



Tavole Rotonde sui maggiori problemi
riguardanti l'Entomologia Agraria in Italia
Sotto gli auspici del MIPAAF

XXXVII. NUOVE TECNOLOGIE PER LA DIFESA DELLE DERRATE ALIMENTARI



Estratto da:
ATTI DELLA
ACCADEMIA NAZIONALE
ITALIANA DI ENTOMOLOGIA
Anno LXVII - 2019



Tavole Rotonde sui maggiori problemi
riguardanti l'Entomologia Agraria in Italia
Sotto gli auspici del MIPAAF

XXXVII. NUOVE TECNOLOGIE PER LA DIFESA DELLE DERRATE ALIMENTARI

Estratto da:
ATTI DELLA
ACCADEMIA NAZIONALE
ITALIANA DI ENTOMOLOGIA
Anno LXVII - 2019

PRESENTAZIONE

La sicurezza alimentare, in particolare nell'accezione anglosassone di food safety, dipende non solo dalla qualità dei processi di produzione primaria, ma anche dalle tecnologie di difesa delle derrate alimentari, costantemente esposte, durante la fase di immagazzinamento e trasformazione, al potenziale attacco di numerosi parassiti e patogeni. Pertanto, la qualità e sicurezza del prodotto finale sono funzione di una gestione attenta dell'intera filiera, dal campo al consumatore.

La ridotta tolleranza nei confronti dei vari agenti di danno negli ambienti di stoccaggio e nelle industrie alimentari rende necessaria l'adozione di criteri preventivi efficaci, per limitare al minimo gli interventi tardivi e gli inevitabili danni a essi associati. La giusta riduzione dell'uso dei pesticidi chimici in agricoltura, imposta dalle direttive europee e dalle leggi di recepimento nazionali, deve essere naturalmente ancora più marcata nelle fasi di post-raccolta, in modo da garantire un prodotto finale con residui di contaminanti chimici accettabili o, possibilmente, nulli.

Per poter raggiungere questo importante risultato, è necessario definire strumenti efficaci di monitoraggio e prevenzione dell'ingresso degli agenti di

danno negli ambienti di stoccaggio e trasformazione delle materie prime e dei prodotti alimentari, in modo da evitare il ricorso diffuso all'uso delle fumigazioni strutturali preventive, certamente efficaci ma poco sostenibili in termini ambientali e di salute pubblica. Inoltre, è essenziale sviluppare strumenti di supporto per la definizione delle migliori strategie da adottare così come interventi di precisione ad elevato contenuto tecnologico e di conoscenza.

Il presente volume contiene una raccolta di contributi presentati nell'ambito di una Tavola Rotonda organizzata dall'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia, dal titolo "Nuove tecnologie per la difesa delle derrate alimentari". Gli studiosi invitati hanno fornito, relativamente ai parassiti animali, un'interessante carrellata sulle principali innovazioni e sui nuovi strumenti disponibili per affrontare questa sfida a cui siamo chiamati per garantire cibo sicuro e protezione ambientale, elementi essenziali di un approccio one-health alla gestione e utilizzazione sostenibile dell'ambiente in cui viviamo.

FRANCESCO PENNACCHIO
Presidente
Accademia Nazionale Italiana di Entomologia

INDICE

Tavola Rotonda su:

NUOVE TECNOLOGIE PER LA DIFESA DELLE DERRATE ALIMENTARI

PASQUALE TREMATERRA – <i>Strumenti decisionali e Integrated Pest Management nelle filiere alimentari</i>	»	189
EMANUELE MAZZONI – <i>La resistenza ai biocidi negli insetti di interesse merceologico/urbano</i>	»	195
STEFANO BEDINI, PRISCILLA FARINA, BARBARA CONTI – <i>Bioattività degli oli essenziali: luci e ombre del loro utilizzo nella gestione degli insetti dannosi</i>	»	201
ORLANDO CAMPOLO, GIULIA GIUNTI, FRANCESCA LAUDANI, VINCENZO PALMERI – <i>Formulazioni a base di oli essenziali: proprietà chimico-fisiche e attività insetticida</i>	»	207
SARA SAVOLDELLI, LUCIANO SÜSS – <i>Impiego dei feromoni per la gestione degli infestanti nelle industrie alimentari</i>	»	213
GIACINTO SALVATORE GERMINARA, MARCO PISTILLO, ANTONIO DE CRISTOFARO, GIUSEPPE ROTUNDO – <i>Effetto del trattamento con polveri inerti sulle interazioni semiochimiche insetto - pianta ospite</i>	»	219
AGATINO RUSSO, POMPEO SUMA – <i>Il controllo biologico nelle industrie alimentari</i>	»	225
SAURO SIMONI, ENRICO DE LILLO – <i>Acari delle derrate: invasività e problematiche allergeniche e di controllo</i>	»	231

SEDUTA PUBBLICA, FIRENZE 15 NOVEMBRE 2019

Tavola Rotonda su:

NUOVE TECNOLOGIE PER LA DIFESA DELLE DERRATE ALIMENTARI

Coordinatori:

GIACINTO SALVATORE GERMINARA, *Accademico*

188 - Pagina bianca

STRUMENTI DECISIONALI E INTEGRATED PEST MANAGEMENT NELLE FILIERE ALIMENTARI

PASQUALE TREMATERRA^a

^a *Dipartimento Agricoltura, Ambiente e Alimenti – Università degli Studi del Molise, Via De Sanctis – 86100 Campobasso; e-mail: trema@unimol.it*

Lettura tenuta durante la Tavola Rotonda “Nuove tecnologie per la difesa delle derrate alimentari”. Seduta pubblica dell’Accademia - Firenze, 15 novembre 2019.

Decision support tools and Integrated Pest Management in food chains

Current practices that influence pest presence and development in food industry facilities have been identified in the stages of food plant construction, food ingredient reception and storage, processing or conditioning of finished food, and marketing. The preventive pest control measures in the food industry may be ineffective because of a non-observance of simple rules of good manufacturing practice, such as permanent control and monitoring of critical points or unsafe practices favourable to pest entry and infestation in food plants. The underutilization of methods for rapid assessment of pest presence and movement within food industry facilities, as well as the inability to rely on pest monitoring data for the economic damage threshold (EDT), are also underlined. Practical tools for processing data from pest monitoring systems should improve pest presence detection and alert. More realistic EDTs need to be proposed with direct links to decision-making support. More practical predictive models are also required for predicting the long-term efficacy and resilience of corrective control methods in food processing buildings, which should render the implementation of complex Integrated Pest Management programs easier.

KEY WORDS: Decision support tools, Integrated Pest Management, food chains.

PREMESSA

La difesa dalle infestazioni nell’industria alimentare è in continua e rapida evoluzione (TREMATERRA e FLUERAT-LESSARD, 2015). In tale ambito sempre più frequentemente viene richiesto di ottemperare, oltre che alle normative Comunitarie e nazionali, anche a standard internazionali, in particolare codificati da British Retail Consortium (BRC Food) e International Food Standard (IFS Food), per la certificazione di qualità nella filiera di fornitura di prodotti alla grande distribuzione organizzata. L’obiettivo comune è di rispondere al progetto quadro indicato dalla Global Food Safety Initiative (GFSI) (TREMATERRA, 2013).

Verso la fine del 2015 un gruppo internazionale di esperti ha pubblicato un saggio di rassegna riferito a otto principi dell’Unione Europea in merito all’Integrated Pest Management (IPM). Il documento offre a ricercatori, consulenti e produttori un approccio per applicare tali requisiti legali in modo intelligente, così da promuovere l’innovazione locale e al tempo stesso ridurre la dipendenza dai pesticidi e i rischi ad essi associati (BARZMAN *et al.*, 2015). Il processo proposto necessita studio, adattamento e modifica di molte pratiche cominciando dalla gestione agricola; inoltre, richiede particolare attenzione su aspetti non tecnici come l’ambiente sociale in cui gli agricoltori operano, l’apprendimento

collettivo e la propensione per i piccoli passi anziché per i cambiamenti drastici (TREMATERRA, 2016).

Di recente anche l’industria alimentare ha iniziato a prendere le distanze dalle fumigazioni strutturali e dalle applicazioni di pesticidi chimici a scadenze pre-stabilite (lotta a calendario), per avvicinarsi all’Integrated Pest Management. Il cambiamento ha avuto impulso oltre che dalla messa a bando del Bromuro di metile (cfr. protocollo di Montreal, 1987), anche dalla domanda da parte dei consumatori di un minore uso di sostanze chimiche di sintesi, dallo sviluppo di tecnologie di “interventi di precisione” e dalle Direttive Europee in merito alla presenza degli animali infestanti.

Tali tendenze, in parte antagoniste (minore affidamento sui pesticidi e un loro ridotto uso da una parte, richiesta di prodotti alimentari sicuri dall’altra) mettono in luce una delle sfide più importanti che le filiere dell’industria alimentare dovranno affrontare nel futuro.

L’INTEGRATED PEST MANAGEMENT NELLE FILIERE DELL’INDUSTRIA ALIMENTARE

Le aziende alimentari sono in genere strutture complesse di grandi dimensioni, con molti punti vulnerabili alle infestazioni da parte soprattutto di artropodi e roditori, e di altri ospiti indesiderati. Tali aziende sono diverse tra loro per funzione, materie prime ospitate,

prodotti generati, tipo di struttura, apparecchiature, posizione geografica, ambiente circostante, e per altri fattori ancora. Il che rende molto difficile formulare generalizzazioni sulla corretta gestione degli animali infestanti.

Infatti, la situazione degli infestanti deve essere precisata in funzione di un luogo specifico e un programma di IPM deve essere definito su misura per ogni località, ma in modo sufficientemente flessibile da potersi adattare a condizioni mutevoli. Anche se l'IPM fa parte di un prerequisito per un impianto di produzione alimentare, in molti casi può essere ulteriormente implementato con maggior efficacia.

Una componente importante nella difesa dalle infestazioni è certamente il monitoraggio. Mediante il monitoraggio e gli strumenti di supporto alle decisioni come le soglie di danno, i modelli previsionali e i sistemi esperti per stabilire il momento migliore in cui sopprimere le popolazioni di parassiti, si possono evitare perdite economiche e spese non necessarie per la gestione complessiva degli animali infestanti (insetti, acari, roditori, uccelli, etc.).

L'individuazione precoce di una infestazione è una componente essenziale nei programmi di gestione degli infestanti. In generale, un monitoraggio efficace richiede una combinazione di strategie di cattura, ma poiché le singole trappole sono solo sorgenti puntuali di informazione, esiste sempre più un grande interesse per metodi alternativi che prevedono l'estensione di una infestazione in un impianto complesso. Al riguardo si possono usare simulazioni con modelli elaborabili al computer, per confrontare l'efficacia di metodi diversi di gestione degli infestanti, presi singolarmente o in combinazione tra di loro. Tali modelli si utilizzano anche per valutare l'efficacia di opzioni implementative differenti e per ottimizzare la loro distribuzione temporale nello spazio.

Una realizzazione completa dell'approccio IPM richiede un impegno maggiore rispetto ad altri tipi di programmi di lotta agli infestanti ma, una volta messo in opera, può essere utilizzato per prendere decisioni più affidabili e di maggiore durata nella protezione della filiera coinvolta. Purtroppo, molti dati preliminari di riferimento che si trovano nella letteratura tecnica e scientifica sono stati ottenuti in condizioni di laboratorio, perciò le informazioni sulla loro attendibilità e integrazione in situazioni pratiche-operative sono piuttosto limitate e vanno, di volta in volta, accertate e verificate.

Al riguardo, un responsabile, o operatore, di Pest Management deve conoscere, tra l'altro: la struttura e i processi in atto nell'impianto di produzione alimentare in cui si trova a lavorare; la tassonomia, il comportamento, l'ecologia e la biologia delle specie infestanti; l'uso efficace degli strumenti di monitoraggio e di gestione delle infestazioni.

L'ecologia degli animali che attaccano le derrate conservate e i prodotti alimentari finiti e, di conseguenza, il programma di difesa necessario, sono probabilmente specifici per singola filiera, per ciascuna posizione nel sistema di mercato e per ogni volta in cui gli ospiti indesiderati devono essere gestiti. In tale ottica i programmi di Integrated Pest Management a livello territoriale possono risultare importanti per ridurre il numero complessivo degli infestanti ubiquitari e in ultima analisi per limitare i costi della loro gestione.

Inoltre, l'implementazione, necessaria, di un programma di Pest Management richiede un buon livello di collaborazione e fiducia fra quanti lavorano nel controllo qualità dell'industria alimentare e quanti operano nell'azienda che fornisce i servizi di Pest Control.

PECULIARITÀ E DIFFICOLTÀ NELL'APPLICAZIONE DELL'INTEGRATED PEST MANAGEMENT IN AMBITO ALIMENTARE

Molte attività e strumenti decisionali, compresi in un programma di Integrated Pest Management, sono noti e disponibili all'uso, ma talvolta sono limitate le conoscenze su come realizzarne l'integrazione nell'ambito di una gestione complessiva. La loro corretta adozione, infatti, è spesso ostacolata da una mancata o scarsa conoscenza delle popolazioni infestanti presenti negli ambienti, le quali risultano spazialmente e temporalmente complesse, in cui i prodotti alimentari vengono elaborati e conservati; oltre che dalle limitate informazioni circa la loro efficacia in situazioni pratiche e su come selezionare e combinare nel modo migliore i metodi e gli strumenti di gestione.

Infatti, non sono note e stabilite le soglie di trattamento e i livelli di danno economico tollerabili per le diverse situazioni reali, ed è difficile applicare standard e criteri di "rifiuto". Nella pratica operativa, molti impianti fanno ancora affidamento su applicazioni calendarizzate di pesticidi e non hanno una buona comprensione delle basi dell'IPM. Nel complesso, questo atteggiamento sta cambiando, ma per i motivi riportati il Pest Management degli animali infestanti che danneggiano i prodotti immagazzinati e gli alimenti finiti presenta alcune caratteristiche peculiari, rispetto a quanto si verifica nelle fasi di coltivazione e di pre-raccolta in campo aperto.

La combinazione tra fluttuazioni frequenti e imprevedibili delle popolazioni infestanti (dovuta alla rapida circolazione e sostituzione dei prodotti delle materie prime o alla natura temporanea dei sistemi di immagazzinamento e di trasformazione) e la relazione non coerente fra i dati ricavati dagli strumenti di monitoraggio e la reale densità degli infestanti, sono i motivi principali per cui gli approcci IPM



Fig. 1 – Sacco PICS; dispenser feromonico per confusione sessuale e per auto-confusione sessuale di lepidotteri; trappole elettroniche per il monitoraggio di lepidotteri e di coleotteri; attrezzatura per il controllo di gas tossico a rilascio controllato; esempio di mappe di distribuzione spazio temporale di insetti in una riseria.

Tabella 1 - Individuazione dei punti critici (CCP) di entrata degli infestanti nelle strutture dell'industria alimentare.

Azioni per la gestione dei rischi	Strumento innovativo	Principale vantaggio	Principale vincolo
Individuazione dei punti critici (CCP) attraverso i quali gli infestanti possono penetrare nella struttura	Interpretazione dei dati di una rete di trappole distribuite con sistema di posizionamento GPS	Individuazione accurata del nucleo (hot spot) dell'infestazione	Codice a barre e posizionamento GPS di ogni trappola
	Localizzazione dei punti di infestazione mediante mappe di distribuzione spazio-temporale	Localizzazione accurata delle merci infestate	Elaborazione settimanale dei dati

Tabella 2 - Misure di esclusione degli infestanti e prevenzione dei rischi.

Azioni per la gestione dei rischi	Strumento innovativo	Principale vantaggio	Principale vincolo
Misure di risanamento, in particolare nei punti di entrata degli infestanti, ispezione e sorveglianza dei CCP identificati. Regolazione delle condizioni fisiche	Adozione di basse temperature e controllo dell'umidità nelle aree di lavoro, quando sulla catena sono presenti alimenti a libero accesso	Il trattamento correttivo non è necessario	Aria condizionata in tutti i locali della struttura
	Materiali e strutture degli imballaggi resistenti agli insetti, per i prodotti alimentari in commercio	Protezione dagli infestanti nei canali di marketing	Saggi biologici per verificare le proprietà di resistenza degli imballaggi all'attacco da insetti

Tabella 3 – Monitoraggio permanente e prevenzione dei rischi.

