

STUDIO SUL RUOLO DI TEMEPHOS NELLA LOTTA LARVICIDA

Roberta Colonna, Daniele Franceschelli, Francesco Romagnoli, Giovanni Di Benedetto, Gianluca Selva, Anna Medici, Romeo Bellini – Centro Agricoltura Ambiente “G.Nicoli”, Crevalcore, Bologna

Premessa

Le specie di zanzara nocive che si sviluppano in ambiente urbano sono generalmente *Culex pipiens* e, da alcuni anni, *Aedes albopictus*. Altre specie possono trovare possibilità di sviluppo ma raramente raggiungono densità di popolazione tali da determinare disagio nei confronti dei cittadini (*Aedes geniculatus*, *Anopheles plumbeus*, *Culiseta longiareolata*, *Culiseta annulata*, ecc).

I focolai di sviluppo, come è noto, sono rappresentati da contenitori di varia natura (destinati a raccogliere acqua per l'utilizzo da parte dell'uomo o che, essendo più o meno abbandonati, trattengono acqua piovana), e dalle caditoie o tombinature stradali, pubbliche e private, che sono foggiate in maniera tale da trattenere l'acqua piovana per mantenere la fognatura isolata dall'ambiente esterno. Nelle tombinature è perciò necessario intervenire mediante l'impiego di insetticidi antilarvali specifici.

I principi attivi oggi più impiegati per questo scopo sono: Temephos, Diflubenzuron, Methoprene e Pyriproxyfen. L'insetticida biologico *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* (B.t.i.), generalmente valido per il controllo di tutte le specie di zanzara in ambiente extraurbano (fossi, canali, ecc.), non è utilizzabile in questo contesto a causa della sua scarsissima persistenza che richiederebbe una cadenza di trattamento settimanale, pertanto non economica e non sostenibile per il trattamento delle caditoie.

Allo stato attuale Temephos gioca il ruolo principale in ambito urbano e si è per questo ritenuto utile focalizzare lo studio su questo insetticida.

Va ricordato che Temephos è un principio attivo che in seguito alla Direttiva 98/8/CE (“DIRETTIVA BIOCIDI”) recepita in Italia dal D.Lgs. 25 febbraio 2000 N.174 non è più commercializzabile dal 1 settembre 2006 in quanto non è stata presentata da alcuna ditta la richiesta di “difesa” del prodotto. Al momento in cui si scrive questo rapporto la situazione non è chiara risultando pendente una richiesta per usi essenziali da parte di alcuni Paesi.

Persistenza di Temephos in funzione dei dosaggi e valutazione economica di convenienza

Oggetto della sperimentazione è stata l'efficacia e la persistenza di Temephos nella tombinatura stradale, allo scopo di ottenere indicazioni utili sui dosaggi e relativa pianificazione dei cicli di disinfestazione.

L'importanza di definire idonei dosaggi e periodicità di impiego di Temephos è stata dettata dall'esigenza di fare chiarezza stante l'incertezza in merito a questo argomento.

Materiali e metodi

Le prove sono state condotte nei Comuni di Forlimpopoli (2 repliche) e Rimini (1 replica). Lo studio è stato realizzato in condizioni di campo su lotti di tombini precedentemente individuati ed esclusi dalle normali attività di controllo antilarvale svolte nei relativi comuni. In totale sono stati coinvolti 224 tombini dei quali 51 non sono stati trattati e quindi mantenuti come testimone. Dati più dettagliati su tempi e tombinature coinvolte sono visibili nella seguente tabella 9. 1.

Tab. 9.1 – Località, periodo e tombini coinvolti nella sperimentazione

<i>Luogo</i>	<i>Periodo</i>	N° tombini
Forlimpopoli (prima prova)	23 giu – 18 lug (25 gg)	61 (test 11)
Rimini	9 ago – 6 set (28 gg)	100 (test 25)
Forlimpopoli (seconda prova)	29 ago – 4 ott (35 gg)	63 (test 15)

Sono state testate 3 diverse concentrazioni di prodotto (Tab.9.2). Il prodotto commerciale utilizzato è stato Abacide 48E, somministrato mediante pompa a spalla.

Tab. 9.2 – Dosi utilizzate nel corso della sperimentazione

<i>Dose</i>	<i>ml di formulato/tombino</i> <i>(Abacide 48 E)</i>	mg di p.a./tombino
Dose bassa	0,010	4,8
Dose media	0,075	36
Dose alta	1	480

I campionamenti sono stati realizzati effettuando per ciascun tombino 3 prelievi di acqua con dipper standard della capacità di circa 0.5 litri. Il contenuto di ciascun prelievo veniva versato in una vaschetta di plastica bianca per consentire una più facile individuazione e relativo conteggio delle larve e delle pupe immerse in un mezzo liquido dotato spesso di scarsa trasparenza a causa dell'elevata presenza di sostanze inquinanti. Prima di ogni trattamento è stato effettuato il conteggio delle larve e pupe presenti distinte per età e, per le larve di III[^] e IV[^] età, è stata effettuata anche la distinzione di specie. Successivamente sono stati effettuati controlli a cadenza settimanale ad eccezione della seconda verifica nel corso della prima prova di Forlimpopoli che è stata condotta dopo 4 giorni.

Il dato considerato nell'elaborazione è la media del numero di larve per litro dei tre prelievi condotti.

Si è ritenuto di non considerare le pupe per il calcolo della mortalità in relazione alle esigue densità rilevate (3,6 % del totale degli immaturi campionati), alla non sempre agevole attribuzione di specie, alla sostanziale ininfluenza sui risultati.

Fig. 9.1 – Fasi del controllo delle caditoie interessate dalla sperimentazione



Risultati

Nel corso della prima prova condotta a Forlimpopoli nel periodo 23 giugno-18 luglio, sono state rinvenute pressoché esclusivamente larve (III[^] e IV[^] età) e pupe di *Culex pipiens* (circa 99%) mentre *Aedes albopictus* è risultata decisamente scarsa (circa 1%).

