-2005b, 2007; Reyes *et al.*, 2007).

Le informazioni di base su popolazioni note saranno il punto di riferimento per il monitoraggio di eventuali variazioni di sensibilità delle popolazioni di *Cydia pomonella* in seguito all'impiego di agrofarmaci a base di emamectina benzoato (Affirm) nei frutteti europei.

Figura 1. Curve dose-mortalità delle popolazioni di *C. pomonella* allo studio: a) San Michele; b) Di Tommaso; c) Entomos; d) Noce; e) FO05; f) BO22; g) Sample 1; h) S. Bons



LAVORI CITATI

- Abbott W.S., 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. *J Econ Entomol.*, 18, 265-267.
- Ahmad M., Hollingworth R.M., Wise J.C., 2002. Broad-spectrum insecticide resistance in obliquebanded leafroller *Choristoneura rosaceana* (Lepidoptera: Tortricidae) from Michigan. *Pest Manag Sci*, 58, 834-838.
- Angeli G., Baldessari M., Rizzi C., Tomasi C., Chiesa S., 2010. Due nuovi insetticidi efficaci contro la carpocapsa del melo. *L'Informatore Agrario*, 66(18), 37-40.
- Arioli C.J., Botton M., Carvalho G.A., 2004. Chemical control of *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae) in peach orchard. *Ciência Rural, Santa Maria*, 34, 1695-1700.
- Charmillot P.J., Pasquier D., Briand F., 2005a. Resistance of the codling moth *Cydia pomonella* to insecticides. Tests by topical application on diapausing larvae collected in autumn 2003. *Rev Suisse Vitic Arbor Hort*, 37, 123-127.
- Charmillot P.J., Pasquier D., Briand F., 2005b. Detection of codling moth (*Cydia pomonella*) resistance by topical application of insecticides and validation on a laboratory resistant strain by dipping of apples and incorporating products into artificial diets. *IOBC/WPRS Bull*, 28(7), 265-269.
- Charmillot P.J., Pasquier D., Salamin C., Briand F., Ter-Hovannesyanyan A., Azizian A., Kutinkova H., Peeva P., Velcheva N., 2007. Détection de la résistance du carpocapsa *Cydia pomonella*. Tests d'insecticides sur des chenilles diapausantes de Suisse, d'Arménie et de Bulgarie. *Rev Suisse Vitic Arbor Hort*, 39, 385-389.

- Ferreira A.J., Carvalho G.A., Botton M., Mendonça L.A., Corrêa A.R.B., 2005. Selectivity of insecticides used in apple orchards to eggs of *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae). *Ciência Rural, Santa Maria* 35, 756-762.
- Giuliani G., Rizzi C., Baldessari M., Chiesa S., Angeli G., 2010. Efficacia di nuovi insetticidi verso la carpocapsa del melo. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 1, 19-26.
- Ioriatti C., Anfora G., Angeli G., Civolani S., Schmidt S., Pasqualini E., 2009. Toxicity of emamectin benzoate to *Cydia pomonella* (L.) and *Cydia molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae): laboratory and field tests. *Pest Manag Sci* 65, 306-312.
- Ioriatti C., Tasin M., Charmillot P.J., Reyes and Sauphanor B., 2007. Early detection of resistance to tebufenozide in field populations of *Cydia pomonella* L.: methods and mechanism. *J. Appl. Entomol.* 131(7), 453-459.
- Newman I.C., Walker J.T.S., Rogers D.J., 2004. Mortality of the leafroller parasitoid *Dolichogenidea tasmanica* (Hym: Braconidae) exposed to orchard pesticide residues. *N Z Plant Prot* 57, 10-12.
- Reyes M., Charmillot P.J., Ioriatti C., Olivares J., Pasqualini E., Franck P., Sauphanor B., 2007. Diversity of insecticide resistance mechanisms and spectrum in European populations of the Codling moth, *Cydia pomonella*. *Pest Manag Sci* 63, 890-902.
- Reyes M. and Sauphanor B., 2008. Resistance monitoring in codling moth: a need for standardization Pest Management Science. *Pest Manag Sci* 64(9), 945-953
- Reyes M., Franck P., Olivares J., Margaritopoulos J., Knight A., Sauphanor B., 2009. Worldwide variability of insecticide resistance mechanisms in the codling moth, *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) *Bulletin of Entomological Research* 99, 359-369.
- Robertson J.L., Preisler H.K., Russell R. M., 2003. PoloPlus. Probit and Logit Analysis. User's guide. Version 2.0.
- Roush R.T., Miller G.L., 1986. Considerations for design of insecticide resistance monitoring programs. *J. Econ. Entomol.* 79, 293-298.
- Rubboli V., Scannavini M., Marchesini E., Ferrari D., Morando A., Baldessari M., Tolotti G., Liguori R., 2010. Selettività di emamectina benzoato (Affirm) nei confronti degli acari fitoseidi su vite e melo, *Atti Giornate Fitopatologiche*, 1, 71-77.
- Sauphanor B., Bouvier J.C., 1995. Cross resistance between benzoylureas and benzoylhydrazines in the codling moth, *Cydia pomonella*. L. *Pestic. Sci.* 45: 369-375.
- Stara' J., and Kocourek F., 2007. Insecticidal Resistance and Cross-Resistance in Populations of *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) in Central Europe. *J. Econ. Entomol.*, 100(5), 1587-1595.