Azioni per la gestione dei rischi	Strumento innovativo	Principale vantaggio	Principale vincolo
Individuazione dei punti di infestazione all'interno delle strutture, nelle apparecchiature e nei macchinari per la lavorazione	Strategie potenziate nell'uso dei feromoni per cattura massiva e lure-and-kill	Mezzi di controllo efficaci soprattutto per gli insetti volanti	Mezzi di sorveglianza efficaci solo per gli insetti volanti
	Permeazione delle strutture con feromone per la confusione sessuale oppure applicazione dell'auto-confusione	Efficace contro gli insetti volanti	Riduzione lenta della popolazione di insetti infestanti, attività piuttosto costosa
	Uso di dispositivi elettronici capaci di rilevare livelli molto bassi di infestanti nei prodotti sfusi	Rilevazione precoce, soprattutto per gli infestanti dei cereali	Utile solo per il rilievo di insetti in prodotti sfusi
	Previsione delle variazioni della presenza dei parassiti nel tempo mediante modelli predittivi	Calcolo del tempo di conservazione, prima del raggiungimento delle soglie di danno	Raccolta giornaliera dei dati di temperatura e umidità per il funzionamento del modello

Tabella 4 – Applicazione delle misure di gestione dell'infestazione quando sono state raggiunte le soglie di danno.

Azioni per la gestione dei rischi	Strumento innovativo	Principale vantaggio	Principale vincolo
Selezione di soluzioni non chimiche incentivando l'uso del controllo biologico	Uso di trappole a feromone per l'auto-inoculo di un pesticida microbico	Dispositivo auto-funzionante	Costoso e lento in azione
	Miglioramento dell'efficacia dei pesticidi registrati, in combinazione con prodotti minerali o bio-razionali	Minor rischio di presenza di residui chimici negli alimenti	Azione preventiva, ridotto effetto curativo
	Sostituzione dei trattamenti spaziali chimici con agenti di bio-controllo e bio-pesticidi	Controllo mirato di alcuni infestanti rispetto ai pesticidi di sintesi	Difficoltà di registrazione per l'impiego negli impianti di trasformazione alimentare
	Uso dei trattamenti fisici in alternativa alla fumigazione (microonde, congelamento temporaneo, atmosfera controllata o modificata)	Processo di disinfestazione senza resistenza né effetto residuo	Competitivo solo per prodotti di alto valore (ad es. spezie, frutta secca e piante medicinali)
	Nuovi fumiganti per la disinfestazione dell'intera struttura (SO ₂ F ₂ , ioduro di metile, etil formiato ...)	Disinfestazione completa di erbe, spezie o depositi alimentari in un'unica fumigazione	E' richiesta una tenuta stagna minima degli edifici; riluttanza dei manager
	Uso di pesticidi naturali di origine microbica o fungina, estratti vegetali o oli essenziali	Breve periodo di persistenza (attività e odori) per gli oli essenziali più volatili	Difficoltà di registrazione
	Nuova formulazione o rilascio controllato di gas fosfina mediante apparecchiature automatiche	Implementazione e controllo più pratici delle dosi fumiganti	I manager sono riluttanti e usano gas tossici ad alta concentrazione
	Sostituzione della fumigazione degli impianti di trasformazione alimentare mediante disinfestazione termica	Disinfestazione completa con una sola applicazione	Arresto dell'attività lavorativa per tre o più giorni

vengono implementati raramente e con difficoltà nei sistemi delle filiere alimentari.

Si aggiunge che sussistono anche gravi carenze e molte lacune nelle conoscenze derivanti direttamente dalla ricerca scientifica, che rallentano o ostacolano l'accettazione e la realizzazione dei programmi IPM nell'industria. Le carenze riguardano soprattutto lo sviluppo di programmi di campionamento e le soglie di intervento più raffinati. In proposito, esiste una

forte perplessità nel convertire le ricerche sull'IPM in strumenti "amici di supporto alle decisioni", se non sono stati prima sviluppati e convalidati in situazioni di pratica operativa.

Per quanto riguarda la stessa industria alimentare, spesso vi è riluttanza o mancanza di interesse per un abbandono dei trattamenti a calendario, realizzati con pesticidi, a favore di un approccio più integrato; questo comportamento, in gran parte, è dovuto al

timore, talvolta giustificabile, di compiere errori nel controllo degli infestanti, in un settore con una soglia di tolleranza estremamente bassa, spesso prossima o uguale a zero!!!

Ad esempio, la natura artificiale delle strutture e degli ambienti delle filiere alimentari, e la necessaria bassa tolleranza per la presenza di animali ospiti indesiderati, in molte situazioni, fanno sì che l'IPM si basi meno sul favorire una regolazione delle popolazioni infestanti – utilizzando i loro nemici naturali nella lotta biologica – e ponga maggiormente l'attenzione e l'accento sulle possibili modifiche ambientali da apportare per render meno favorevole l'insediamento e la permanenza degli infestanti (TREMATERRA e FLEURAT-LESSARD, 2015).

L'adozione e l'integrazione di due o più strumenti differenti di gestione, e una selezione accurata di approcci diversi, con una loro attenta distribuzione nel tempo e nello spazio, insieme ad una migliore consapevolezza del comportamento e dell'ecologia degli infestanti, può avere come risultato una maggiore e duratura efficacia. Ad esempio, il calore combinato con polvere di diatomee riduce la temperatura necessaria per eliminare gli artropodi che infestano i prodotti immagazzinati. Come pure, le temperature elevate che si raggiungono durante un trattamento termico non hanno effetto negativo sui biocidi di contatto quali le polveri bagnabili a base di idroprene e ciflutrin, e forse hanno un impatto positivo circa la tossicità del primo.

In tal senso, sono state esplorate tecniche di auto-inoculazione mediante esche alimentari e feromoni, che attirano gli insetti in modo che questi raccolgano il patogeno e lo disseminino nell'ambiente.

Nel controllo degli scarafaggi che infestano i macchinari e gli ambienti sono state ottenute interazioni sinergiche combinando *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* con polveri inerti. L'efficacia delle diatomee e dello spinosad nei cereali è stata dimostrata da vari autori.

I feromoni sessuali, per *Ephestia cautella*, *E. kuehniella*, *Plodia interpunctella*, *Lasioderma serricornis*, *Trogoderma granarium* e *T. variabile*, e i feromoni di aggregazione, per *Tribolium castaneum* e *T. confusum*,

possono essere combinati con oli naturali attrattivi incrementando e ampliando la loro attività.

Nel futuro le ricerche dovranno ottimizzare e sviluppare altri composti semiochimici che siano di ausilio nel monitoraggio e nel controllo di alcuni infestanti e forniscano nuovi strumenti di lotta. Sotto questo profilo, future combinazioni di repellenti e attrattivi, per la protezione delle derrate e degli alimenti, potranno essere usate anche in tattiche push-pull.

Recentemente, TREMATERRA *et al.* (2017) hanno documentato, con risultati positivi, l'azione combinata della confusione sessuale e l'attività parassitoide di *Habrobracon hebetor* nel controllo, rispettivamente, di adulti e larve di *P. interpunctella* in una fabbrica di cioccolato.

Nel complesso, tuttavia, nell'adozione dell'IPM è utile rimarcare che un'importante operazione preliminare ad ogni forma di intervento di gestione delle infestazioni è l'analisi accurata degli edifici nelle parti esterne e interne, delle strutture, dei macchinari e dei processi produttivi che caratterizzano l'azienda alimentare in cui ci si trova ad operare.

BIBLIOGRAFIA

- BARZMANN M., BARBERI P., BIRCH A.N.E., BOONEKAMP P., DACHBRODT-SAAYDEH S., GRAF B., HOMMEL B., JENSEN J.E., KISS J., KUDSK P., LAMICHHANNE J.R., MESSÉAN A., MOONEN A.C., RATNADASS A., RICCI P., SARAH J.L., SATTIN M., 2015 – *Eight principles of integrated pest management*. - *Agronomy for Sustainable Development*, 35 (4): 1199-1215.
- TREMATERRA P., 2013 - *Aspects related to decision support tools and Integrated Pest Management in food chains*. - *Food Control*, 34: 733-742.
- TREMATERRA P., 2016 - *Remarks on Integrated Pest management in Food Chain*. - *Entomol. Ornitol. Herpetol.*, 5 (2): 1-2.
- TREMATERRA P., FLEURAT-LESSARD F., 2015 - *Food industry practices affecting pest management*. - *Stewart Postharvest Review*, 12: 1-7.
- TREMATERRA P., OLIVIERO A., SAVOLDELLI S., SCHÖLLER M., 2017 - *Controlling infestation of a chocolate factory by *Plodia interpunctella* by combining mating disruption and the parasitoid *Habrobracon hebetor**. - *Insect Science*, 24 (3): 503-510.

194 - Pagina bianca

LA RESISTENZA AI BIOCIDI NEGLI INSETTI DI INTERESSE MERCEOLOGICO/URBANO

EMANUELE MAZZONI^a

^a Dipartimento di Scienze delle Produzioni Vegetali Sostenibili (DI.PRO.VE.S.) - Facoltà di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali - via Emilia parmense 84, 29122 Piacenza; e-mail: emanuele.mazzoni@unicatt.it
Lettura tenuta durante la Tavola Rotonda “Nuove tecnologie per la difesa delle derrate alimentari”. Seduta pubblica dell’Accademia - Firenze, 15 novembre 2019.

Insecticide resistance in urban and stored product pests

A general overview of insecticide resistance mechanisms in stored product and urban pests is given. The most important cases of metabolic and target site resistance are discussed and recent discoveries about the resistance mechanisms to phosphine in Coleoptera are presented.

KEY WORDS: insecticide resistance, resistance mechanisms, phosphine, pyrethroids.

INTRODUZIONE

La selezione e l’affermarsi di popolazioni di artropodi resistenti ai prodotti utilizzati per limitarne la crescita e la dannosità è un problema che vede una continua crescita della sua importanza. Dalla prima segnalazione “ufficiale” ormai più di un secolo fa (MELANDER, 1914), e il verificarsi di casi relativamente sporadici fino agli anni ’40 del secolo scorso si è poi assistito, in concomitanza con l’introduzione dei principi attivi di sintesi, in particolare cloroderivati organici ed esteri fosforici, ad una crescita molto significativa dei casi di resistenza agli insetticidi (SPARKS e NAUEN, 2015). Se i primi casi erano relativi in modo particolare ad insetti di interesse medico veterinario, successivamente si sono registrati importanti e progressivi incrementi nel numero di casi specie di interesse agrario (FORGASH, 1984). Lo studio dei fenomeni di resistenza in molte specie di artropodi è in genere passato da osservazioni di campo a indagini tossicologiche di laboratorio, allo studio e caratterizzazione dei meccanismi di resistenza attraverso tecniche via via più sofisticate, allo scopo di sviluppare strategie efficaci per prevenirne o ritardarne lo sviluppo della resistenza e, nel caso in cui questi fenomeni si manifestano, anche porre in atto sistemi efficaci di contrasto (DEVONSHIRE, 1989; BASS *et al.*, 2014; PANINI *et al.*, 2015; COLLINS e SCHLIPALIUS, 2018).

Secondo PARKING (1965), tra gli insetti delle derrate il problema della resistenza sarebbe stato meno grave rispetto alle specie di interesse medico-veterinario. A questo avrebbero contribuito il numero di generazioni

relativamente ridotto, le metodologie adottate per applicare gli insetticidi residuali, la percentuale limitata di derrate e di insetti trattati ed anche i continui movimenti delle derrate. Tutto ciò significava una ridotta pressione di selezione e inoltre garantiva, seppure in modo non esattamente quantificabile, un certo ricambio e re-immigrazione continua di esemplari “sensibili” che contribuivano a “diluire” gli eventuali fenomeni di resistenza. Infine prodotti come il bromuro di metile garantivano una efficacia del 100%. Nonostante queste considerazioni già allora venivano segnalati vari casi di resistenza in specie di significativo interesse nei confronti delle piretrine, del malathion e di altri principi attivi di uso corrente (PARKING, 1965). La mancanza di popolazioni di riferimento di cui siano noti i livelli di sensibilità di base e la standardizzazione dei metodi di biosaggio per stimare le relazioni “dose-mortalità” era e rimane ancora oggi uno dei principali limiti per la corretta valutazione dei risultati di molte indagini.

Da questa prima review le conoscenze si sono ampliate e purtroppo il numero di casi di effettiva e consistente mancanza di efficacia degli insetticidi è cresciuta a conferma che le specie di Artropodi infestanti le derrate o gli ambienti della loro lavorazione, principalmente insetti, non sfuggono a queste problematiche anche se, le specie di insetti strettamente legati alle derrate non figurano tra le specie per le quali è riportato il maggior numero di casi ufficialmente segnalati di resistenza (WHALON *et al.*, 2008; SPARKS e NAUEN, 2015).

I MECCANISMI DI RESISTENZA

Ad oggi molti dei meccanismi di resistenza che si sono selezionati in queste specie sono gli stessi che sono noti per specie di interesse agricolo o medico-veterinario (BOYIER *et al.*, 2012).

I principali e più noti i meccanismi di resistenza riguardano vari livelli dell'interazione tra il principio attivo ed il suo bersaglio. Troviamo quindi anche tra gli insetti delle derrate resistenze di tipo comportamentale, metabolico e causate dall'insensibilità del sito bersaglio (BOYIER *et al.*, 2012).

RESISTENZA COMPORTAMENTALE

La resistenza comportamentale è stata più volte ipotizzata anche se le conferme sperimentali ottenute con studi specifici non sono particolarmente numerose probabilmente legate a risultati non particolarmente promettenti (BOYIER *et al.*, 2012). La resistenza comportamentale deriverebbe da cambiamenti nelle abitudini della specie interessata che spingono ad evitare le aree trattate o a cessare l'alimentazione sui substrati contaminati (GATTON *et al.*, 2013). Le popolazioni che manifestano queste forme di resistenza spesso sono in grado di identificare l'insetticida a concentrazioni inferiori rispetto alle popolazioni normali (SPARKS *et al.*, 1989; YU, 2008). In *Tribolium castaneum* (Coleptera, Tenebrionidae) sono stati identificate popolazioni che grazie a forme di resistenza comportamentale sono in grado di sopravvivere a trattamenti con farine di diatomee (RIGAUX *et al.*, 2001).

RESISTENZA METABOLICA

La resistenza metabolica è una forma di difesa molto comune tra gli insetti ed è basata sull'azione di sistemi enzimatici che agiscono sequestrando e/o detossificando le molecole del principio attivo prima che queste possano giungere al loro sito bersaglio (PANINI *et al.*, 2016). In molte specie di insetti, in particolare quelle più generaliste, gli enzimi coinvolti nella resistenza metabolica sono quelli che si sono sviluppati ed evoluti per proteggere i fitofagi dalle tossine delle piante (alcaloidi, terpeni, fenoli, ecc) in modo di consentire loro di superare le difese delle piante di cui si nutrivano (GATEHOUSE, 2002; WAR *et al.*, 2012; HEIDEL-FISCHER e VOGEL, 2015; RANE *et al.*, 2016; DERMAUW *et al.*, 2018). Le indicazioni preliminari della presenza di questi meccanismi di resistenza sono stati spesso ottenute abbinando all'insetticida, nei biosaggi, molecole ad effetto sinergizzante quali il piperonil butossido in grado di inibire l'azione di alcuni di questi sistemi enzimatici.

Questi enzimi sono in grado di effettuare una detos-

sificazione del composto tossico ma anche di trasformarli in forme più facilmente eliminabili grazie a forme mutate con maggior attività catalitica o a fenomeni di amplificazione genica o a incrementi di trascrizione (PANINI *et al.*, 2016).