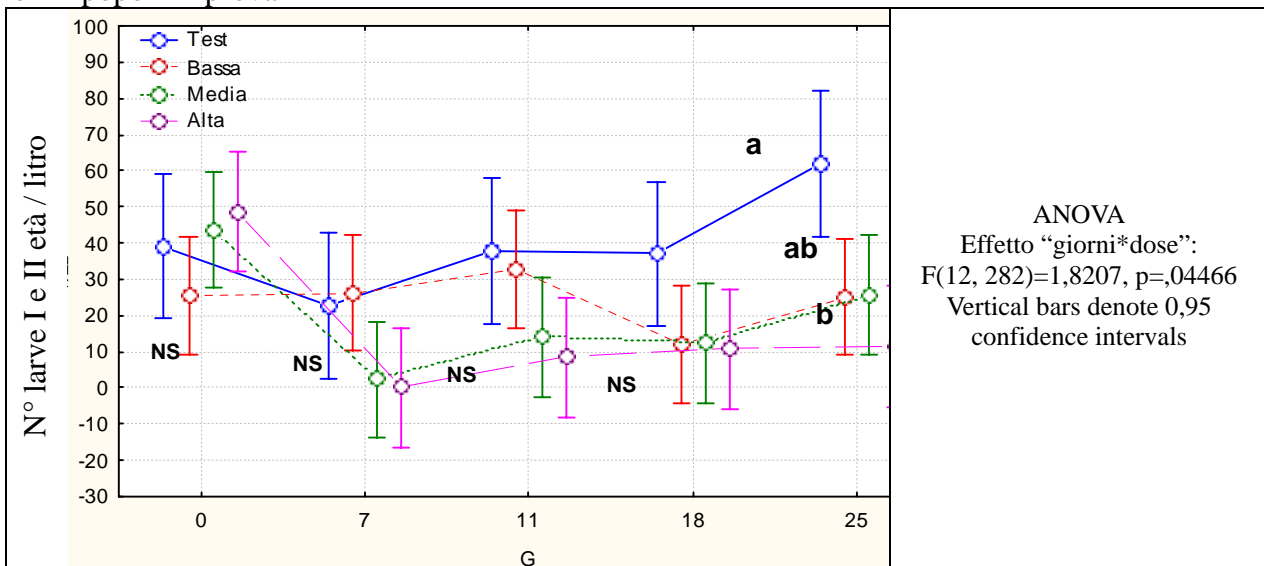
Nella figura 9.2 viene riportato l'andamento della densità media di larve giovani, di larve di III[^]-IV[^] età e pupe, e delle larve totali. Le barre verticali indicano l'intervallo di confidenza 0,95. Nei grafici occorre fare attenzione alla diversa scala utilizzata in ordinata.

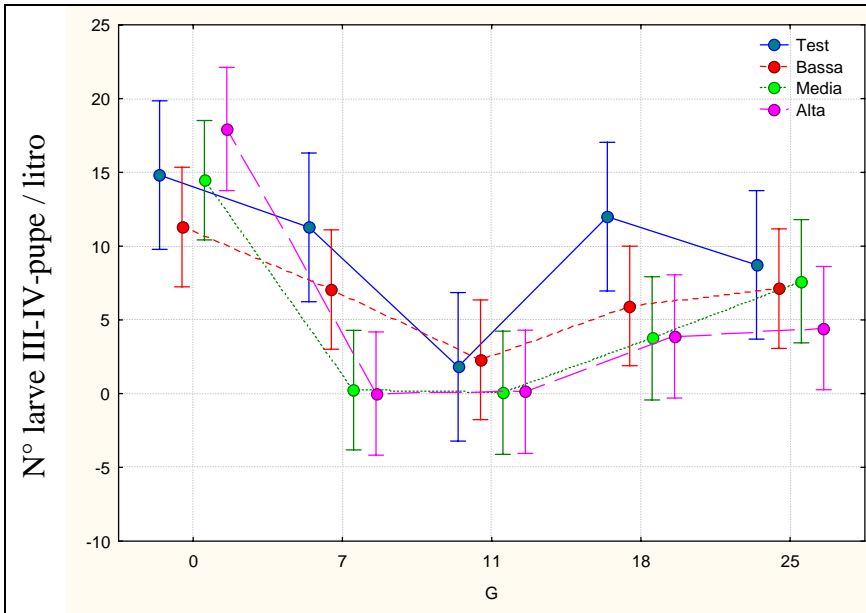
E' possibile osservare un andamento delle densità larvali tendenzialmente in aumento nei tombini testimone ad eccezione delle larve mature. Nelle caditoie trattate con dose media e alta la densità larvale subisce, rispetto al controllo pre-trattamento, una diminuzione più consistente dopo i primi 7 giorni mentre nei controlli successivi si osserva un aumento delle presenza di larve. Le densità larvali presenti nelle caditoie trattate con la dose bassa risultano simili al testimone già al controllo effettuato dopo 7 giorni e si osserva un andamento altalenante nei controlli successivi.

L'ANOVA a blocchi (Tab. 9.3.) evidenzia differenze tra le dosi al limite della significatività per le larve giovani e non significatività per le larve mature. Il secondo dato probabilmente legato alle basse densità ed alla relativa maggiore incidenza della variabilità nel caso delle larve mature rispetto alle larve giovani.

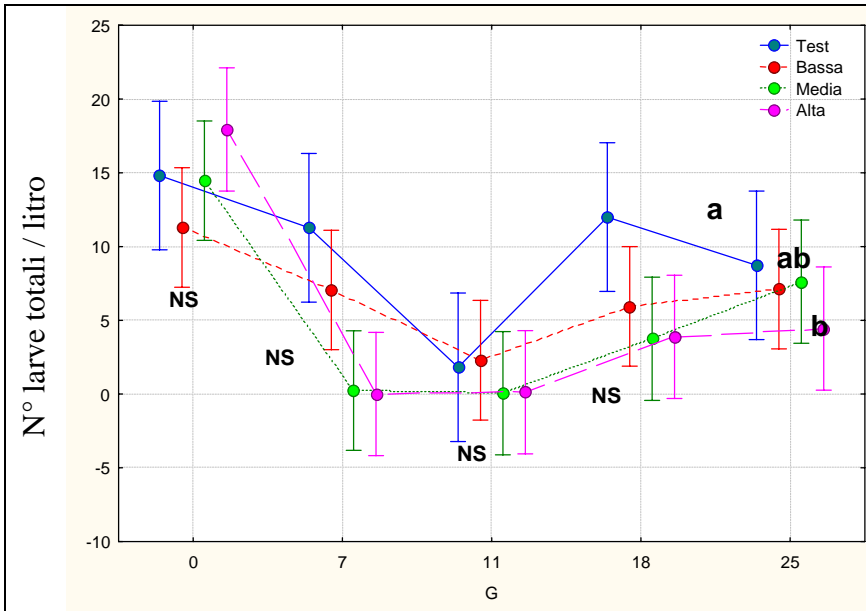
In figura 9.3 sono riportati i grafici relativi alla percentuale di mortalità corretta con la formula di Abbott relativa al totale delle larve e a quelle mature di *Cx.pipiens*. La formula di Abbott permette di correggere i dati in funzione delle variazioni che si registrano nel testimone. I dati con valore negativo si hanno quando il calo di densità nel testimone è superiore a quello nel sito trattato.