Normalmente le grandi famiglie multigeniche delle esterasi, delle ossidasi e delle glutathione S-transferasi sono coinvolte nelle forme di resistenza metabolica. Negli insetti di interesse merceologico / urbano il coinvolgimento delle esterasi è stato individuato in varie specie tra cui anche popolazioni di *Blattella germanica* (Dictyoptera, Blattellidae) resistenti ai piretroidi anche se è possibile che altri meccanismi possano essere coinvolti in condizioni o specie differenti (HEMINGWAY *et al.*, 1993; VALLES *et al.*, 1999; LEE *et al.*, 2000; ALI e TURNER, 2001; ZHU *et al.*, 2016). Il coinvolgimento delle esterasi è stato ipotizzato anche come meccanismo di resistenza nei confronti degli esteri fosforici ad esempio in *T. confusum* (WOOL e FRONT, 2003; RIAZ *et al.*, 2018).

Anche molte monossigenasi P450 dipendenti risultano coinvolte in vari casi di resistenza in molte specie di insetti (BOYIER *et al.*, 2012; NAQQASH *et al.*, 2016; ZHU *et al.*, 2016). È comunque molto probabile che in molti casi ci si trovi di fronte a forme di resistenza multipla e/o moltiplicata (KARAAGAC e KONUS, 2015; KARAAGAC e KONUS, 2016).

RESISTENZE PER INSENSIBILITÀ DEL SITO BERSAGLIO

Le modificazioni del sito bersaglio di un insetticida possono conferire livelli molto elevati di resistenza, spesso di almeno un ordine di grandezza più gradi di quelli ottenibili con meccanismi metabolici di resistenza. Questi meccanismi di resistenza sono inoltre molto più specifici nei confronti di singole classi di principi attivi caratterizzate da un determinato meccanismo d'azione (SPARKS e NAUEN, 2015).

Anche tra gli insetti di interesse merceologico/urbano non mancano casi di resistenza riconducibili a modifiche del sito bersaglio degli insetticidi utilizzati (BOYIER *et al.*, 2012; MAZZONI *et al.*, 2015; ZHU *et al.*, 2016). Considerando la notevole importanza che i piretroidi hanno nelle strategie di lotta contro gli insetti dannosi in ambito merceologico ed urbano, le mutazioni nella sequenza del gene codificante il loro bersaglio, il canale del sodio, sono particolarmente preoccupanti (FIELD *et al.*, 2017). L'elenco delle possibili mutazioni nella sequenza del gene codificante il canale sodio è in generale piuttosto lunga (DONG *et al.*, 2014). In moltissime specie di insetti due mutazioni sono ampiamente condivise: L1014F, comunemente indicata come *kdr*, e M918T, indicata come *super-kdr*. Tuttavia sono state trovate varie altre mutazioni il cui effetto biologico è spesso in parte ancora da definire (RINKEVICH

et al., 2013; DONG *et al.*, 2014). Le mutazioni riscontrate nei principali insetti di interesse sono riportate nella tabella seguente (Tab. 1). In *M. domestica* è tuttavia noto un effetto crescente delle varie mutazioni per cui è stato riscontrato che i livelli di resistenza conferito dalla mutazione L1014H (o *kdr-his*) sono relativamente bassi mentre i fattori di resistenza crescono normalmente passando alla mutazione L1014F (*kdr*) a L1014F + M918T (*super-kdr*) anche se per alcuni principi attivi questo non si verifica (SUN *et al.*, 2016; SCOTT, 2019).

dehydrogenase” (DLD) (SCHLIPALIUS *et al.*, 2012) e il locus *rph1* a una “cytochrome b5 fatty acid desaturase” (Cyt-b5-r) (JAGADEESAN *et al.*, 2013; SCHLIPALIUS *et al.*, 2018).

Il modello proposto da SCHLIPALIUS e colleghi (2018) per spiegare i livelli di resistenza osservati deriva dal meccanismo d’azione della fosfina e l’effetto sinergico causato dalle mutazioni nei due loci deriverebbe da due distinte reazioni in cui è coinvolta la fosfina stessa. In popolazioni sensibili la fosfina induce la formazione

Tab. 1 – Mutazioni nella sequenza del canale del sodio riscontrate in alcune specie di interesse mereologico / urbano.

Specie	Mutazione	Riferimento
<i>Blattella germanica</i>	L1014F	MIYAZAKI <i>et al.</i> , 1996
	F1020S	PRIDGEON <i>et al.</i> , 2002
	D59G+E435K+C785R+L1014F+P1999L	LIU <i>et al.</i> , 2000
<i>Musca domestica</i>	L1014H	LIU and PRIDGEON, 2002
	L1014F	WILLIAMSON <i>et al.</i> , 1996
	L1014F+M918T	WILLIAMSON <i>et al.</i> , 1996
	L1014F+M918T+D600N	SUN <i>et al.</i> , 2017
	L1014F+T929I	SUN <i>et al.</i> , 2017
<i>Sitophilus zeamais</i>	T929I	ARAÚJO <i>et al.</i> , 2011

RESISTENZA ALLA FOSFINA

Con la messa al bando del bromuro di metile, la fosfina (fosfuro di idrogeno, PH₃) è rimasta una delle poche alternative per le fumigazioni delle derrate. Secondo MANOJ e colleghi (2020) la fosfina presenta una serie di vantaggi rispetto agli altri prodotti fumiganti oggi presenti sul mercato: bassi costi di utilizzo, formulazioni commerciali facilmente gestibili e che garantiscono rapidità e sicurezza di applicazione e soprattutto la mancanza di residui nelle derrate trattate.

Queste caratteristiche hanno reso la fosfina un prodotto chiave per la difesa contro gli infestanti delle derrate. Tuttavia il suo largo utilizzo ha selezionato nel tempo svariate popolazioni di differenti specie di insetti (soprattutto Coleotteri ma anche uno Psocottero) con livelli significativi di resistenza e talvolta con ampie distribuzioni internazionali (MANOJ *et al.*, 2020).

Studi genetici hanno evidenziato che la resistenza alla fosfina è legata a 2 loci indicati rispettivamente come *rph1* e *rph2*. I due loci sono recessivi ma agiscono in sinergia. Infatti in condizioni di omozigosi il livello di resistenza che ciascun locus fornisce quando è isolato dall’altro, non è particolarmente elevato. Il fattore di resistenza prodotto da *rph1*, alla LD_{99,9}, è circa 50 mentre il fattore di resistenza prodotto da *rph2* è circa 12. Tuttavia la combinazione *rph1+rph2* porta il fattore di resistenza a circa 250 (SCHLIPALIUS *et al.*, 2002). Ulteriori studi hanno consentito di abbinare il locus *rph2* all’enzima “dihydrolipoamide

di radicali e perossidi e quindi porta a perossidazione dei lipidi: gli acidi grassi poli-insaturi a lunga catena sono facilmente aggrediti con formazione di prodotti tossici come il 4-hydroxynonenale (4-HNE) che inibisce vari sistemi tra cui il complesso IV e la stessa DLD. La DLD inibita produce ulteriori «specie reattive dell’ossigeno» (ROS) e incrementa la perossidazione. Infine la citocromo b5 desaturasi (Cyt-b5-r) incrementa la quantità di acidi grassi poli-insaturi che vengono trasformati aumentando l’effetto tossico.

Le mutazioni riscontrate nella DLD delle specie resistenti riducono la produzione di ROS mentre quelle della citocromo b5 desaturasi riducono il contenuto di acidi grassi polinsaturi nelle membrane cellulari spezzando quindi l’effetto sinergico della tossicità della fosfina.

CONCLUSIONI

La quasi totalità degli studi sulla presenza, diffusione e meccanismi di resistenza non sono stati condotti in Europa. In Italia risultano alcune indagini basate su biosaggi su popolazioni di *Tribolium* spp. (ROFRANO *et al.*, 2009; ROSSI *et al.*, 2010). Tali mancanze conoscitive rendono impossibile effettuare una valutazione della situazione e di conseguenza una corretta implementazione di programmi di Integrated Pest Management e di strategie di lotta efficaci anche nel mitigare e/o ritardare la diffusione di ceppi resistenti.

BIBLIOGRAFIA

- ALI N., TURNER B., 2001 - *Allozyme polymorphism and variability in permethrin tolerance in British populations of the parthenogenetic stored product pest Liposcelis bostrychophila (Liposcelididae, Psocoptera)*. - J. Stored Prod. Res., 37: 111-125.
- ARAUJO R.A., WILLIAMSON M.S., BASS C., FIELD L.M., DUCE I.R., 2011 - *Pyrethroid resistance in Sitophilus zeamais is associated with a mutation (T929I) in the voltage-gated sodium channel*. - Insect Mol. Biol., 20: 437-445.
- BASS C., PUINEAN M., ZIMMER T.C., DENHOLM I., FIELD L.M., FOSTER S.P., GUTBROD O., NAUEN R., SLATER R., WILLIAMSON M.S., 2014 - *The evolution of insecticide resistance in the peach potato aphid, Myzus persicae*. - Insect Biochem. Mol. Biol., 51: 41-51.
- BOYER S., ZHANG H., LEMPÉRIÈRE G., 2012 - *A review of control methods and resistance mechanisms in stored-product insects*. - Bull. Ent. Res., 102: 213-229.
- COLLINS P.J., SCHLIPALIUS D.I., 2018 - *Insecticide Resistance*. In: Recent Advances in Stored Product Protection, Athanassiou C.G., Arthur F. H. (eds.), Springer-Verlag GmbH, Berlin, D, pp. 169-182.
- DERMAUW W., PYM A., BASS C., VAN LEEUWEN T., FEYEREISEN R., 2018 - *Does host plant adaptation lead to pesticide resistance in generalist herbivores?* - Current Opinion in Insect Science, 26: 25-33.
- DEVONSHIRE A., 1989 - *Insecticide resistance in Myzus persicae: From Field to Gene and Back Again*. - Pestic. Sci., 26: 375-382.
- DONG K., DU Y., RINKEVICH F., NOMURA Y., XU P., WANG L., SILVER K., ZHOROV B. S., 2014 - *Molecular biology of insect sodium channels and pyrethroid resistance*. - Insect Biochemistry and Molecular Biology, 50: 1-17.
- FIELD L.M., EMYR DAVIES T.G., O'REILLY A.O., WILLIAMSON M.S., WALLACE B.A., 2017 - *Voltage-gated sodium channels as targets for pyrethroid insecticides*. - Eur. Biophys. J., 46: 675-679.
- FORGASH A.J., 1984 - *History, evolution and consequences of insecticide resistance*. - Pest Biochem. Physiol., 22: 178-186.
- GATEHOUSE J.A., 2002 - *Plant resistance towards insect herbivores: a dynamic interaction*. - New Phytol., 156: 145-169.
- GATTON M.L., CHITNIS N., CHURCHER T., DONNELLY M.J., GHANI A.C., GODFRAY H.C., GOULD F., HASTINGS I., MARSHALL J., RANSON H., ROWLAND M., SHAMAN J., LINDSAY S.W., 2013 - *The importance of mosquito behavioural adaptations to malaria control in Africa*. - Evolution, 67: 1218-1230.
- HEIDEL-FISCHER H.M., VOGEL H., 2015 - *Molecular mechanisms of insect adaptation to plant secondary compounds*. - Curr. Opin. Ins. Sci., 8: 8-14.
- HEMINGWAY J., DUNBAR S.J., MONRO A.G., SMALL G.J., 1993 - *Pyrethroid resistance in German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae): resistance levels and underlying mechanisms*. - J. Econ. Entomol., 86: 1631-1638.
- JAGADEESAN R., FOTHERINGHAM A., EBERT P.R., SCHLIPALIUS D.I., 2013 - *Rapid genome wide mapping of phosphine resistance loci by a simple regional averaging analysis in the red flour beetle, Tribolium castaneum*. - BMC Genom., 14: 650-662.
- KARAAGAC S.U., KONUS M., 2015 - *Determination of organophosphate resistance status and mechanism in Sitophilus zeamais Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) from Turkey*. - Turkish Journal of Biochemistry, 40: 417-422.
- KARAAGAC S.U., KONUS M., 2016 - *Determination of possible detoxification mechanisms of insecticide resistance in Tribolium castaneum (Herbst) populations from Turkey*. - Fresenius Environmental Bulletin, 25: 3768-3774.
- LEE C.Y., HEMINGWAY J., YAP H.H., CHONG N.L., 2000 - *Biochemical characterization of insecticide resistance in the German cockroach, Blattella germanica, from Malaysia*. - Medical and Veterinary Entomology, 14: 11-18.
- LIU N., PRIDGEON J.W., 2002 - *Metabolic detoxication and the kdr mutation in pyrethroid resistant house flies, Musca domestica (L.)*. - Pestic. Biochem. Physiol., 73: 157-163.
- LIU Z., VALLES S.M., DONG K., 2000 - *Novel point mutations in the German cockroach para sodium channel gene are associated with knockdown resistance (kdr) to pyrethroid insecticides*. - Insect Biochem. Mol. Biol., 30: 991-997.
- MANOJ K. NAYAK M.K., DAGLISH G.J., PHILLIPS T.V., EBERT P.R., 2020 - *Resistance to the fumigant phosphine and its management in insect pests of stored products: a global perspective*. - Ann. Rev. Entomol., 65: 333-350.
- MAZZONI E., CHIESA O., PUGGIONI V., PANINI M., MANICARDI G.C., BIZZARO D., 2015 - *Presence of kdr and s-kdr resistance in Musca domestica populations collected in Piacenza province (Northern Italy)*. - Bulletin of Insectology, 68: 65-72.
- MELANDER A.L., 1914 - *Can insects become resistant to sprays?* - J. Econ. Entomol., 7: 167-173.
- MIYAZAKI M., OHYAMA K., DUNLAP D.Y., MATSUMURA F., 1996 - *Cloning and sequencing of the para-type sodium channel gene from susceptible and kdr-resistant German cockroaches (Blattella germanica) and house fly (Musca domestica)*. - Mol. Gen. Genet., 252: 61-68.
- NAQQASH M.N., GÖKÇE A., BAKHSH A., SALIM M., 2016 - *Insecticide resistance and its molecular basis in urban insect pests*. - Parasitol. Res., 115:1363-1373.
- PANINI M., ANACLERIO M., PUGGIONI V., STAGNATI L., NAUEN R., MAZZONI E., 2015 - *Presence and impact of allelic variations of two alternative s-kdr mutations, M918T and M918L, in the voltage-gated sodium channel of the green peach aphid Myzus persicae*. - Pest Manag. Sci., 71: 878-884.
- PANINI M., MANICARDI G.C., MOORES G., MAZZONI E., 2016 - *An overview of the main pathways of metabolic resistance in insects*. - Invertebrate Survival Journal, 13: 326-335.
- PARKING E.A., 1965 - *The onset of insecticide resistance among field populations of stored-product insects*. - J. Stored Prod. Res., 1: 3-8.
- PRIDGEON J.W., APPEL A.G., MOAR W.J., LIU N., 2002 - *Variability of resistance mechanisms in pyrethroid resistant German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae)*. - Pestic. Biochem. Physiol., 73: 149-156.
- RANE R.V., WALSH T.K., PEARCE S.L., JERMIIN L.S., GORDON K.H.J., RICHARDS S., OAKESHOTT J.G., 2016 - *Are feeding preferences and insecticide resistance associated with the size of detoxifying enzyme families in insect herbivores?* - Curr. Opin. Ins. Sci., 13: 70-76.
- RIGAUX M., HAUBRUGE E., FIELDS P.G., 2001 - *Mechanisms for tolerance to diatomaceous earth between strains of Tribolium castaneum*. - Entomologia Experimentalis et Applicata, 101: 33-39.

- RINKEVICH F., DU Y., DONG K., 2013 - *Diversity and convergence of sodium channel mutations involved in resistance to pyrethroids*. - Pestic. Biochem. Physiol., 106: 93-100.
- ROFRANO G., ROSSI E., COSIMI S., 2009 - *Valutazione della resistenza agli insetticidi del Tribolium spp.* - Tecnica Molitoria, 60(8): 877-885.
- ROSSI E., COSIMI S., LONI A., 2010 - *Insecticide resistance in Italian populations of Tribolium flour beetles*. - Bulletin of Insectology, 63: 251-258.
- SCHLIPALIUS D.I., CHENG Q., REILLY P.E.B., COLLINS P.J., EBERT P.R., 2002 - *Genetic linkage analysis of the lesser grain borer Rhyzopertha dominica identifies two loci that confer high-level resistance to the fumigant phosphine*. - Genetics, 161:773-782.
- SCHLIPALIUS D.I., VALMAS N., TUCK A.G., JAGADEESAN R., MA L., KAUR R., GOLDINGER A., ANDERSON C., KUANG J., ZURYN S., MAU Y.S., CHENG Q., COLLINS P.J., NAYAK M.K., SCHIRRA H.J., HILLIARD M.A., EBERT P.R., 2012 - *A core metabolic enzyme mediates resistance to phosphine gas*. - Science, 338(6108): 807-810.
- SCHLIPALIUS D.I., TUCK A.G., JAGADEESAN R., NGUYEN T., KAUR R., SUBRAMANIAN S., BARRERO R., NAYAK M., EBERT P.R., 2018 - *Variant Linkage Analysis Using de Novo Transcriptome Sequencing Identifies a Conserved Phosphine Resistance Gene in Insects*. - Genetics, 209: 281-290.
- SCOTT J.G., 2019 - *Life and Death at the Voltage-Sensitive Sodium Channel: Evolution in Response to Insecticide*. - Annu. Rev. Entomol., 64: 243-257.
- SPARKS T.C., LOCKWOOD J.A., BYFORD R.L., GRAVES J.B., LEONARD B.R., 1989 - *The role of behavior in insecticide resistance*. - Pestic. Sci., 26: 383-399.
- SPARKS T.C., NAUEN R., 2015 - *IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management*. - Pest Biochem. Physiol., 121: 122-128.
- SUN H., TONG K.P., KASAI S., SCOTT J.G., 2016 - *Overcoming super-knock down resistance (super-kdr) mediated resistance: multi-halogenated benzyl pyrethroids are more toxic to super-kdr than kdr house flies*. - Insect Molecular Biology, 25: 126-137.
- SUN H., KASAI S., SCOTT J.G., 2017 - *Two novel house fly Vssc mutations, D600N and T929I, give rise to new insecticide resistance alleles*. - Pestic. Biochem. Physiol., 143:116-121.
- VALLES S.M., KOEHLER P.G., BRENNER R.J., 1999 - *Comparative insecticide susceptibility and detoxification enzyme activities among pestiferous Blattodea*. - Comp. Biochem. Physiol. C Pharmacol. Toxicol. Endocrinol., 124: 227-232.
- WAR A.R., PAULRAJ M.G., AHMAD T., BUHROO A.A., HUSSAIN B., IGNACIMUTHU S., SHARMA H.C., 2012 - *Mechanisms of plant defense against insect herbivores*. - Plant Signal Behav., 7: 1306-1320.
- WHALON M.E., MOTA-SANCHEZ D., HOLLINGWORTH R.H., 2008 - *Analysis of Global Pesticide Resistance in Arthropods*. In: Global Pesticide Resistance in Arthropods, Whalon M.E., Mota-Sanchez D., Hollingworth R.H. (eds). Oxford University Press, Oxford, UK, pp. 5-31.
- WILLIAMSON M.S., MARTINEZ-TORRES D., HICK C.A., DEVONSHIRE A.L., 1996 - *Identification of mutations in the housefly para-type sodium channel gene associated with knockdown resistance (kdr) to pyrethroid insecticides*. - Mol. Gen. Genet., 252: 51-60.
- WOOL D., FRONT L., 2003 - *Esterase variation in Tribolium confusum (Coleoptera: Tenebrionidae): genetic analysis of interstrain crosses in relation to malathion resistance*. - J. Stored Prod. Res., 39: 237-249.
- YU S.J., 2008 - *The toxicology and biochemistry of insecticide*. CRC Press. Boca Raton, FL, USA, pp XVI+276.
- ZHU F., LAVINE L., O'NEAL S., LAVINE M., FOSS C., WALSH D., 2016 - *Insecticide Resistance and Management Strategies in Urban Ecosystems*. - Insects, 7: 2; doi:10.3390/insects7010002

200 - Pagina bianca

BIOATTIVITÀ DEGLI OLI ESSENZIALI: LUCI E OMBRE DEL LORO UTILIZZO NELLA GESTIONE DEGLI INSETTI DANNOSI

STEFANO BEDINI^a - PRISCILLA FARINA^a - BARBARA CONTI^a

^a Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro-ambientali dell'Università di Pisa; e-mail: barbara.conti@unipi.it
Lettura tenuta durante la Tavola Rotonda "Nuove tecnologie per la difesa delle derrate alimentari". Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze,
15 novembre 2019.

Bioactivity of the essential oils against insect pests: assets and liabilities

The repeated and indiscriminate use of synthetic insecticides to protect food from insect attacks has led to serious environmental and human health problems and has induced insecticides resistance in the target species. In recent years, many efforts have been made to investigate the insecticidal activity and the insect repellency of natural products, including essential oils (EOs). This latter, although very effective, are poorly applied in practice due to some practical problems, like the smell, or the variability of the bioactivity. Many EOs are very effective in repelling insects, but because very unpleasant to human olfactory system they cannot be used. To overcome this problem, in the manuscript, a preliminary sensorial screening of the EOs is proposed. With regard to bioactivity, among the factors that can influence the type and intensity of the effect there are certainly the insect species, the chemical composition and the dose of the OEs. Finally, since anti-acetylcholine esterase effect has been demonstrated for some EOs, a mode of action similar to the one of many neurotoxic insecticides such as carbamates and organophosphates, a particular attention must be paid to the problem of resistance.

KEY WORDS: essential oils, repellence, attractiveness, panel test, sensory profile.

INTRODUZIONE

Ogni anno, circa il 20% della produzione agraria mondiale (SALLAM, 1999) ed il 40% delle derrate conservate (MATTHEWS, 1993) vengono persi a causa dell'attacco di insetti dannosi.

Per questo motivo, viene effettuata una continua ed intensa attività di controllo di tali fitofagi, principalmente mediante l'uso di sostanze chimiche di sintesi. Tuttavia, è ormai accertato che l'uso ripetuto di tali sostanze determina seri problemi ambientali e per la salute umana ed inoltre induce resistenza nelle specie target (BELL e WILSON, 1995; BAKKALI *et al.*, 2008; HEIL *et al.*, 2008). La resistenza ad uno o più prodotti di sintesi, utilizzati per la protezione delle derrate alimentari dalle specie dannose, coinvolge tutti i gruppi di insetticidi ed anche le specie di insetti più frequentemente dannose per le derrate conservate (CHAMP, 1985). A causa di questi problemi, vi è un'urgente necessità di trovare nuove strategie per la protezione delle derrate immagazzinate che dovranno risultare, oltre che economicamente convenienti, efficaci contro gli insetti dannosi, innocue per i mammiferi e l'ambiente e, possibilmente, non indurre resistenza nelle specie target (HERMAWAN *et al.*, 1997).

Negli ultimi anni, numerosi sforzi sono stati compiuti per indagare l'efficacia dei prodotti naturali, detti genericamente biopesticidi, i quali potrebbero assicurare

la protezione dei prodotti alimentari senza gli aspetti negativi degli insetticidi di sintesi. Tra questi prodotti si annoverano gli oli essenziali (OE).

Gli OE o eterici sono ottenuti per estrazione da piante essenziali, di cui se ne conoscono oltre 17.000 specie, che li producono per molteplici scopi ed in particolare con funzione allelopatica e di attrazione degli impollinatori (BRUNETON, 1999). La composizione chimica degli OE è molto variabile. I principali componenti chimici degli OE sono gli idrocarburi mono-terpenici, i monoterpeni ossigenati, gli idrocarburi sesquiterpenici, i sesquiterpeni ossigenati ed i derivati non-terpeni (BEDINI *et al.*, 2016). La composizione chimica degli OE, inoltre, dipende sia dalla specie vegetale considerata, sia dalla fase fenologica (tempo balsamico), dall'età della pianta, dall'organo vegetale considerato, dal clima e dalla composizione del terreno di coltura.

Gli OE sono stati investigati da ormai 30 anni per la loro tossicità (TRIPATHI *et al.*, 2000; AGGARWAL *et al.*, 2001; VERMA *et al.*, 2001; KIM *et al.*, 2003; BEDINI *et al.*, 2016 e 2019; MOSSA, 2016) come pure per la loro attività repellente nei confronti di molte specie infestanti le derrate conservate (TRIPATHI *et al.*, 2002 e 2009; BEDINI *et al.*, 2015; ROMANI *et al.*, 2019). Tuttavia, seppur risultino molto efficaci, la loro applicazione pratica ha avuto scarso sviluppo a causa di alcune problematiche, tra cui le principali sono l'odore

che, spesso intenso, può essere conferito alla derrata stessa, la bioattività che in certe situazioni cambia di segno e la resistenza che questi potrebbero indurre.

L'ODORE DEGLI OE

Relativamente all'odore, questo è come noto determinato dalla componente volatile. Molti OE sono molto efficaci nel repellere gli insetti, ma per palesi motivi olfattivi non possono essere utilizzati. È ad esempio il caso dell'OE di rosmarino o di aglio, efficacissimi contro le zanzare, ma che proprio per il loro odore non possono essere consigliati per uso topico. Quindi per la selezione di un olio anti zanzara è necessario considerare oltre che l'efficacia repellente, anche il suo profilo sensoriale. Questo tipo di valutazione è stata indicata per 3 OE (*Ruta chalepensis* (Rutaceae), *Artemisia verlotiorum* (Compositae) e *Lavandula dentata*, (Lamiaceae), testati come repellenti contro femmine di *Aedes albopictus* ed anche sensorialmente da un panel di esperti il cui giudizio, che ha tenuto conto anche dell'efficacia, ha poi guidato la selezione del miglior OE come ingrediente attivo in un possibile formulato commerciale (BEDINI *et al.*, 2018). Questo screening sensoriale, tuttavia, dovrebbe essere effettuato per qualunque utilizzo degli OE che si voglia fare. La scelta di un profilo sensoriale risulta infatti determinante, ad esempio, anche per il trattamento con OE delle granaglie ad uso alimentare, dato che non è opportuno che queste vengano trattate con composti dall'aroma floreale. Una delle nostre ricerche ha quindi riguardato la scelta di un OE da aggiungere alle terre diatomacee per aumentarne l'efficacia insetticida nel trattamento di cereali conservati (PIERATTINI *et al.*, 2019). A questo scopo, gli OE di finocchio (*Foeniculum vulgare* Mill.

Apiaceae), basilico (*Ocimum basilicum* L. Lamiaceae) e lentisco (*Pistacia lentiscus* L. Anacardiaceae) sono stati valutati non solo per la loro efficacia nel proteggere il grano trattato dall'attacco di insetti, ma anche sensorialmente (sia da soli sia nel grano trattato) da un panel di esperti del Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro-ambientali dell'Università di Pisa. In questa indagine, i test di laboratorio hanno indicato una LC_{50} pari a 23.18, 43.42 e 36.36 $\mu\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$ per l'OE di finocchio, basilico e lentisco, rispettivamente. Tuttavia, secondo l'analisi della potenza mediana relativa (RMP), tali differenze non sono risultate significative.

I risultati dei test sensoriali hanno indicato una sostanziale uniformità dei tre oli in termini di intensità e persistenza e una piacevolezza che nel caso dell'olio di basilico aumentava una volta mescolato al grano (PIERATTINI *et al.*, 2019) (Fig. 1).

Considerando quindi l'analoga efficacia e la maggior gradevolezza, l'OE di basilico è stato scelto fra i tre OE per i successivi test in azienda.

LA REPELLENZA VS ATTRATTIVITÀ

La repellenza degli OE è uno dei campi di indagine più frequente e infatti, cercando nelle banche dati, le pubblicazioni scientifiche su questo argomento sono numerosissime. Al contrario, effettuando la medesima ricerca per l'attrattività degli OE nei confronti degli insetti, si ottiene un numero esiguo di articoli. Caratteristica saliente di questo consistente numero di articoli è che gli OE testati per repellenza e attrattività non sono mai gli stessi, né vengono valutati per i due aspetti sulla stessa specie di insetto.

Il fenomeno dell'attrattività merita quindi di essere

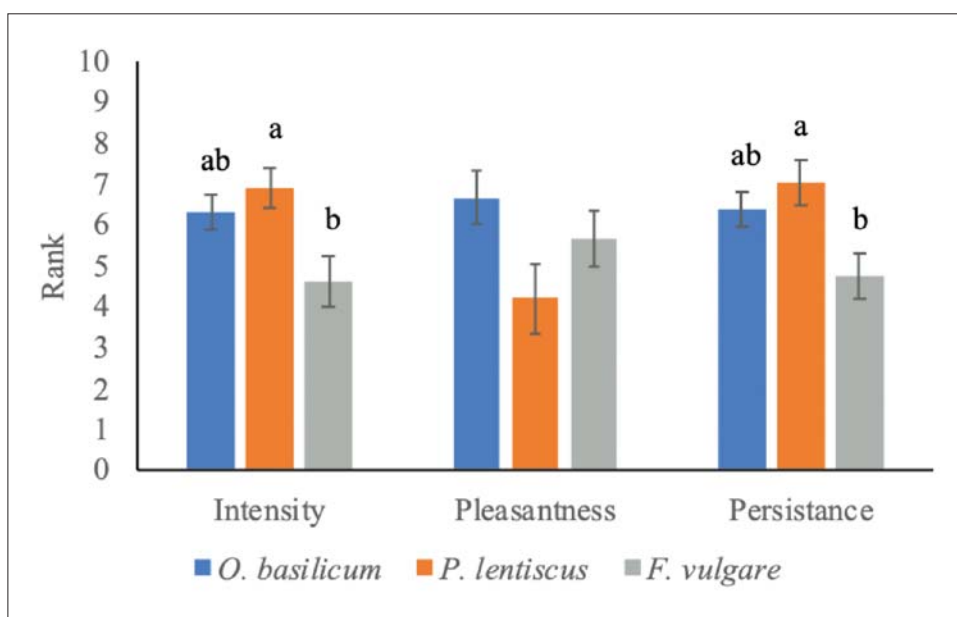


Fig. 1 – Analisi sensoriale del grano aromatizzato con OE. I descrittori sensoriali sono stati classificati in base ai componenti del panel su una scala da 0 a 10. Gli istogrammi rappresentano la media dei gradi. I dati rappresentano i valori medi dei ranghi degli odori valutati dai panelisti per i descrittori sensoriali del grano aromatizzato con OE. Le barre rappresentano l'errore standard. Lettere diverse indicano una differenza significativa tra i trattamenti secondo il test post-hoc (b) di Tukey ($p < 0,05$) (PIERATTINI *et al.*, 2019).

studiato meglio perché potrebbe essere uno dei motivi della difficile applicazione pratica degli OE.