Fig. 9.2 – Andamento della densità larvale di *Cx.pipiens*
Forlimpopoli 1^a prova





ANOVA
 Effetto "giorni*dose":
 $F(12, 282)=1,7606$, $p=,05447$
 Vertical bars denote 0,95
 confidence intervals

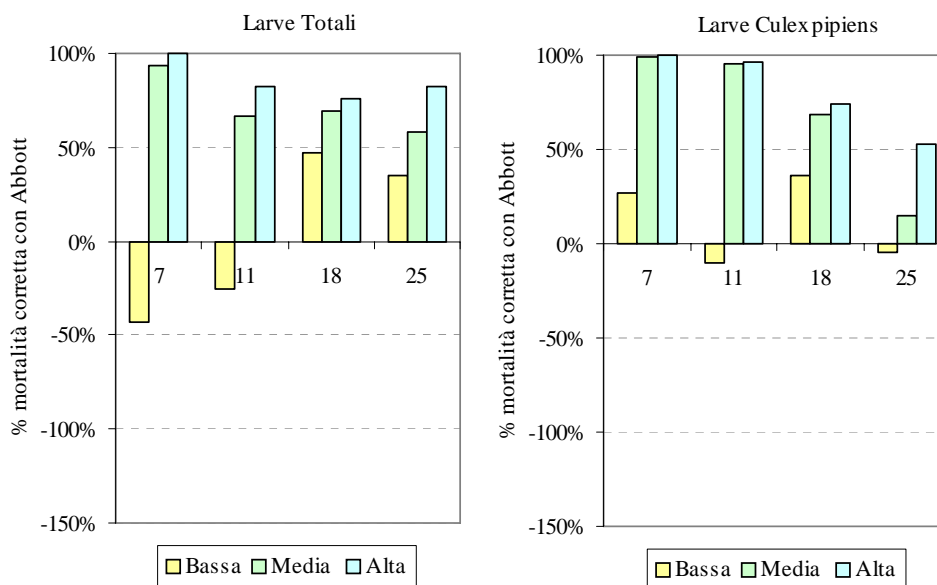


ANOVA
 Effetto "giorni*dose":
 $F(12, 282)=1,7606$, $p=,05447$
 Vertical bars denote 0,95
 confidence intervals

Tab. 9.3 – ANOVA a blocchi – Forlimpopoli 1^a prova

		SS	GL	MS	F	p
Larve I-II	Dose	20411,76	3	6803,921	3,2992	0,0577
Larve III-IV-pupe <i>Cx.pipiens</i>	Dose	830,195	3	276,731	2,1818	0,1431
Larve totali	Dose	29339,70	3	9779,899	3,4494	0,0515

Fig. 9.3 – Mortalità corretta con Abbott - Forlimpopoli 1^a prova



Analizzando la figura 9.3 si osserva che la dose bassa determina una mortalità scarsa per le larve mature di *Cx.pipiens* e nulla a 7 e 11 giorni se si considerano tutte le larve. In pratica già a 7 giorni si è avuta la ricolonizzazione dei tombini con la schiusura delle uova e la comparsa di larve giovani. La dose media risulta efficace a 11 giorni quando già però iniziano a comparire larve giovani (ricolonizzazione). La dose alta fa riscontrare una mortalità del 100% solo a 7 giorni poi scende attorno all'80% per la totalità delle larve mentre diminuisce più marcatamente per le larve mature.

Nella seconda prova, condotta a Rimini nel periodo 9 agosto-6 settembre è stato riscontrato un numero superiore di larve di *Ae.albopictus* fatto che ha permesso di effettuare analisi statistiche differenziate per specie. In media su un totale di 7.184 larve mature campionate (III^a e IV^a età), quelle cioè distinguibili per specie, il 17% è risultato di *Ae.albopictus* e l'83% di *Cx.pipiens*.

L'andamento climatico particolarmente piovoso di agosto 2005 (Fig. 9.4) ha certamente condizionato la dinamica larvale nei tombini e il decorso della prova. Le densità rimangono infatti basse nei primi tre campionamenti (dal 9/08 al 23/08) e salgono alla 3^a e 4^a settimana con l'interruzione delle piogge.

In figura 9.5 viene riportato l'andamento della densità media di larve giovani (*Cx.pipiens* + *Ae.albopictus*) riscontrate in questa prova; anche in questa figura le barre verticali indicano l'intervallo di confidenza 0,95. È possibile osservare che prima del trattamento la densità di larve giovani è simile in tutti i tombini, dopo 7 giorni la densità larvale nel testimone aumenta mentre si assiste ad un calo per tutte le dosi (più consistente per la dose alta), al quattordicesimo giorno la situazione rimane pressoché costante e successivamente si nota l'aumento graduale delle densità larvali che risultano però più contenute per la dose alta.

Per quanto riguarda le larve mature di *Cx.pipiens* (secondo grafico della figura 9.5) la densità larvale è risultata decisamente bassa anche nel testimone (a seguito delle piogge) non registrandosi differenze significative a 7 e 14 giorni. Successivamente solo la dose alta sembra esercitare un'azione residua a 3 e 4 settimane.

Per quanto riguarda le larve totali di *Ae.albopictus* (terzo grafico della figura 9.5) si nota una densità larvale molto bassa e senza sostanziali differenze tra le dosi fino a 14 giorni post-trattamento; successivamente (ventunesimo e ventottesimo giorno) la densità larvale nella dose bassa segue quella del testimone mentre nei tombini trattati con dose media e alta la densità larvale rimane significativamente più bassa.

L'ANOVA a blocchi (Tab.9.4) evidenzia differenze significative solo nel caso delle larve giovani (*Cx.pipiens* + *Ae.albopictus*) e delle larve mature di *Cx.pipiens*; anche qua il dato si può spiegare in relazione alle basse densità larvali di larve mature.

Fig. 9.4 Precipitazioni nel periodo di prova - Rimini 2005 (fonte ARPA stazione Rimini aeroporto)

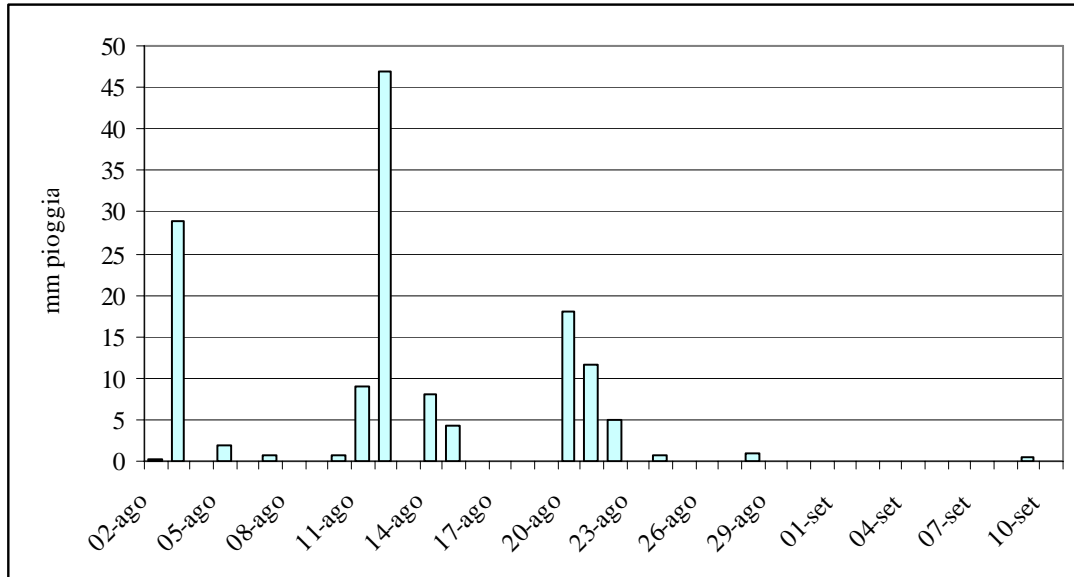
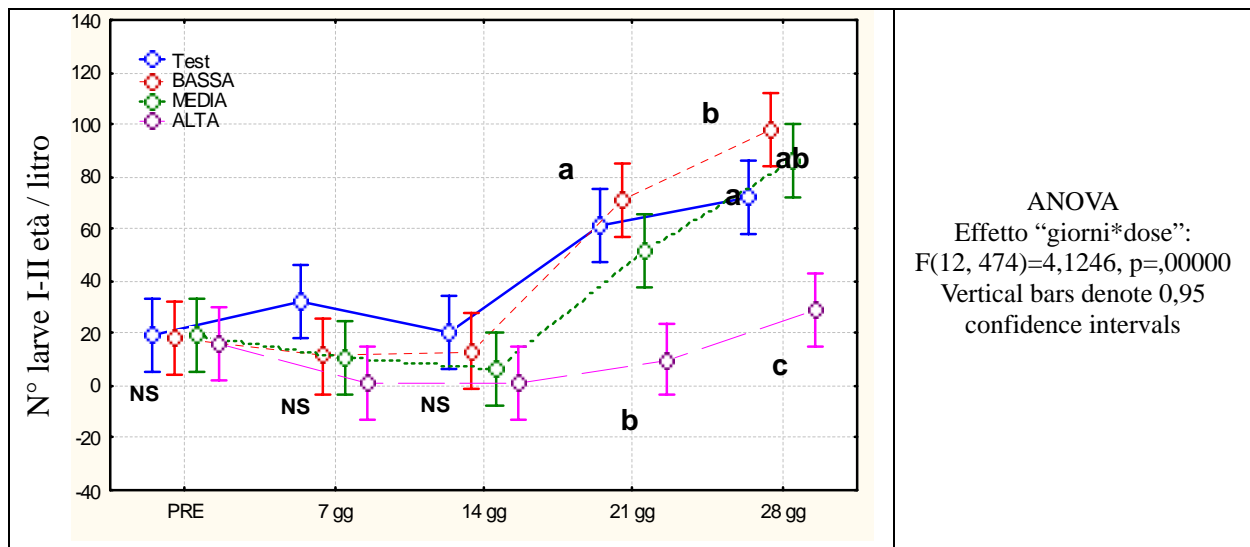
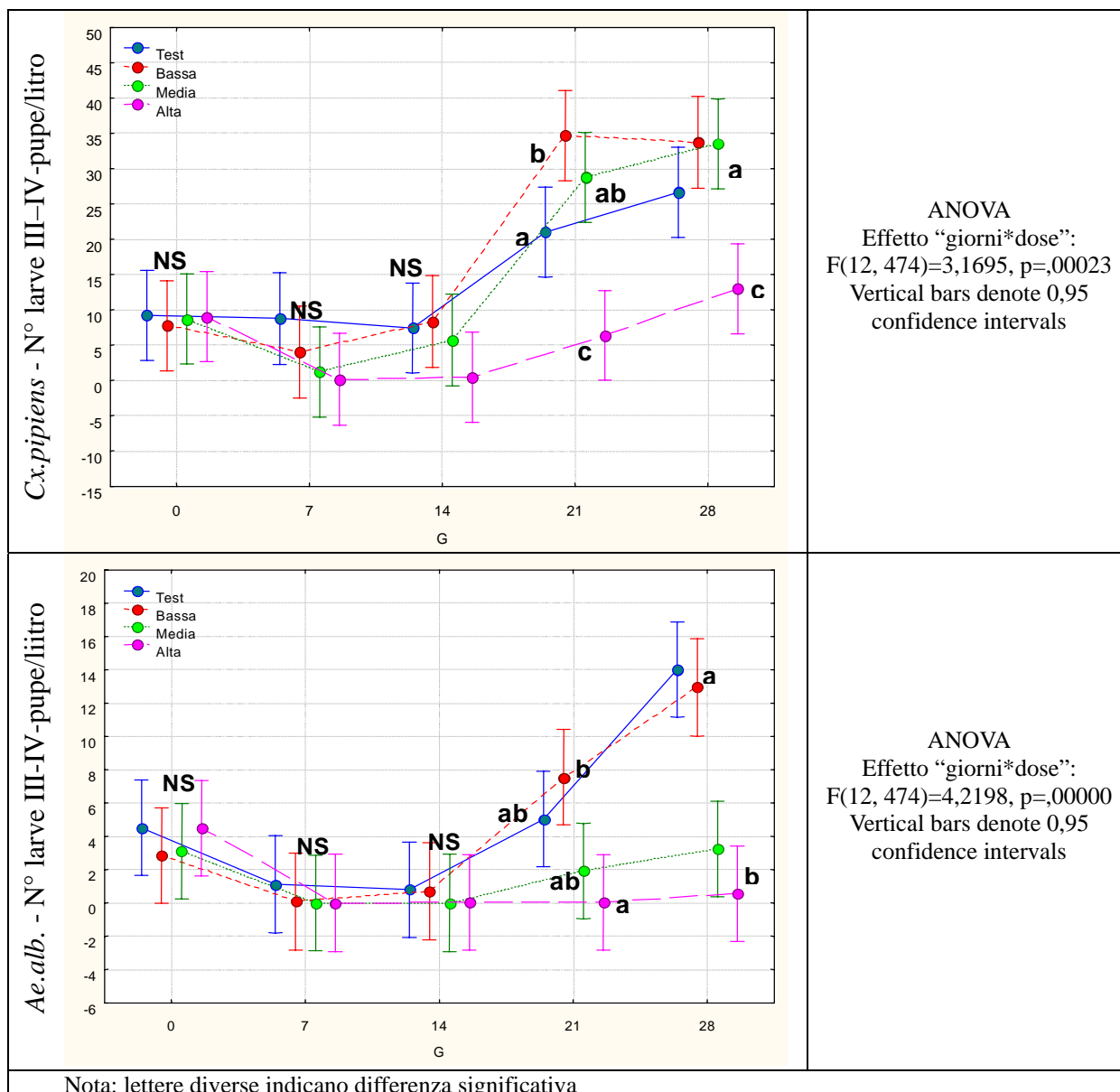