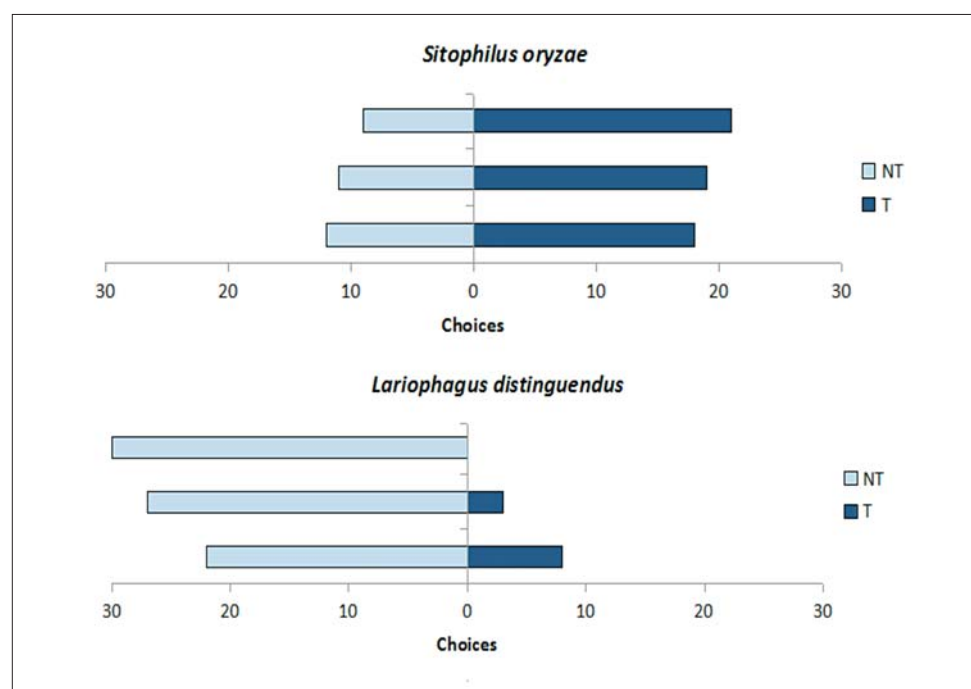
Ma cosa determina l'effetto repellente o attrattivo di un olio essenziale? Chiaramente, tra i fattori che possono influenzare il tipo e l'intensità dell'effetto, sicuramente la composizione chimica dell'olio essenziale è importante anche se, a causa dei composti minoritari, al momento sono reperibili solo poche evidenze scientifiche che correlano la bioattività alla composizione (BEDINI *et al.*, 2016a). L'attrattività nei confronti degli insetti di molti composti volatili degli OE come i monoterpeni è tuttavia documentata e, per questo, potrebbero essere utili per il monitoraggio degli insetti (KIM *et al.*, 2003). A questo proposito, HERNANDEZ-SANCHEZ *et al.* (2001) hanno osservato che il β -cimene ed il limonene isolati dal frutto di *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae) hanno un'attività fortemente attrattiva per la mosca della frutta *Ceratitis capitata* Wiedemann, 1824 (Diptera Tephritidae). KATERINOPOULOS *et al.* (2005) hanno evidenziato che l'1,8-cineolo, il principale costituente dell'olio essenziale di *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae), è attrattivo per *Frankliniella occidentalis* Pergande, 1895 (Thysanoptera Thripidae). Allo stesso modo, l'alcool cinnamilico, la 4- metossi-cinnamalaldeide, la cinnamalaldeide, il geranilacetone e l' α -terpineolo hanno mostrato attrattività nei confronti della diabrotica del mais (*Diabrotica virgifera*, Coleoptera Chrysomelidae) (HAMMACK, 1996; PETROSKI e HAMMACK, 1998). Inoltre, il cis-jasmone, costituente principale dell'OE di gelsomino, attira gli adulti dei lepidotteri (PAIR *et al.*, 1997), mentre l'olio di sandalo, di basilico e di pompelmo hanno mostrato un'alta attrattività per gli

aleirodidi (Hemiptera Aleyrodidae) (GORSKI, 2004). In linea con questi risultati, gli oli essenziali sono stati usati con successo come attrattivi nelle trappole per diversi insetti come tripidi, minatori fogliari, afidi e mosche bianche (KOUL *et al.*, 2008).

L'olio essenziale di cannella (*Cinnamomum verum* J.Presl, Lauraceae) ed i suoi componenti hanno mostrato un ampio spettro di attività insetticide, miticide, nematocide, fungicide e battericide (SINGH *et al.*, 2007; JAYAPRAKASHA e RAO, 2011). Alcune società hanno infatti recentemente raccolto la sfida ed immesso sul mercato formulati a base di OE di cannella, che nelle specifiche di registrazione indicano come sicuro per l'utente e per l'ambiente. La Mycotech Corporation produce la Cinnamite™ ed il Valero™, due afidicidi / miticidi / fungicidi per colture in serra ed orticole e per l'uso su uva, bacche, agrumi e noci, rispettivamente. Entrambi i prodotti sono a base di olio di cannella, con cinnamalaldeide (30%) come ingrediente attivo. Tuttavia, in un recente lavoro in cui abbiamo saggiato l'OE di cannella a diverse concentrazioni, questo è risultato attrattivo nei confronti di *Sitophilus oryzae* (Coleoptera Curculionidae) ed alle medesime concentrazioni repellente nei confronti del suo parassitoide *Lariophagus distinguendus* (Foerster) (Hymenoptera Pteromalidae) (Fig. 2) (BEDINI *et al.*, 2018).

Anche la dose di utilizzo di un OE gioca un ruolo importante nella sua bioattività e gli OE possono essere classificati, sulla base del comportamento degli insetti nei loro confronti, in oli prevalentemente repellenti e conseguentemente scarsamente attrattivi, mediamente repellenti o attrattivi e prevalentemente attrattivi ossia scarsamente repellenti ed i risultati

Fig. 2 – Effetto dell'olio essenziale (OE) di *Cinnamomum verum* a differenti dosi (0,1, 1, e 5% dal basso verso l'alto rispettivamente nei due grafici) nei confronti di adulti di *Sitophilus oryzae* e del suo parassitoide *Lariophagus distinguendus* mediante "Two-choice" test. T, sorgente trattata con OE; NT, sorgente non trattata (BEDINI *et al.* 2018a).



indicano che gli OE, anche quelli per i quali la tossicità e la repellenza sono ampiamente documentate, nelle opportune condizioni possono diventare attrattivi. Questo fatto, se da una parte pone problemi sulla opportunità di utilizzare gli OE come repellenti, in quanto potrebbe verificarsi un loro cambio di segno a causa della volatilità, dall'altra potrebbe aprire interessanti possibilità nel loro impiego come attrattivi.

INDUZIONE DI RESISTENZA

Tra i molti vantaggi spesso citati per l'uso degli OE come alternativa agli insetticidi e repellenti di sintesi uno ricorrente è la presunta assenza di fenomeni di induzione di resistenza negli organismi target. Tale assunzione si basa sul presupposto che, essendo gli OE miscele complesse di molti componenti attivi, sarebbe difficile per l'insetto uno sviluppo di resistenza a tutti questi composti. Tuttavia, l'impossibilità da parte degli insetti di sviluppare resistenza verso gli OE non è stata ancora dimostrata.

In generale, i sintomi della tossicità sugli insetti causati dagli OE e dai loro componenti suggeriscono che il loro modo di azione sia di tipo neurotossico (KOSTYUKOVSKY *et al.*, 2002). Evidenze scientifiche indicano infatti che alcuni OE ed i loro composti interferiscono con il neurormone e neuromodulatore octopamina (ENAN, 2001) e con i canali del cloro a livello dei recettori GABA (acido γ -amminobutirrico) (PRIESTLEY *et al.*, 2003). Recentemente, inoltre, BEDINI *et al.* (2017) hanno dimostrato che gli OE di *Artemisia* spp. sono in grado di esercitare effetti neurotossici in *Calliphora vomitoria* (L.), inibendo l'azione dell'acetilcolina esterasi. Questo effetto anti-acetilcolina esterasi suggerisce che, avendo gli OE lo stesso meccanismo di azione di molti insetticidi neurotossici come i carbammati e gli organofosfati (ISMAN, 2002), particolare attenzione deve essere posta all'insorgenza dei fenomeni di resistenza. Chiarire la modalità di azione e le dosi dell'OE efficaci contro le varie specie di insetti risulta sempre importante, sia per un efficace controllo degli infestanti, perché contribuisce a stabilire la formulazione più appropriata ed il metodo di somministrazione nonché la gestione dei fenomeni di resistenza, sia per la sicurezza umana ed in generale per tutti gli organismi non target (SIM *et al.*, 2006).

CONCLUSIONI

Quindi, in conclusione, ciò che è emerso dalle nostre ricerche sugli OE è che:

- Per ovviare alla problematica dell'odore, spesso non idoneo, prima dell'uso di un olio essenziale è

necessario che questo venga valutato sensorialmente oltre che per la sua efficacia.

- Sia la repellenza sia l'attrattività sono tratti comuni degli OE ed il passaggio dall'una all'altra è funzione dalla specie di insetto trattata, della composizione dell'OE ed anche della concentrazione. Ipotizzando quindi uno schema generale, potremmo dire che a concentrazioni molto elevate gli OE sono tossici per gli insetti, abbassando la concentrazione diventano repellenti e progressivamente, diminuendo la concentrazione, dopo una fase neutra in cui vi è un equilibrio tra individui attratti e respinti, il tipo di effetto cambia e gli OE diventano attrattivi per gli insetti. Infine, quando la concentrazione è molto bassa, l'olio essenziale non viene verosimilmente più avvertito dall'insetto.
- La concentrazione di un OE risulta quindi essere una delle problematiche maggiori, perché se un olio essenziale cambia la sua bioattività e da repellente diventa attrattivo sulla base della sua concentrazione, ciò può influenzare fortemente le sue prestazioni in un uso pratico come repellente, poiché gli OE sono volatili e la concentrazione e la composizione dei loro componenti variano velocemente nel tempo dopo la loro applicazione. Tuttavia, in dosi appropriate alle quali essi possano esprimere il loro potenziale attrattivo, potrebbero essere utilizzati come esca in trappole adesive per il monitoraggio della presenza di insetti dannosi nei programmi di lotta integrata, in alternativa alle trappole specifiche per feromoni, molto più costose. Alcuni composti degli oli essenziali vengono già praticamente utilizzati in tal senso, è il caso delle trappole per il mass trapping di *Popillia japonica* (Coleoptera Scarabaeidae) che vengono innescate anche con eugenolo e geraniolo in proporzioni variabili (LADD *et al.*, 1981; MARTINS e SIMÕES, 1986).
- Si dovrà comunque tenere in considerazione quanto sopra detto perché a nostro avviso, per la selezione di un olio essenziale da utilizzare come repellente, si dovrebbe scegliere un olio che abbia un intervallo molto ridotto in cui risulta attrattivo perché in questo modo svanisce molto rapidamente e non essendo più percepito dall'insetto non esercita azione contraria.
- Infine, in generale, i sintomi sugli insetti, causati dagli OE e dai loro componenti, suggeriscono che il loro modo di azione sia di tipo neurotossico in particolare inibendo l'azione dell'acetilcolina esterasi. Questo effetto anti-acetilcolina esterasi suggerisce che, avendo gli OE lo stesso meccanismo di azione di molti insetticidi neurotossici come i carbammati e gli organofosfati (ISMAN, 2002), particolare attenzione deve essere posta all'insorgenza dei fenomeni di resistenza. Chiarire la modalità di azione e le dosi dell'OE efficaci contro le varie

specie di insetti risulta sempre importante, sia per un efficace controllo degli infestanti perché contribuisce a stabilire la formulazione più appropriata ed il metodo di somministrazione nonché la gestione dei fenomeni di resistenza, sia per la sicurezza umana ed in generale di tutti gli organismi non target (SIM *et al.*, 2006).

RIASSUNTO

L'uso ripetuto di insetticidi di sintesi per la protezione delle derrate dagli attacchi degli insetti ha determinato seri problemi ambientali e per la salute umana ed ha indotto resistenza nelle specie target. Negli ultimi anni, numerosi sforzi sono stati compiuti per indagare l'efficacia insetticida e l'insetto repellenza dei prodotti naturali, tra cui gli oli essenziali (OE). Questi ultimi, seppur molto efficaci, sono scarsamente applicati nella pratica a causa di alcune problematiche tra cui le principali sono l'odore, la bioattività che in certe situazioni cambia di segno e la resistenza che potrebbero indurre. Molti OE sono molto efficaci nel repellere gli insetti, ma per motivi olfattivi non possono essere utilizzati. Per ovviare a questo problema, nel lavoro viene proposto uno screening sensoriale che deve essere effettuato per qualunque utilizzo che degli OE si voglia fare. Relativamente alla bioattività, tra i fattori che possono influenzare il tipo e l'intensità dell'effetto ci sono sicuramente la specie dell'insetto, la composizione chimica e la dose dell'OE. Infine, dato che per alcuni OE è stato dimostrato un effetto anti-acetilcolina esterasi, quindi un meccanismo di azione analogo a quello di molti insetticidi neurotossici come i carbammati e gli organofosfati, particolare attenzione deve essere posta all'insorgenza dei fenomeni di resistenza.

BIBLIOGRAFIA

- AGGARWAL K.K., TRIPATHI A.K., PRAJAPATI V., KUMAR S., 2001 - *Toxicity of 1,8-cineole towards three species of stored product coleopterans*. - *Int. J. Trop. Insect Sci.*, 21: 155-160.
- BAKKALI R.F., AVERBECK S., AVERBECK D., IDAOMAR M., 2008 - *Biological effects of essential oils - a review*. - *Food Chem. Toxicol.*, 46: 446-475.
- BEDINI S., COSCI F., GIRARDI J., BOCCHINO R., CONTI B., 2018a - *Selective activity of Cinnamomum verum essential oil against the rice weevils Sitophilus oryzae and its parasitoid Lariophagus distinguendus in post-harvest pest management*. In: IOBC-WPRS Bull., Working group on Integrated Protection of Stored Products, 3-5 July 2017, Ljubljana, Slovenia, 130: 22.
- BEDINI S., FLAMINI G., ASCRIZZI R., VENTURI F., FERRONI G., BADER A., GIRARDI J., CONTI B., 2018 - *Essential oils sensory quality and their bioactivity against the mosquito Aedes albopictus*. - *Sci. Rep.*, 8: 17857. doi: 10.1038/s41598-018-36158-w
- BEDINI S., FLAMINI G., BOUGHERRA-NEHAOUA H.H., COSCI F., ASCRIZZI R., CONTI B., 2016a - *Non sempre la somma fa il totale: sinergia dei costituenti maggioritari dell'olio essenziale di Foeniculum vulgare nei confronti di insetti dannosi ai cereali in post-raccolta*. In: XXV Congresso Nazionale Di Entomologia, 20-24 June 2016, Padova, Italy.
- BEDINI S., FLAMINI G., COSCI F., ASCRIZZI R., BENELLI G., CONTI B., 2016 - *Cannabis sativa and Humulus lupulus essential oils as novel control tools against the invasive mosquito Aedes albopictus and fresh watersnail Physella acuta*. - *Indus. Crops Prod.*, 85: 318-323.
- BEDINI S., FLAMINI G., COSCI F., ASCRIZZI R., ECHEVERRIA MC., GOMEZ EV., GUIDI L., LANDI M., LUCCHI A., CONTI B., 2019 - *Toxicity and oviposition deterrence of essential oils of Clinopodium nubigenum and Lavandula angustifolia against the myiasis inducing blowfly Lucilia sericata*. - *PLoS One*, 14: 1-17. doi: 10.1371/journal.pone.0212576
- BEDINI S., FLAMINI G., COSCI F., ASCRIZZI R., ECHEVERRIA MC., GUIDI L., LANDI M., LUCCHI A., CONTI B., 2017 - *Artemisia spp. essential oils against the disease-carrying blowfly Calliphora vomitoria*. - *Parasite. Vector.*, 10: 80. doi: 10.1186/s13071-017-2006-y
- BEDINI S., FLAMINI G., GIRARDI J., COSCI F., CONTI B., 2015 - *Not just for beer: evaluation of spent hops (Humulus lupulus L.) as a source of ecofriendly repellents for insect pests of stored foods*. - *J. Pest Sci.*, 88: 583-592. doi: 10.1007/s10340-015-0647-1
- BELL, C.H., WILSON, S.M., 1995 - *Phosphine tolerance and resistance in Trogoderma granarium Everts (Coleoptera: Dermestidae)*. - *J. Stored. Prod. Res.*, 31: 199-205.
- BRUNETON J., 1999 - *Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants: essential oils*. Lavoisier Publishing, New York, 2nd ed., 461-780.
- CHAMP B.R., 1985 - *Occurrence of resistance to pesticides in grain storage pests*. In: Pesticides and humid tropical grain storage system, Champ, B.R., Highly, E. Eds., Proceedings of an International Seminar, Manila 1985. ACIAR, Canberra, 14: 225-229.
- ENAN E., 2001 - *Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action*. *Comp. Biochem. Physiol. Part C - Toxicol. Pharmacol.*, 130: 325-337.
- GORSKI R., 2004 - *Effectiveness of natural essential oils in the monitoring of greenhouse whitefly (Trialeurodes vaporariorum Westwood)*. - *Folia Hort.*, 16: 183-187.
- HAMMACK L., 1996 - *Corn volatiles as attractants for northern and western corn rootworm beetles (Coleoptera: Chrysomelidae: Diabrotica spp.)*. - *J. Chem. Ecol.*, 22: 1237-1253.
- HEIL A., HUMPHREYS E.H., JANSSEN S., 2008 - *Outcomes of the California ban on pharmaceutical lindane: clinical and ecologic impacts*. - *Environ. Health Perspect.*, 116: 297-302.
- HERMAWAN W.E., NAKAJIMA S., TSUKUDA R., FUJISAKI K., NAKASUJI F., 1997 - *Isolation of an antifeedant compound from Andrographis paniculata (Acanthaceae) against the diamond back, Plutella xylostella (Lepidoptera: Yponomeutidae)*. - *App. Entomol. Zool.*, 32: 551-559.
- HERNANDEZ-SANCHEZ G., SANZ-BERZOSA I., CASANA-GINER V., PRIMO-YUFERA E., 2001 - *Attractiveness for Ceratitis capitata (Wiedemann) (Dipt., Tephritidae) of mango (Mangifera indica, cv. Tommy Atkins) airborne terpenes*. - *J. Applied Entomol.*, 125: 189-192.
- ISMAN M.B., 2002 - *Insect antifeedants*. - *Pest. Outlook*, 13: 152-157.
- JAYAPRAKASHA G.K., RAO L.J., 2011 - *Chemistry, biogenesis*