Fig 9.5 Andamento della densità larvale – Rimini



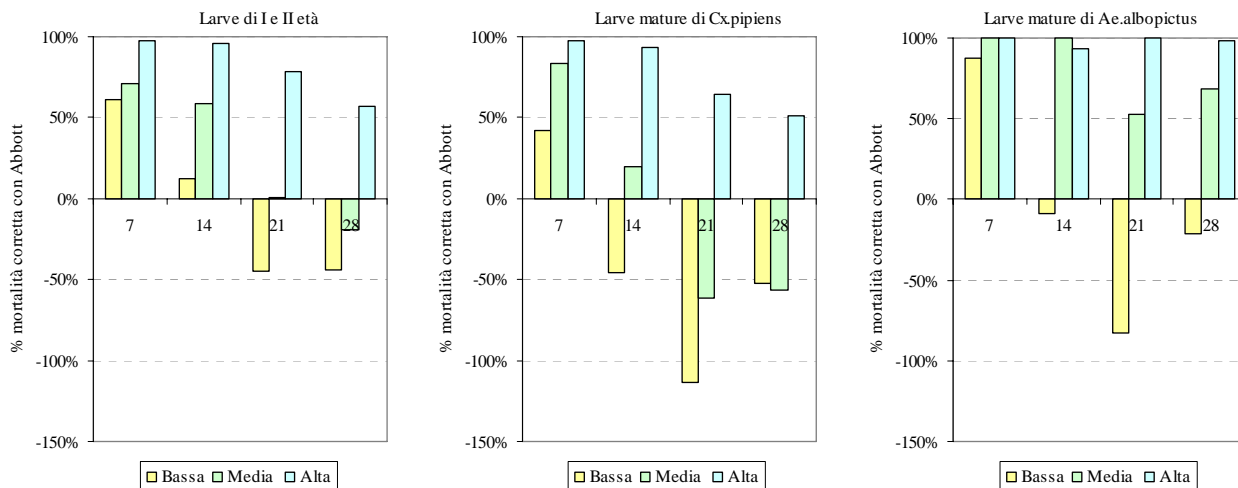


Tab. 9.4 – ANOVA a blocchi – Prova di Rimini

		SS	GL	MS	F	p
Larve I-II	Dose	76857,97	3	25619,32	4,9739	0,018
Larve III-IV <i>Cx.pipiens</i>	Dose	10182,54	3	3394,18	4,0602	0,033
Larve III-IV <i>Ae.albopictus</i>	Dose	1655,009	3	551,66	2,4561	0,113

Riportiamo anche in questo caso la percentuale di mortalità corretta con la formula di Abbott (fig. 9.6).

Fig. 9.6 Mortalità corretta con Abbott - Prova Rimini



Analizzando la percentuale di mortalità di larve giovani corretta con Abbott si osserva a 7 gg. una mortalità intorno al 60% per la dose bassa e di circa il 70% per la media; mentre è più elevata (circa al 97%) per la dose alta.

Dopo 2 settimane alla dose più bassa la mortalità registrata è molto bassa, mentre si mantiene sul 58% alla dose media ed al 95,5% alla dose alta. Dopo 3 settimane non si osserva nessuna riduzione alle dosi bassa e media, mentre alla dose alta è circa del 78%. Dopo 28 giorni alla dose alta la mortalità si mantiene intorno al 57%. La persistenza del prodotto calcolata per le larve giovani considerando l' LT_{90} , ossia l'arco di tempo durante il quale la mortalità si mantiene superiore al 90%, è di 14,4 alla dose alta, mentre la dose bassa e media non raggiungono questo limite.

Analizzando la percentuale di mortalità per le larve mature e pupe di *Cx.pipiens* si osserva che alla dose bassa la persistenza del prodotto è molto ridotta, dopo 7 giorni la mortalità è già inferiore al 50%; alla dose media il prodotto persiste per 1 settimana (83,7%), ma già dopo 14 giorni la mortalità è solo del 20%. Alla dose alta la mortalità è superiore al 97% a 7 giorni e 93,4 a 14 giorni; scende al 64% e al 51% circa rispettivamente alla terza e alla quarta settimana.

L' LT_{90} alla dose alta è di 13,3 giorni.

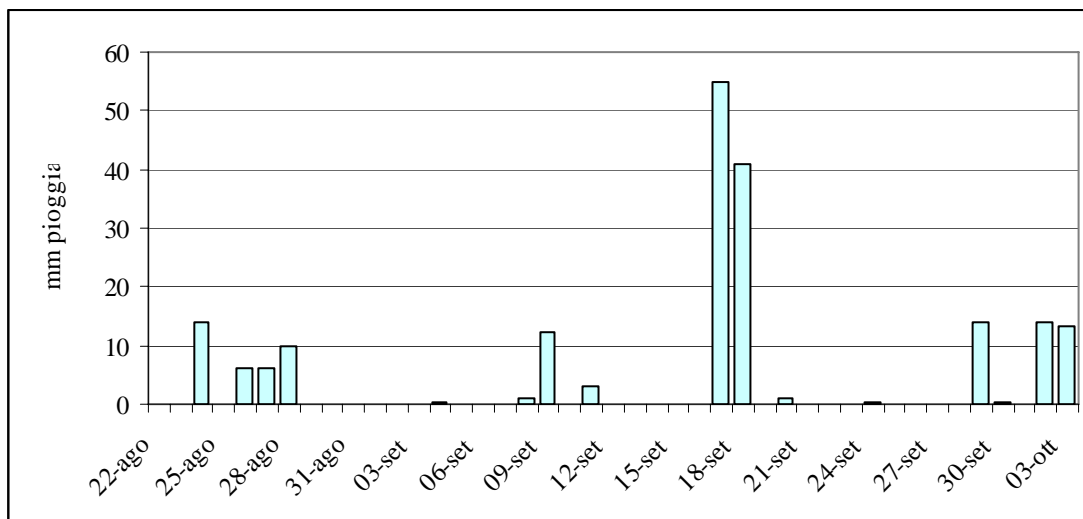
Nel caso delle larve mature e pupe di *Ae.albopictus* alla dose più bassa la mortalità corretta non raggiunge mai il 100% e già alla seconda settimana non si osservano differenze con il testimone. Alla dose media il LT_{90} è pari a 15,5 giorni.

Alla dose alta la mortalità delle larve di III[^]-IV[^] età e pupe di *Ae.albopictus* si mantiene prossima al 100% per le quattro settimane di indagine. Sarebbe stato interessante proseguire ma non è stato possibile per le avverse condizioni climatiche.

Nella terza prova condotta a Forlimpopoli si è registrato un 9% di larve mature di *Ae.albopictus* su un totale di 838 larve campionate, pertanto anche in questo caso è stato possibile condurre analisi statistiche differenziate per specie.

In figura 9.7 viene riportato l'andamento delle precipitazioni registrate nella stazione ARPA più vicina (circa 5 km in linea d'aria). Eventi piovosi impattanti si sono registrati in data 17 e 18 settembre, come risulta evidente dal crollo delle densità registrate nel testimone nel controllo a 21 giorni (Fig. 9.8.).

Fig. 9.7 Precipitazioni nel periodo di prova - Forlimpopoli 2005 (fonte ARPA stazione di Forlì aeroporto)



Le densità medie di larve nel corso di questa prova si possono considerare generalmente basse (Fig.9.8).