- and biological activities of *Cinnamomum zeylanicum*. - Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 51: 547-62.
- KATERINOPOULOS H.E., PAGONA G., AFRATIS A., STRATIGAKIS N., RODITAKIS N., 2005 - *Composition and insect attracting activity of the essential oil of Rosmarinus officinalis*. - J. Chem. Ecol., 31: 111-122.
- KIM S.I., ROH J.Y., KIM D.H., LEE H.S., AHN Y.J., 2003 - *Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against Sitophilus oryzae and Callosobruchus chinensis*. - J. Stored Prod. Res., 39: 293-303.
- KOSTYUKOVSKY M., RAFAELI A., GILEADI C., DEMCHENKO N., SHAAYA E., 2002 - *Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants, possible mode of action against insect pests*. - Pest Manag. Sci., 58: 1101-1106.
- KOUL, O., WALIA, S., DHALIWAL, G.S., 2008 - *Essential oils as green pesticides: potential and constraints*. - Biopestic. Int., 4: 63-84.
- LADD JR. T.L., KLEIN M.G., TUMLINSON J.H., 1981 - *Phenethyl propionate + eugenol + geraniol (3:7:3) and Japonilure: a highly effective joint lure for Japanese beetles*. - J. Econ. Entomol., 74: 665-667.
- MARTINS A., SIMÕES N., 1986 - *Population dynamics of the Japanese beetle (Coleoptera: Scarabaeidae) in Terceira Island – Azores*. - Arquipelago, 6: 57–62.
- MATTHEWS G.A., 1993 - *Insecticide application in the stores*. In: Application technology for crop protection, Matthews G.A., Hislop E.C. Eds., CAB International, Wallingford, UK, 360 pp.
- MOSSA A.T.H., 2016 - *Green Pesticides: essential oils as biopesticides in insect-pest management*. - J. Environ. Sci. Technol., 9: 354-378.
- PAIR S.D., HORVAT R.J., 1997 - *Volatiles of Japanese honeysuckle flowers as attractants for adult Lepidopteran insects*. US Patent No. 5665344.
- PETROSKI R.J., HAMMACK L., 1998 - *Structure activity relationships of phenyl alkyl alcohols, phenyl alkyl amines, and cinnamyl alcohol-derivatives as attractants for adult corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae: Diabrotica spp.)*. - Environ. Entomol., 27: 688-694.
- PIERATTINI E.C., BEDINI S., VENTURI F., ASCRIZZI R., FLAMINI G., BOCCHINO R., GIRARDI J. GIANNOTTI P., FERRONI G., CONTI B., 2019 - *Sensory quality of essential oils and their synergistic effect with diatomaceous earth, for the control of stored grain insects*.- Insects, 10: 114. doi: 10.3390/insects10040114
- PRIESTLEY C.M., WILLIAMSON E.M., WAFFORD K.A., SATTELLE D.B., 2003 - *Thymol, a constituent of thyme essential oil, is a positive allosteric modulator of human GABAA receptor and a homo-oligomeric GABA receptor from Drosophila melanogaster*. - Br. J. Pharmacol., 140: 1363-1372.
- ROMANI R., BEDINI S., SALERNO G., ASCRIZZI R., FLAMINI G., ECHEVERRIA MC., FARINA P., CONTI B., 2019 - *Andean flora as a source of new repellents against insect pests: behavioral, morphological and electrophysiological studies on Sitophilus zeamais (Coleoptera: Curculionidae)*. - Insects, 10: 171. doi: 10.3390/insects 10060171
- SALLAM M.N., 1999 - *Insect damage: damage on post-harvest*. FAO, INPhO. [online] <http://www.fao.org/inpho/inpho-post-harvest-compendium/it/>. Accessed 12 April 2107.
- SIM M.J., CHOI D.R., AHN Y.J., 2006 - *Vapour phase toxicity of plant essential oils to Cadra cautella (Lepidoptera: Pyralidae)*. - J. Econ. Entomol., 99: 593-598.
- SINGH G., MAURYA S., DELAMPASONA M.P., CATALAN C.A., 2007 - *A comparison of chemical, antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituent*.- Food Chem. Toxicol., 5: 1650-1661.
- TRIPATHI A.K., PRAJAPATI V., AGGARWAL K.K., KHANUJA S.P.S., KUMAR S., 2000 - *Repellency and toxicity of oil of Artemisia annua to certain stored product beetles*. - J. Econ. Entomol., 93: 43-47.
- TRIPATHI A.K., PRAJAPAT V., VERMA N., BHAL J.R., BANSAL R.P., KHANUJA S.P.S., KUMAR S., 2002 - *Bioactivities of the leaf essential oil of Curcuma longa (Var. Ch-66) on three species of stored product beetles (Coleoptera)*. - J. Econ. Entomol., 95: 183-189.
- TRIPATHI A.K., UPADHYAY S., BHUIYAN M., BATTACHARYA P.B., 2009 - *A review on prospects of essential oils as bio pesticide in insect pest management*. - J. Pharmacogn. Phytother., 1: 52-63.
- VERMA N., TRIPATHI A.K., PRAJAPATI V., BAHL J.R., BANSAL R.P., KHANUJA S.P.S., KUMAR S., 2001 - *Toxicity of essential oil from Lippia alba towards stored grain insects*. - J. Med. Aromatic Plant Sci., 22/4A and 23/1A: 117-119.

FORMULAZIONI A BASE DI OLI ESSENZIALI: PROPRIETÀ CHIMICO-FISICHE E ATTIVITÀ INSETTICIDA

ORLANDO CAMPOLO^a - GIULIA GIUNTI^a - FRANCESCA LAUDANI^a - VINCENZO PALMERI^a

^a Dipartimento di AGRARIA dell'Università Mediterranea di Reggio Calabria; e-mail: vpalmeri@unirc.it

Lettura tenuta durante la Tavola Rotonda "Nuove tecnologie per la difesa delle derrate alimentari". Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 15 novembre 2019.

Essential oil-based formulations: physicochemical properties and insecticidal activity

The use of essential oil-based insecticides is attracting considerable interest both from researchers and consumers who require sustainable alternatives to chemical pesticides. Essential oils (EOs) ensure an increased economic and environmental sustainability and generally have good insecticidal activity, due to their role in plant protection. However, some physicochemical characteristics of these extracts may affect their applicability under field conditions. In this perspective, research is increasingly focusing on the formulation of EO-based pesticides that ensure their stability and miscibility in water.

In this scenario, nanotechnology plays a prominent role. The formulation of EOs in nano-emulsions and encapsulation with inert powders or polymeric nanoparticles can guarantee the stability of the active ingredients and increase their effectiveness towards the target pests. These nano-formulations have, as main characteristic, the nano-metric dimension, which can improve or mitigate the intrinsic characteristics of the active ingredients. The nano-emulsions and nanoparticles can also act as carriers for EOs, ensuring a controlled and gradual release of the active ingredients to achieve maximum biological efficacy against the target organisms. The controlled release of the active ingredients can be programmed according to the degradability and permeability of the polymer or surfactant used, which simultaneously protects the active ingredients from degradation. The inclusion of active ingredients into nano-sized particles or micelles may not only increase their effectiveness against the target organisms, but it may also mitigate or nullify any adverse effect on non-target organisms, such as reducing their phytotoxicity.

KEY WORDS: nano-emulsions; nanoparticles; stability; phytotoxicity; pesticides.

INTRODUZIONE

Le conseguenze eco-tossicologiche, ambientali e sociali dell'uso diffuso, e spesso indiscriminato, degli insetticidi di sintesi in agricoltura hanno indotto i ricercatori a trovare alternative più sostenibili rispetto ai tradizionali pesticidi. In questo contesto, l'uso di insetticidi a base di estratti botanici sta suscitando un notevole interesse non solo tra i ricercatori ma anche che tra i consumatori che richiedono sempre più insistentemente produzioni primarie rispettose dell'ambiente. Tra gli estratti botanici utilizzati come insetticidi, gli oli essenziali (OE) rappresentano un'alternativa promettente sia per la loro efficacia intrinseca ma anche per la loro disponibilità diffusa e la relativa convenienza economica. La loro attività insetticida scaturisce dal ruolo che queste molecole svolgono naturalmente nella difesa delle piante e in altri processi metabolici dei vegetali (PAVELA, 2015; SMITH *et al.*, 2006; WALTERS, 2010; ZUZARTE *et al.*, 2015).

Dal punto di vista applicativo, gli oli essenziali presentano alcune caratteristiche che ne rendono problematico l'uso nelle reali condizioni operative. La loro elevata volatilità, la scarsa solubilità in acqua e l'attitudine all'ossidazione rappresentano delle criticità che devono essere mitigate prima di poter essere

utilizzati come sistema alternativo di controllo dei parassiti. Un altro aspetto vincolante del loro uso nel controllo dei parassiti animali delle piante è la fitotossicità che contraddistingue molti OE e ne limita l'uso quali insetticidi se non opportunamente formulati. Il settore delle derrate alimentari sembra essere il candidato perfetto per lo sviluppo di nuove strategie alternative di controllo dei parassiti basate sugli oli essenziali. Un altro aspetto importante da tenere in considerazione risiede nella elevata infiammabilità degli OE che, per essere impiegati in totale sicurezza, necessitano di essere inclusi in formulazioni insetticide stabili in grado di limitare la "pericolosità" di queste sostanze, oltre che aumentarne l'efficacia nei confronti degli organismi target.

Lo sviluppo e la messa a punto di formulazioni insetticide rappresentano, quindi, gli step necessari per trasferire l'enorme mole di risultati di laboratorio nelle reali condizioni operative. In tale contesto, le emulsioni, e in particolare le nano-emulsioni, nonché il nano-incapsulamento degli oli essenziali stanno risvegliando l'interesse dei ricercatori e del mondo produttivo. Una formulazione ottimale riesce a risolvere, o quanto meno ad attenuare, la maggior parte dei limiti che contraddistinguono gli oli essenziali. Le formulazioni insetticide così sviluppate risultano, nella maggior

parte dei casi, più efficaci rispetto all'olio essenziale usato tal quale evidenziando spesso una ridotta tossicità nei confronti degli organismi non target.

NANO-INCAPSULATI

Il processo di incapsulamento dei principi attivi, che porta alla formazione di nanoparticelle (NP), è in grado, alla stregua delle formulazioni nano-emulsionate, di ridurre le problematiche legate alle caratteristiche chimico-fisiche degli OE, migliorando l'efficacia e inducendo un'attività sistemica dovuta alle piccole dimensioni delle particelle stesse (KAH *et al.*, 2013; SASSON *et al.*, 2007). Ad oggi, sono state sintetizzate a partire da sostanze di origine vegetale varie tipologie di nano-incapsulati, tra i quali NP metalliche, di ossidi di metalli e punti quantici, ma anche nano-incapsulati a base di silicio, di carbonio, lipidici, proteici o polimerici (NIEMEYER e DOZ, 2001; OSKAM, 2006; PUOCI *et al.*, 2008). Le NP possono essere definite come una sottoclasse di particelle ultrafini, con dimensioni comprese tra 1 a 100 nm, che presentano proprietà specifiche dovute alla loro dimensione (AUFFAN *et al.*, 2009). Possono essere occasionalmente considerate alla stregua di NP anche incapsulati di dimensione compresa tra i 100 e i 500 nm che presentino caratteristiche ottiche (trasparenza/torbidità) e di stabilità tipiche delle nanoparticelle (ALEMÀN *et al.*, 2007). Ulteriori parametri che definiscono le proprietà dei nano-incapsulati, sono la forma, il rapporto superficie-volume, la tipologia di fase (cristallina o amorfa) e la composizione chimica (ad esempio, metallica, a base di carbonio, inorganica, organica, polimerica, ecc.).

I nano-incapsulati possono essere anche utilizzati per la loro capacità di agire come *nanocarriers* (TSUJI, 2001). L'obiettivo dei *carriers* è quello di garantire un rilascio controllato e graduale dei principi attivi per ottenere la massima efficacia biologica nei confronti degli organismi target e per ridurre eventuali effetti nocivi (GHORMADE *et al.*, 2011). Il vantaggio principale di utilizzare le NP come *carriers* è nella loro elevata capacità di carico (*loading ability*) dei principi attivi, dovuta ad una superficie di scambio attiva maggiore rispetto a quella di sistemi composti da particelle di dimensioni superiori. Le sostanze nano-incapsulate hanno generalmente un rilascio più graduale nel tempo e una degradazione più lenta, caratteristiche che determinano una diminuzione nel numero delle applicazioni rispetto ai pesticidi classici. I *nanocarriers* polimerici sono particolarmente ideali come co-formulanti nella preparazione di NP a partire da sostanze fitochimiche (metaboliti secondari) e da oli essenziali, che possono avere problemi di stabilità (GHORMADE *et al.*, 2011). Questa tipologia di NP polimeriche comprende le

cosiddette nanosfere e nanocapsule. I polimeri svolgono la funzione di guscio esterno protettivo dei principi attivi e contemporaneamente agiscono da vettori di rilascio a diffusione controllata degli stessi. Difatti, il rilascio controllato dei principi attivi può essere regolato in base alle caratteristiche di degradabilità e di permeabilità del polimero utilizzato. Sono state valutate molte tipologie di polimeri per la formulazione di NP, tra le quali i poliesteri [ad esempio, poli-ε-caprolatone e polietilenglicole (PEG)], i polisaccaridi (ad es. chitosano, alginati e amidi) e recentemente anche alcune sostanze di origine animale e vegetale, come la cera d'api, l'olio di mais ed alcune lecitine vegetali (ABREU *et al.*, 2012; NGUYEN *et al.*, 2012). Tra questi, le NP polimeriche a base di PEG sono risultate finora le più interessanti, grazie alla loro biodegradabilità, alla facilità di manipolazione e alle proprietà fisico-chimiche di questo materiale (TORCHILIN, 2006; SHAKIL *et al.*, 2010).

L'impiego di polimeri di origine vegetale per l'incapsulamento degli OE è generalmente pensato per ottenere delle particelle solide ultrafine che siano facilmente disperdibili in acqua. Ciononostante, ulteriori ricerche hanno investigato la possibilità di incapsulare questi estratti botanici all'interno di materiali solidi ultrafini, utilizzando come stabilizzanti e incapsulanti delle polveri inerti. Di particolare interesse, è la possibilità di aggiungere gli OE a polveri ultrasottili inerti che presentino intrinsecamente un'attività insetticida, come il caolino o le terre di diatomee che vengono utilizzati come protettivi delle cariossidi nell'industria cerealicola (CAMPOLO *et al.*, 2014).