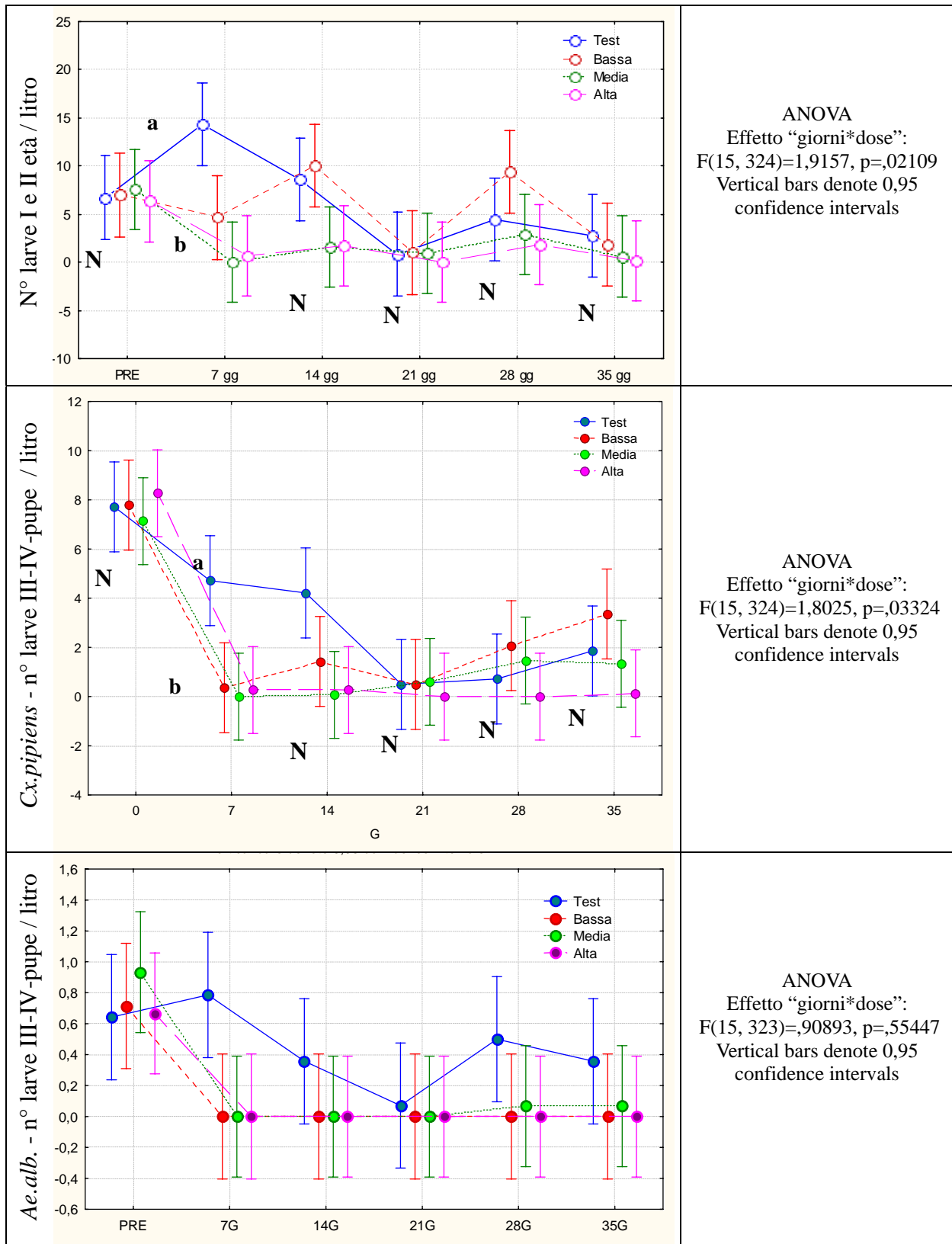
Nel primo grafico sono visibili i dati relativi alle larve giovani (*Cx.pipiens* + *Ae.albopictus*). E' possibile osservare che prima dell'intervento la densità di larve giovani è simile nei quattro blocchi di tombini, a 7 giorni post-tratt. la densità larvale nel testimone aumenta mentre si assiste ad un calo per tutte le 3 dosi (decisamente meno marcato per la dose bassa); al quattordicesimo giorno alla dose bassa la densità larvale è superiore al testimone. Successivamente si ha un decorso fluttuante con le densità che rimangono comunque molto basse anche nel testimone in relazione alle piogge e alla difficoltà di ricolonizzazione.

Per quanto riguarda le larve mature di *Cx.pipiens* (secondo grafico) si ha un dato di pre-trattamento simile nei quattro blocchi di tombini, a 7 giorni si registra un forte calo di densità nel testimone ed una efficacia prossima al 100% per le tre dosi; successivamente si ha un ulteriore crollo delle densità nel testimone fino a valori prossimi allo 0 a tre settimane, ed una leggera ripresa a 4 e 5 settimane post-trattamento.

Per quanto riguarda *Ae.albopictus* (terzo grafico) si nota una densità larvale esigua con il testimone che tende a declinare nel corso della prova.

L'ANOVA a blocchi (Tab.9.5) evidenzia differenze significative tra le dosi solo nel caso delle larve giovani.

Fig. 9.8 Andamento della densità larvale - Forlimpopoli 2° prova



Tab. 9.5 – ANOVA a blocchi – Forlimpopoli 2^a prova

		SS	GL	MS	F	p
Larve I-II	Dose	1393,332	3	464,4440	3,5979	0,0387
Larve III-IV <i>Cx.pipiens</i>	Dose	172,57	3	57,5252	2,6400	0,0873
Larve III-IV <i>Ae.albopictus</i>	Dose	7,7459	3	2,5819	2,2968	0,1192

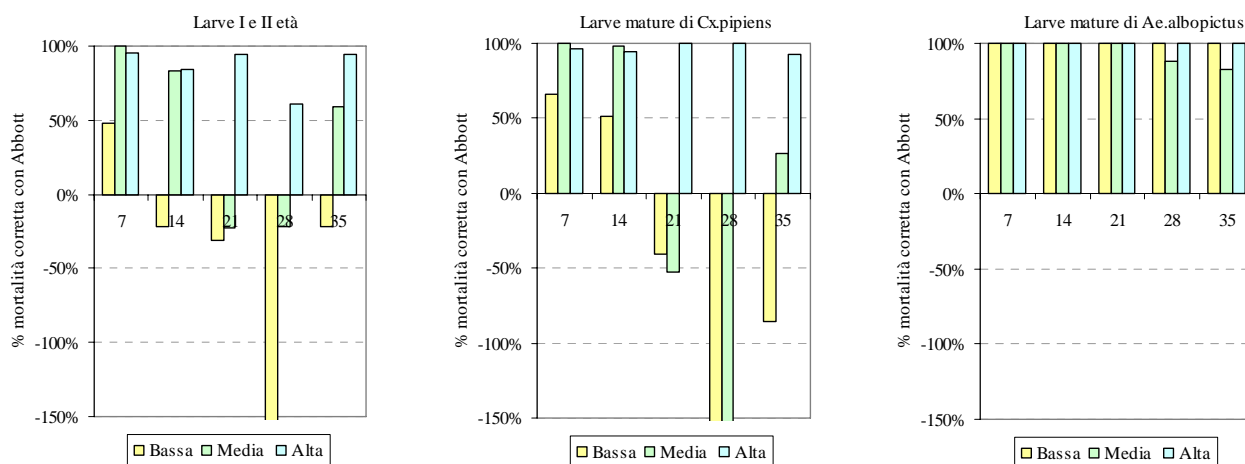
La mortalità corretta con la formula di Abbott relativa alla seconda prova di Forlimpopoli è visualizzata in Figura 9.9.