NANO-EMULSIONI

Le nano-emulsioni sono dei sistemi dispersi, cioè eterogenei, costituiti da due fasi liquide immiscibili tra loro per molti aspetti simili alle emulsioni. Esistono fondamentalmente due tipologie di nano-emulsioni: olio in acqua (O/A, Oil/Water) e acqua in olio (A/O, W/O). Nella prima tipologia l'olio rappresenta la fase dispersa mentre l'acqua è la fase disperdente; invece, nelle emulsioni acqua in olio (A/O, W/O) la fase disperdente è costituita dall'olio mentre quella dispersa è costituita dall'acqua. Le emulsioni possono presentare una stabilità (cioè la tendenza dei globuli dispersi a non riunirsi fra loro e raccogliersi in superficie o sul fondo) dipendente da numerosi fattori quali la grandezza delle particelle, la differenza di densità delle due fasi, la temperatura; tale stabilità dipende soprattutto dalla natura e quantità di un agente stabilizzante, detto emulsionante, che modifica le proprietà chimico-fisiche della superficie di separazione tra i due liquidi abbassandone la tensione interfacciale. Dal punto di

vista strettamente terminologico esiste molta confusione nel discriminare le nano emulsioni dalle micro. Nello specifico la dimensione delle particelle, in entrambe le tipologie di emulsione, ricade nell'intervallo nanometrico anche se non è possibile definire esattamente i rispettivi *range* di dimensioni (PAVONI *et al.*, 2019). Secondo McCLEMENTS (2012) la principale differenza tra nano e microemulsioni è la loro stabilità termodinamica: le nano-emulsioni sono termodinamicamente instabili, mentre le microemulsioni sono termodinamicamente stabili. In linea di principio, le microemulsioni possono formarsi spontaneamente portando semplicemente l'olio, l'acqua e il tensioattivo a una temperatura particolare senza fornire energia esterna, poiché si tratta di sistemi termodinamicamente stabili. Nella realtà, invece, è spesso necessario applicare energia esterna (sotto forma di agitazione o riscaldamento) per facilitare la formazione di una microemulsione. Le nano-emulsioni, invece, necessitano sempre dell'immissione di energia esterna per rendere possibile la formazione delle micelle. Tale energia, variabile sia per entità che per durata, può essere somministrata attraverso omogeneizzatori ad alta pressione, fluidizzatori, sonicatori, ecc.

Uno degli aspetti fondamentali per la formazione di una emulsione stabile è l'impiego di un surfattante avente specifiche caratteristiche in grado di ottimizzare il processo di formazione delle micelle di piccole dimensioni. Ogni surfattante è caratterizzato da un valore di HLB (*hydrophilic-lipophilic balance*), compreso tra 0 e 20, che definisce il suo grado di idrofilicità o di lipofilia. Ogni "sostanza grassa" compresi gli oli essenziali necessita di un surfattante con specifici valori di HLB; come si può facilmente intuire, il calcolo dell'HLB richiesto da una singola sostanza

risulta più agevole rispetto alla determinazione del valore di HLB richiesto da un olio essenziale la cui composizione, spesso variabile, è costituita da decine di composti chimici. Quindi, la scelta del valore di HLB per gli OE deve essere effettuata sperimentalmente (Fig. 1) impiegando come possibili parametri di misura della qualità la dimensione delle particelle, la conduttività, l'indice di polidispersione e il potenziale zeta.

ATTIVITÀ BIOLOGICA DI FORMULAZIONI INSETTICIDE A BASE DI OLI ESSENZIALI

Lo sviluppo di formulazioni insetticide a base di oli essenziali ha avuto un apprezzabile sviluppo solo negli ultimi anni e l'attività insetticida *sensu lato* è stata valutata e verificata prendendo in considerazione sia la tossicità acuta nonché l'attività repellente. Una delle criticità nello sviluppo di formulazioni a base di oli essenziali è il limite di quantitativo di OE che può essere inglobato nella formulazione. GIUNTI *et al.* (2019) sono riusciti a sviluppare una nano-emulsione stabile contenente un'elevata (15%) quantità di Olio essenziale di *Citrus sinensis*. Questa formulazione insetticida presentava un elevato potenziale zeta ($\zeta > -30$ mV) e una dimensione media delle particelle di 131.7 ± 0.39 nm garantendo, oltre a una buona efficacia nei confronti di *Tribolium confusum* du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) e *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) (Coleoptera: Cucujidae), un'ottima stabilità di oltre un anno. Gli stessi Autori hanno inoltre evidenziato la potenzialità della distribuzione quale nebbia fredda di questa tipologia di nano-formulazioni.

La tipologia di formulazione insetticida può giocare un ruolo cruciale nell'incremento dell'efficacia inset-

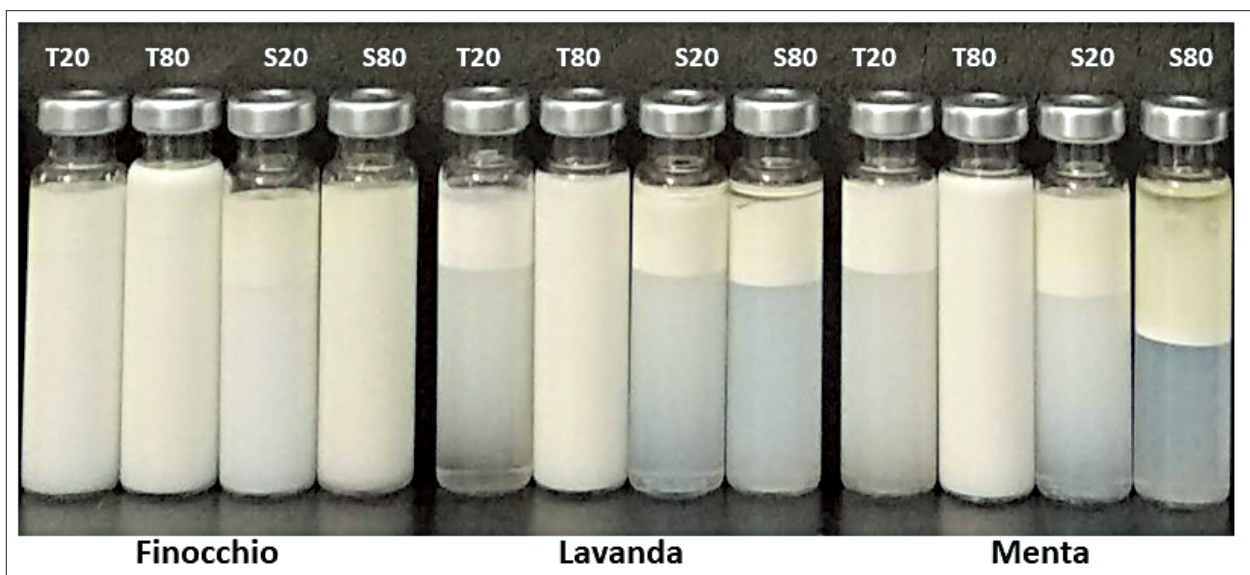


Fig. 1 - Effetto del surfattante sulla stabilità di nano-emulsioni a base di diversi oli essenziali. (T20= Tween20; T80= Tween80; S20=Span20; S80=Span80.)

ticida. CAMPOLO *et al.* (2017) hanno evidenziato una maggiore efficacia dell'olio essenziale di arancio dolce nei confronti di *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) quando questo veniva incapsulato in nanoparticelle di PEG 6000 rispetto a una emulsione contenente un quantitativo di OE dieci volte superiore. Analogamente nanoparticelle a base di diversi OE hanno evidenziato un incremento dell'efficacia, quando formulati in strutture polimeriche di PEG 6000, nei confronti di *Blattella germanica* L. (Blattodea, Blattellidae) (YEGUERMAN *et al.*, 2020). Simili risultati sono stati ottenuti da JESSER *et al.* (2020) i quali hanno evidenziato che una nano-emulsione a base di OE di geranio aveva la capacità di potenziare di quasi due volte l'attività insetticida dell'OE tal quale nei confronti di *Culex pipiens pipiens* Say (Diptera: Culicidae) e *Plodia interpunctella* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae). Inoltre, l'attivazione e l'impiego di caolino e terre di diatomee con olio essenziale di arancio dolce ha evidenziato come gli ingredienti delle formulazioni possono avere rispettivamente un effetto sinergico o antagonista nel controllare *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae) (CAMPOLO *et al.*, 2014).

L'ottenimento di particelle con dimensioni nanometriche, oltre a esplicare una maggiore efficacia nei confronti degli organismi bersaglio, può annullare, o mitigare, alcuni aspetti negativi propri degli OE.

Ad esempio, una emulsione instabile, caratterizzata da particelle di grandi dimensioni e alto indice di polidispersione risulta più fitotossica rispetto ad una stabile con particelle nanometriche e indice di polidispersione prossimo allo zero. Infatti, in una emulsione non stabile, si assiste a una rapida separazione delle fasi, anche a livello di gocce sulle foglie, con conseguente concentrazione dell'OE in una piccola superficie della foglia. Questo fenomeno si traduce nella formazione di spot necrotici sulle foglie trattate (Fig 2).

CONCLUSIONI

Nonostante l'enorme mole di sperimentazioni che impiegano gli oli essenziali quali insetticidi, solo pochi risultati presentano una reale applicabilità in condizioni operative. La maggior parte delle ricerche ha come scopo principale quello di determinare la tossicità acuta o la repellenza degli estratti vegetali in condizioni meramente di laboratorio, non considerando le possibilità applicative in condizioni reali. Ciononostante, la sperimentazione di principi attivi di origine vegetale, e in particolare degli OE, in condizioni di campo o di semi-campo deve confrontarsi preliminarmente con lo sviluppo di formulazioni adatte a tale scopo. Le scoperte nell'ambito delle

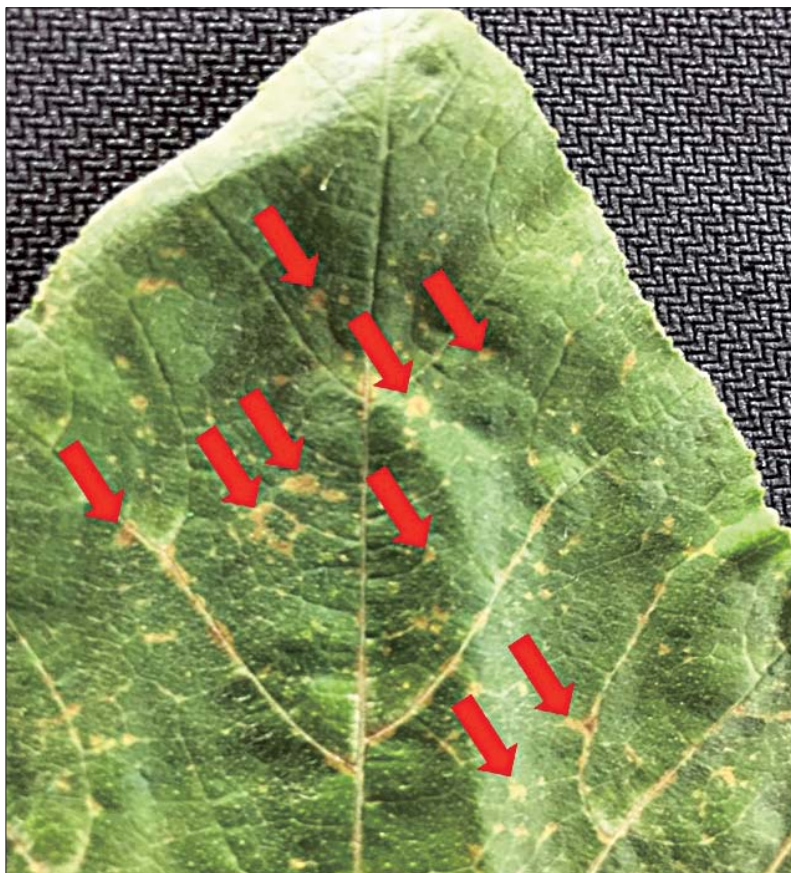


Fig. 2 – Fitotossicità indotta dall'accumulo localizzato di olio essenziale su foglia di zucchino.

nanotecnologie hanno determinato un rinnovato interesse da parte della comunità scientifica e dell'industria nei confronti dello sviluppo di formulazioni insetticide a base di OE e di altre sostanze di origine vegetale. Negli ultimi anni, si sta assistendo ad un numero crescente di pubblicazioni riguardanti lo sviluppo di nano-formulazioni di origine vegetale con attività insetticida nei confronti di insetti infestanti le derrate e le colture. La relativa economicità dei materiali, l'efficacia e l'ecosostenibilità di queste formulazioni rendono questa tipologia di nano-insetticidi candidati ideali come alternativa sostenibile ai pesticidi di sintesi comunemente utilizzati per il controllo degli insetti infestanti.

RIASSUNTO

L'uso di insetticidi a base di estratti botanici, e in particolare di oli essenziali (OE), sta suscitando un notevole interesse sia da parte dei ricercatori ma anche dei consumatori che richiedono alternative sostenibili ai pesticidi di sintesi. Gli OE garantiscono una maggiore sostenibilità economica ed ambientale e generalmente presentano una buona attività insetticida, dovuta al ruolo che svolgono per la difesa della pianta. Tuttavia, alcune caratteristiche chimico-fisiche di questi estratti possono inficiarne la reale applicabilità in condizioni operative. In tale ottica, la ricerca sta ponendo una crescente attenzione alla formulazione di pesticidi a base di OE che ne garantiscano la stabilità e la miscibilità in acqua.

In questo scenario, le nanotecnologie giocano un ruolo preminente. La formulazione degli OE in nano-emulsioni e l'incapsulamento con polveri inerti o in nano-particelle polimeriche posso garantire la stabilità dei principi attivi e aumentarne l'efficacia grazie ad un rilascio più graduale nel tempo. Questi nano-formulati hanno, come caratteristica principale, la dimensione nano-metrica, grazie alla quale le caratteristiche dei principi attivi possono essere incrementate o mitigate. Le nano-emulsioni e le nanoparticelle possono, anche, agire come *carrier* per gli OE, garantendo un rilascio controllato e graduale dei principi attivi per ottenere la massima efficacia biologica nei confronti degli organismi target. Il rilascio controllato dei principi attivi può essere programmato in base alle caratteristiche di degradabilità e di permeabilità del polimero o del surfattante utilizzato, i quali contemporaneamente svolgono una funzione protettiva nei confronti dei principi attivi. La riduzione dei principi attivi a particelle o micelle di dimensioni nanometriche, oltre ad esplicare una maggiore efficacia nei confronti degli organismi target, può anche mitigare o annullare eventuali effetti negativi nei confronti di altri organismi, come ad esempio ridurre la fitotossicità.