Analizzando la percentuale di mortalità di larve giovani corretta si osserva che alla dose bassa l'efficacia del prodotto è nulla da 14 giorni dopo il trattamento e comunque già al settimo si attesta intorno al 50%. La dose media fornisce prestazioni buone fino a 14 giorni ma non è efficace alla 3^a settimana. La dose alta sembra dare sufficiente copertura fino a tre settimane con effetto ridotto alla 4^a settimana e ripresa alla 5^a.

Per quanto riguarda le larve mature di *Cx.pipiens* la dose bassa non raggiunge il 100% a 7 giorni ed è intorno al 70% a 14 giorni. Successivamente non vi è efficacia per questo dosaggio. La dose media fa registrare mortalità del 100% a 14 giorni ma successivamente non sembra avere alcuna efficacia. Alla dose alta si osserva invece una buona efficacia (sempre superiore al 90%) fino all'ultimo controllo.

Considerando le larve mature di *Ae.albopictus* si osserva una mortalità molto elevata a tutti i dosaggi, ma il dato è poco probante stante l'esigua densità larvale rilevata.

Fig. 9.9– Mortalità corretta con Abbott - Forlimpopoli 2^a prova



Discussione

L'andamento delle precipitazioni decisamente elevate nel periodo agosto-settembre 2005 ha influito sulla densità delle popolazioni larvali nella tombinatura stradale, ambiente che risente in modo particolare dei piovasci.e ne amplifica l'azione.

In tutte le tre prove *Cx.pipiens* è risultata la specie largamente più abbondante attestandosi su una presenza media del 85% contro un 15% di *Ae.albopictus* (Tab. 9.6).

Si tratta di una popolazione larvale rappresentativa di quanto si osserva in genere nella tombinatura stradale sottoposta a regolari trattamenti larvicidi, e dove quindi la competizione larvale tra le due specie non riesce ad esplicarsi liberamente.

Tab. 9.6 – Composizione della fauna culicidica complessiva nella tombinatura stradale

Prova	<i>Cx.pipiens</i>			<i>Ae.albopictus</i>			I-II	III-IV-pupe		totale
	III-IV	pupe	totale	III-IV	pupe	totale		% <i>Cx.p.</i>	% <i>Ae.a.</i>	
Rimini	5.881	775	6.656	1.228	320	1.562	16.058	81,1	18,9	24.262
Forlimpopoli 1^ prova	1.612	351	1.963	---	---	---	7.140	100	0	9.103
Forlimpopoli 2^ prova	656	130	786	74	39	113	1.366	87,4	12,6	2.265
Totale	8.149	1.256	9.405	1.302	359	1.675	24.564	85,0	15,0	35.630

Va osservato che la variabilità di risultati ottenuti nelle diverse prove è da attribuire alle diverse condizioni microambientali all'interno delle caditoie: la composizione chimico-fisica dell'acqua, la sostanza organica, la flora microbica, l'epoca stagionale influenzano la dinamica di degradazione del prodotto e quindi la sua efficacia e persistenza d'azione.

Le tre dosi testate sono state scelte in modo che la dose bassa fosse indicativamente pari a quella massima consigliata (nel caso dell'Abacide 48E l'etichetta non prevede l'impiego nella tombinatura stradale ma solo su ampie superfici d'acqua per cui il calcolo è stato fatto approssimando il tombino al metro quadro), la dose media più alta di 10 volte circa, la dose alta più alta di 100 volte circa.

L'efficacia d'azione larvicida e la persistenza di Temephos nella tombinatura stradale sono risultate decisamente diverse nei confronti delle due specie oggetto di studio.

Considerando le larve giovani (I[^]-II[^]) si osserva la rapida ricolonizzazione della tombinatura a seguito del trattamento con dose bassa. Con le dosi media ed alta la dinamica a carico delle larve giovani è invece simile a quella osservata per le larve mature.

Nei confronti delle larve mature di *Cx.pipiens* la mortalità corretta con Abbott ottenuta con la dose bassa risulta scarsa già al primo controllo a 7 giorni dal trattamento, attestandosi su valori compresi nel range 30-65% nelle tre prove.

Si tratta di valori del tutto modesti che fanno ritenere il dosaggio di 4,8 mg p.a./tombino decisamente insufficiente nei confronti di questa specie.

La dose media, persiste ed è risultata efficace per 11 giorni a Forlimpopoli (prima prova) ma al diciottesimo è già inferiore al 70% e comunque non è affatto efficace al giorno 21 sia a Forlimpopoli (seconda prova) che a Rimini. In quest'ultimo caso anche a 14 giorni era già scesa al 20%. Anche questa dose non si può pertanto ritenere sufficiente determinando la necessità di intervenire a cadenze di almeno 14 giorni per poter garantire un idoneo controllo di *Cx.pipiens*.

La dose alta ha fornito risultati migliori, anche se non sempre in linea nel corso delle tre prove avendo fatto riscontrare una mortalità sempre superiore al 90% (fino al trentacinquesimo giorno) a Forlimpopoli (seconda prova) e mortalità scarse già al terzo controllo (64 e 74% circa rispettivamente a Rimini e Forlimpopoli prima prova).

Su *Cx.pipiens* pertanto il Temephos fa riscontrare una buona efficacia e persistenza solo alla dose più elevata, persistenza che comunque già intorno alle 3 settimane post-trattamento è in alcuni casi insufficiente.

Riguardo ad *Ae.albopictus* i valori validi sono relativi a sole due prove (Forlimpopoli seconda prova e Rimini).

Nel primo caso, tutte le dosi risultano sufficientemente efficaci fino all'ultimo controllo (5 settimane post-trattamento), ma si tratta di un test con valori di densità larvale assai esigui.

Nella prova di Rimini la dose bassa ottiene un'efficacia sufficiente solo al primo controllo (7 giorni post-trattamento). La dose media fornisce un riscontro positivo fino a due settimane post-trattamento ma perde drasticamente efficacia al ventunesimo giorno. La dose alta mantiene buona efficacia fino all'ultimo controllo a 28 giorni post-trattamento.

E' possibile quindi concludere che la dose alta è l'unica che può fornire risultati soddisfacenti con una persistenza d'azione attorno alle 4 settimane nei confronti di *Ae.albopictus*.

E' da sottolineare che a seguito della verificata scarsa efficacia di Temephos nei confronti di *Cx.pipiens* si è ritenuto di effettuare prove di sensibilità in laboratorio. Il tipo di biosaggio effettuato consiste nel comparare la mortalità di larve raccolte in natura rispetto a larve di un ceppo della stessa specie in allevamento da molti anni e sicuramente sensibile al prodotto considerato. I dati ottenuti vengono elaborati mediante Probit e riportati come concentrazioni (dosi letali) in mg/l richieste per uccidere un certo numero di individui testati. Per confrontare tra loro i dati sulla sensibilità di diversi ceppi si fa riferimento alla dose letale che uccide il 50% degli individui sottoposti al saggio (DL_{50}).

I coefficienti R (DL_{50} ceppo di campo / DL_{50} ceppo di laboratorio) riscontrati nei 5 test condotti sono:

- Forlimpopoli (larve raccolte il 5 settembre) R = 5,8;
- Rimini (larve raccolte il 5 settembre) R = 3,2;
- Forlimpopoli (larve raccolte il 18 settembre) R = 3,3;
- Rimini (larve raccolte il 18 settembre) R = 3,6;
- Forlimpopoli (larve raccolte il 19 settembre) R = 2,3.

Si è quindi riscontrata una certa perdita di sensibilità al Temephos nelle popolazioni romagnole di *Cx.pipiens* in quanto per ottenere la medesima mortalità di un ceppo sensibile, sono necessarie dosi da 2 a 5 volte superiori rispetto ai valori di riferimento.

Si è quindi ritenuto di iniziare a consigliare la sostituzione del p.a. con altri dotati di diverso meccanismo d'azione in modo da rendere la lotta contro *Ae.albopictus* pienamente efficace anche contro *Cx.pipiens*.

A parte la criticità rilevata nei confronti di *Cx.pipiens*, sotto il profilo della convenienza risulterebbe quindi utile ricorrere a sovradosaggi in modo da potenziare l'azione residua di Temephos e ridurre a 5-6 il numero di interventi stagionali contro la Zanzara Tigre.

Le attuali etichette dei formulati a base di Temephos sul mercato non prevedono in genere dosaggi più elevati dimensionati specificatamente per la tombinatura stradale e nel caso il prodotto rimanesse sul mercato europeo le aziende titolari dovrebbero valutare l'opportunità e la fattibilità di richiedere la modifica dell'etichetta.

Al contrario dovendosi impiegare le dosi massime ammissibili il turno d'intervento non potrebbe andare oltre le due settimane il che richiederebbe un numero d'interventi stagionali di 10-12 con costi operativi tali da rendere l'impiego del prodotto non competitivo rispetto ad altri presidi medico chirurgici.

Sensibilità al Temephos delle popolazioni di Ae.albopictus

Tra gli obiettivi del progetto c'era la verifica della sensibilità delle popolazioni di *Ae.albopictus* del territorio dell'area vasta Romagna al prodotto larvicida maggiormente impiegato nelle caditoie negli ultimi anni: Temephos.

L'utilizzo nel tempo di uno stesso prodotto può dar luogo a fenomeni di perdita di sensibilità e resistenza. E' quindi importante effettuare un continuo monitoraggio al fine di rilevare l'eventuale insorgenza della resistenza e mettere in atto le dovute contromisure.

L'OMS ha messo a punto una serie di metodiche standard per effettuare saggi sugli artropodi di interesse sanitario, atti a misurarne il livello di sensibilità verso un dato insetticida. Lo scopo di questi saggi è quello di svelare la presenza di individui resistenti in una popolazione di insetti non appena questi comincino ad apparire in numero apprezzabile.

Protocollo delle prove

Nei mesi di Agosto e Settembre sono state raccolte in campo, mediante ovitrappole, uova di *Ae.albopictus* nelle località urbane di Cesena, Forlimpopoli, Forlì, Rimini e Ravenna.

Le uova sono state fatte schiudere in laboratorio e le larve allevate all'interno di celle climatizzate alla temperatura di $27\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR $85\pm 10\%$ e fotoperiodo 16:8. Raggiunta la terza età, le larve sono state utilizzate per le prove di saggio.

La misurazione della resistenza è stata fatta sul confronto con un ceppo di sensibilità normale, allevato in laboratorio, saggiato in condizioni sperimentali analoghe. Per normale si intende una popolazione mai sottoposta a pressione selettiva da parte di insetticidi.

Quattro bicchieri contenenti ciascuno 25 larve sono stati preparati per ogni dosaggio da testare e per il testimone.

Si sono utilizzati 6 dosaggi in modo da fornire mortalità comprese tra 0% e 100%.

Per ogni località sono quindi state utilizzate nel biosaggio 600 larve.

Dopo alcune prove preliminari le dosi scelte in modo da ricadere nel range di mortalità desiderato sono state le seguenti:

A= 0.0072 mg/l

B= 0.012 mg/l

C= 0.0168 mg/l

D= 0.0216 mg/l

E= 0.264 mg/l

F= 0.312 mg/l

La dose da testare è stata somministrata in ciascun bicchiere con micropipetta a volume variabile. La mortalità è stata determinata mediante conteggio delle larve morte e sopravvissute dopo 24 h dal trattamento.

I dati sono stati elaborati mediante Probit analisi. Per confrontare tra loro i vari dati sulla sensibilità riguardanti i diversi ceppi è stato scelto convenzionalmente di fare riferimento alla dose letale che uccide il 50% degli individui sottoposti al saggio (DL50).

Risultati

I risultati ottenuti non evidenziano alcuna perdita di sensibilità in nessuno dei ceppi raccolti (vedi tabelle seguenti). La DL_{50} ottenuta per i diversi ceppi non mostra infatti differenze rispetto a quella del ceppo sensibile allevato presso il Centro Agricoltura Ambiente.

Non risultano quindi in atto fenomeni di perdita di sensibilità delle popolazioni romagnole di *Aedes albopictus* nei confronti dell'impiego di Temephos.

Tab. 9.7 Prova del 22/08

	<i>Allevamento</i>	Ravenna	Forlì	Rimini
DL 10	0,00748	0,000783	0,00912	0,00782
DL 50	0,01329	0,01391	0,01697	0,01323
DL 90	0,0259	0,02473	0,03156	0,02239

Tab. 9.8 Prova del 05/09

	<i>Allevamento</i>	Forlimpopoli
DL 10	0,00446	0,00425
DL 50	0,00812	0,00751
DL 90	0,01481	0,01326

Tab. 9.10 Prova del 27/09

	<i>Allevamento</i>	Cesena
DL 10	0,00406	0,00555
DL 50	0,00705	0,00902
DL 90	0,01224	0,01466

Ringraziamenti

Si ringrazia Anna Medici del Centro Agricoltura Ambiente "G.Nicoli", Crevalcore, Bologna che ha condotto lo studio sulla sensibilità al Temephos delle popolazioni trattate.