BIBLIOGRAFIA

- ABREU F., OLIVEIRA E.F., PAULA H.C.B., DE PAULA R.C.M., 2012 - *Chitosan/cashew gum nanogels for essential oil encapsulation*. - Carbohydr. Polym., 89:1277-1282.
- ALEMÁN J., CHADWICK A.V., HE J., HESS M., HORIE K., JONES R.G., KRATOCHVIL P., MEISEL I., MITAI, M.G., PENCZEK S., STEPTO R.F.T., 2007 - *Definitions of terms relating to the structure and processing of sols, gels, networks, and inorganic-organic hybrid materials (IUPAC Recommendations 2007)*. - Pure Appl. Chem., 79:1801-1809
- AUFFAN M., ROSE J., BOTTERO J.Y., LOWRY G.V., JOLIVET J.P., WIESNER M.R., 2009 - *Towards a definition of inorganic nanoparticles from an environmental, health and safety perspective*. - Nat. Nanotechnol., 4: 634-664.
- CAMPOLO O., CHERIF A., RICUPERO M., SISCARO G., GRISSA-LEBDI K., RUSSO A., CUCCI L.M., DI PIETRO P., SATRIANO C., DESNEUX N., BIONDI A., ZAPPALÀ L., PALMERI V., 2017 - *Citrus peel essential oil nanoformulations to control the tomato borer*, Tuta absoluta: *Chemical properties and biological activity*. - Scientific Reports, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13413-0>
- CAMPOLO O., ROMEO F. V., MALACRINÒ A., LAUDANI F., CARPINTERI G., FABRONI S., RAPISARDA P., PALMERI V., 2014 - *Effects of inert dusts applied alone and in combination with sweet orange essential oil against Rhyzopertha dominica (Coleoptera: Bostrichidae) and wheat microbial population*. - Ind. Crops and Prod., 61, 361-369. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.07.028>
- GHORMADE V., DESHPANDE M.V., PAKNIKAR P.M., 2011 - *Perspectives for nano-biotechnology enabled protection and nutrition of plants*. - Biotechnol. Adv., 29: 792-803.
- GIUNTI G., PALERMO D., LAUDANI F., ALGERI G.M., CAMPOLO O., PALMERI V., 2019 - *Repellence and acute toxicity of a nano-emulsion of sweet orange essential oil toward two major stored grain insect pests*. - Ind. Crops and Prod., 142. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111869>
- JESSER E., LORENZETTI A. S., YEGUERMAN C., MURRAY A. P., DOMINI C., WERDIN-GONZALES J.O., 2020 - *Ultrasound assisted formation of essential oil nanoemulsions: Emerging alternative for Culex pipiens pipiens Say (Diptera: Culicidae) and Plodia interpunctella Hübner (Lepidoptera: Pyralidae) management*. - Ultrason. sonochem., 61: 104832. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasonch.2019.104832>
- KAH M., BEULKE S., TIEDE K., HOFMANN T., 2013 - *Nano-pesticides: State of Knowledge, Environmental Fate, and Exposure Modeling*. - Crit. Rev. Environ. Sci. Technol., 43: 1823-1867.
- MCCLEMENTS D.J., 2012 - *Nanoemulsions versus microemulsions: Terminology, differences, and similarities*. In: Soft Matter (Vol. 8, Issue 6, pp. 1719–1729). <https://doi.org/10.1039/c2sm06903b>
- NGUYEN H.M., HWANG I.C., PARK J.W., PARK H.J., 2012 - *Photoprotection for deltamethrin using chitosan-coated beeswax solid lipid nanoparticles*. - Pest Manag. Sci., 68: 1062-1068.
- NIEMEYER C.M., DOZ P., 2001- *Nanoparticles, proteins, and nucleic acids: biotechnology meets materials science*. - Angew. Chem. Int. Ed., 40: 4128-4158.
- OSKAM G., 2006 - *Metal oxide nanoparticles: synthesis, characterization and application*. - J. Sol-Gel Sci. Technol., 7: 161-164.
- PAVELA R., 2015 - *Essential oils for the development of eco-*

- friendly mosquito larvicides: A review.* - Ind. Crops and Prod., 76: 174-187. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.06.050>
- PAVONI L., PAVELA R., CESPI M., BONACUCINA G., MAGGI F., ZENI V., CANALE A., LUCCHI A., BRUSCHI F., BENELLI G., 2019 - *Green Micro- and Nanoemulsions for Managing Parasites, Vectors and Pests.* - Nanomaterials, 9(9): 1285. <https://doi.org/10.3390/nano9091285>
- PUOCI F., LEMMA F., SPIZZIRRI U.G., CIRILLO G., CURCIO M., PICCI N., 2008 - *Polymer in agriculture: a review.* - Am. J. Agric. Biol. Sci., 3: 299-314.
- SASSON Y., LEVY-RUSO G., TOLEDANO O., ISHAAYA P.D.I., 2007 - *Insecticides Design Using Advanced Technologies* (eds Ishaaya, P. D. I., Horowitz, P. D. A. R. & Nauen, D. R.) 1-39; https://doi.org/10.1007/978-3-540-46907-0_1 (Springer Berlin Heidelberg).
- SHAKIL N.A., SINGH M.K., PANDEY A., KUMAR J., PANKAJ PARMAR V.S., SINGH M.K., PANDEY R.P., WATTERSON A.C., 2010 - *Development of poly- (ethylene glycol) based amphiphilic copolymers for controlled release delivery of carbofuran.* - J. Macromol. Sci. A Pure Appl. Chem., 47 241-247.
- SMITH S.E., BARKER S.J., ZHU Y.-G., 2006 - *Fast moves in arbuscular mycorrhizal symbiotic signalling.* - Trends in Plant Science, 11(8): 369-371. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2006.06.008>
- TORCHILIN V.P., 2006 - *Introduction. Nanocarriers for drug delivery: needs and requirements.* In: Torchilin V.P., (ed) Nanoparticles as drug carriers. Imperial College Press, London, pp 1-8
- TSUJI K., 2001 - *Microencapsulation of pesticides and their improved handling safety.* - J. Microencapsul., 18: 137-147.
- WALTERS D.R., 2010 - *Plant Defense: Warding off attack by pathogens, herbivores and parasitic plants.* In: Plant Defense: Warding off attack by pathogens, herbivores and parasitic plants. <https://doi.org/10.1002/9781444328547>
- YEGUERMAN C., JESSER E., MASSIRIS M., DELRIEUX C., MURRAY A.P., WERDIN GONZÁLEZ J. O., 2020 - *Insecticidal application of essential oils loaded polymeric nanoparticles to control German cockroach: Design, characterization and lethal/sublethal effects.* - Ecotox. and Environ. Saf., 189. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.110047>
- ZUZARTE M., SALGUEIRO L., SALGUEIRO L., ZUZARTE M., SALGUEIRO L., 2015 - *Essential Oils Chemistry What are Essential Oils?* 19. https://doi.org/10.1007/978-3-319-19144-7_2

IMPIEGO DEI FEROMONI PER LA GESTIONE DEGLI INFESTANTI NELLE INDUSTRIE ALIMENTARI

SARA SAVOLDELLI^a - LUCIANO SÜSS^a

^a Dipartimento di Scienze per gli Alimenti, la Nutrizione e l'Ambiente (DeFENS), Università degli Studi di Milano, Via G. Celoria 2, 20133 Milano; e-mail: sara.savoldelli@unimi.it

Lettura tenuta durante la Tavola Rotonda "Nuove tecnologie per la difesa delle derrate alimentari". Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 15 novembre 2019.

Pest management in food industries using pheromones

Nowadays pheromones are a part of integrated pest management programs to manage stored-product pests in warehouses and food industries. They are used for monitoring but also for direct control strategies as mass-trapping, mating-disruption and attracticide methods for beetle and moth pests associated with stored products. Some promising results that offer efficient detection and control of stored-product pests with pheromones are here reported.

KEY WORDS: pheromones, monitoring, mating disruption, attract-and-kill, stored-product pests

INTRODUZIONE

I semiochimici sono sostanze chimiche a basso peso molecolare che regolano vari aspetti della vita di relazione degli insetti sia a livello intraspecifico (feromoni) che interspecifico (allomoni). Tali sostanze possono essere utilizzate come mezzi di lotta indiretta (monitoraggio) e diretta nei confronti degli insetti (cattura massale, lotta attratticida, confusione sessuale, disorientamento) (TREMBLAY & ROTUNDO, 1980; ROTUNDO & GERMINARA, 2015). I feromoni sono generalmente considerati più sicuri rispetto agli insetticidi tradizionali, in quanto di origine naturale, altamente specifici, e poco tossici verso i mammiferi. Per tali caratteristiche, soprattutto nel settore delle derrate, l'impiego di feromoni di aggregazione e sessuali per il controllo degli infestanti è considerata una delle tecniche attualmente più promettenti (FIELDS & WHITE, 2002; PHILIPS & THRONE, 2010). In tale settore, infatti, sono stati compiuti considerevoli progressi, non solo nelle tecniche di monitoraggio, ma anche nell'impiego dei feromoni come mezzi diretti di lotta (COX, 2004; ANDERBRANT *et al.*, 2007). Sono infatti ormai trascorsi oltre quarant'anni da quando KUWAHARA *et al.* (1971) e BRADY *et al.* (1971) identificarono il (Z,E) 9-12 tetradecanilacetato, o TDA, come principale attrattivo dei Lepidotteri *Ephestia kuehniella* Zeller, *Plodia interpunctella* (Hübner), *Cadra cautella* (Walker), *Ephestia elutella* (Hübner). Da allora si sono succedute, sia all'estero che in Italia gran numero di ricerche volte inizialmente alla messa a punto di un razionale monitoraggio di questi insetti, tanto che attualmente sono disponibili

in commercio erogatori di feromoni per più di 30 specie di insetti delle derrate (SWORDS & VAN RYCKEGHEM, 2010a; SWORDS & VAN RYCKEGHEM, 2010b). Successivamente si è cercato di realizzare anche nelle industrie alimentari quanto già si attuava, e tuttora si realizza, in agricoltura per il controllo di alcuni insetti gravemente infestanti, utilizzando i feromoni come mezzi diretti di lotta.

Una sostanziale differenza tra le pratiche attuabili in agricoltura e quelle proprie delle industrie alimentari è che in agricoltura si punta a ridurre le infestazioni sino al raggiungimento di una "soglia di tolleranza"; ciò non è però possibile a livello industriale, in quanto in tal caso la "soglia" è di solito pari a zero, dovendo fare i conti sia con il consumatore finale, che non tollera alcuna traccia di infestazione, che con il legislatore, che considera gli attacchi parassitari come una responsabilità grave e penalmente perseguibile. I metodi applicati nelle industrie alimentari mirano quindi ad interferire con l'attività riproduttiva della specie dannosa, all'interno di una gestione integrata, che mira inoltre a prevenire i fattori che contribuiscono all'insediamento e allo sviluppo degli infestanti. I feromoni possono essere utilizzati per la cattura massale (*mass trapping*), la confusione sessuale e per metodi attratticidi.

CATTURE MASSALI O MASS TRAPPING

La tecnica del *mass trapping* ha lo scopo di eliminare dall'ambiente il maggior numero possibile di insetti al fine di ridurre i livelli di popolazione dell'infestante.

A tal fine sono utilizzate opportune trappole, in grado di contenere un elevato numero di insetti, attivate con feromone. La tecnica è principalmente utilizzata per il controllo dei lepidotteri delle derrate e si basa sull'impiego del feromone sessuale prodotto dalle femmine per attirare i maschi. Il *mass trapping* richiede l'applicazione di un numero di trappole adeguato a catturare i maschi presenti nell'ambiente, in modo da limitare al massimo la frequenza degli accoppiamenti. Per applicare con successo tale tecnica occorre conoscere il rapporto tra maschi e femmine e il numero potenziale di femmine con cui un maschio si può accoppiare. Per esempio, un maschio di *Plodia interpunctella* (Hübner) durante la sua vita può accoppiarsi con 6-10 femmine. In questo caso, più del 90% della popolazione maschile può essere catturata senza che vi sia alcun effetto sul numero di femmine fecondate, e quindi, sulla successiva generazione (SOWER *et al.*, 1975). Risultati apprezzabili si possono raggiungere con una bassa densità di popolazione, così che i maschi possano incontrare le femmine con minor frequenza e il *mass trapping* possa significativamente contribuire a limitare la popolazione e i danni conseguenti.

Diversi studi hanno cercato di verificare l'efficacia di questa tecnica riferendo di successi nei confronti di *C. cautella* negli Stati Uniti, di *P. interpunctella* in un magazzino di semi in Francia, *E. kuehniella* in alcuni mulini italiani, di *Lasioderma serricorne* (F.) e *P. interpunctella* in due magazzini di stoccaggio nelle Hawaii, di *L. serricorne* in magazzini di stoccaggio del tabacco in Grecia e in una fabbrica di sigarette in Portogallo, oltre che in un panificio alle Hawaii (FLEURAT-LESSARD *et al.*, 1986; TREMATERRA, 1990; BUCHELOS & LEVINSON, 1993; PIERCE, 1994; TREMATERRA, 1994; SÜSS *et al.*, 1996; CARVALHO & MEXIA, 2002; CARVALHO *et al.*, 2006; TREMATERRA & GENTILE, 2010).

Le esperienze pratiche hanno evidenziato che il successo della tecnica del *mass trapping* può essere ridotto da alcuni fattori come un inefficace design della trappola, la saturazione delle stesse, specialmente in situazioni di elevata densità di popolazione, un'inefficace o una breve durata del rilascio di feromone, l'attrazione di un solo sesso, la posizione inadeguata delle trappole, un'immigrazione di individui dall'esterno.

Un'altra possibilità di richiamare gli insetti nelle trappole è tramite l'utilizzo di attrattivi alimentari. Alcuni di essi hanno il vantaggio di essere attrattivi sia per le larve che per gli adulti di entrambi i sessi, anche se non risulta che siano stati utilizzati in programmi di catture massali per gli insetti delle derrate (COX, 2004). Gli attrattivi alimentari potrebbero però essere usati in combinazione con i feromoni, per aumentare l'efficacia dei sistemi di cattura massale (PHILIPS *et al.*, 1993; LIKHAYO & HODGES, 2000).

In Italia, sono state effettuate diverse applicazioni di *mass trapping*, spesso in combinazione con altre tecniche di lotta, per il controllo di *E. kuehniella* (TREMATERRA & BATTAINI, 1987; TREMATERRA, 1989; 1990; SÜSS *et al.*, 1996; TREMATERRA & GENTILE, 2010).

CONFUSIONE SESSUALE O *MATING DISRUPTION*

Questa tecnica ha lo scopo di evitare o limitare l'incontro tra i sessi interferendo sulla percezione e la risposta comportamentale del maschio al feromone emesso dalla femmina. I feromoni vengono rilasciati nell'ambiente tramite dispenser a lento rilascio o utilizzando formulazioni spray che nebulizzano il feromone nell'ambiente (BURKS *et al.*, 2011).

Più recentemente, anche per i lepidotteri delle derrate, è stato introdotto il metodo dell'auto-confusione. I maschi sono attratti da erogatori che contengono una cera in polvere attivata con feromone. Il contatto dell'insetto con l'erogatore determina l'adesione della polvere, caricata elettrostaticamente, alla sua cuticola. I maschi così contaminati perdono la capacità di percepire il feromone delle femmine per la desensibilizzazione dei propri sensilli chemiorecettori e, divenendo essi stessi attrattivi, muovendosi nell'ambiente, distraggono gli altri maschi durante la ricerca della femmina (HOWSE, 2005; HOWSE & MACDONALD, 2005; HUGGETT *et al.*, 2010).

Nell'ambito della difesa delle derrate vi sono diversi studi che riportano esperienze dell'applicazione delle tecniche di *mating disruption*, sia in laboratorio che in campo, nei confronti di Lepidotteri quali *P. interpunctella*, *C. cautella*, *E. kuehniella*, *Sitotroga cerealella* (Olivier) (SOWER & WITMER, 1977; VICK *et al.*, 1978; HODGES *et al.*, 1984; PREVET *et al.*, 1989; MAFRANETO & BAKER, 1996; SÜSS *et al.*, 1999; BURKS *et al.*, 2011; RYNE *et al.*, 2001; SHANI & CLEARWATER, 2001; FADAMIRO & BAKER, 2002; RYNE *et al.*, 2006; RYNE *et al.*, 2007; SIEMINSKA *et al.*, 2009; PEASE & STORM, 2010; SAVOLDELLI & SÜSS, 2010; TREMATERRA *et al.*, 2011; BURKS & KUENEN, 2012; TREMATERRA & SAVOLDELLI, 2013; TREMATERRA & SPINA, 2013; TREMATERRA *et al.*, 2013; ATHANASSIOU *et al.*, 2016; TREMATERRA *et al.*, 2017) e dei Coleotteri *Attagenus unicolor* (Brahm) (BURKHOLDER, 1973) e, più recentemente, nei confronti di *L. serricorne* (MAHROOF & PHILLIPS, 2014).

L'efficacia della tecnica dipende da diversi fattori tra cui, molto importante, è la densità di popolazione del fitofago. Diverse esperienze, infatti, hanno dimostrato che l'efficacia del metodo si riduce in presenza di un'elevata densità iniziale del fitofago evidenziando la necessità di applicare gli erogatori già a basse densità

di popolazione. Tra i limiti della confusione sessuale vi è da segnalare il fatto che non si può controllare l'immigrazione di femmine fecondate da altre aree, che possono così ovideporre e perpetuare l'infestazione (CARDÈ & MINKS, 1995).

Non vi sono chiare indicazioni che l'efficacia della tecnica della confusione sessuale possa variare con la specie di lepidottero contro la quale si applica, pertanto è da ritenere che gli erogatori disponibili in commercio abbiano lo stesso livello di efficacia per *E. kuehniella*, *P. interpunctella* e *C. cautella* (TREMATERRA *et al.*, 2011). L'uso di un singolo componente del feromone, (Z,E)-9,12-tetradecadienil acetato, per trattare tutte e tre le specie è indubbiamente un vantaggio ulteriore nell'uso di questa tecnica (ANDERBRANT *et al.*, 2009) soprattutto nel lungo periodo.

Le esperienze pratiche hanno fatto emergere la difficoltà a confrontare i risultati ottenuti anche sulla medesima specie, in realtà operative diverse, ed è per questo motivo che si è reso necessario utilizzare metodi alternativi al solito monitoraggio, in quanto la riduzione delle catture di maschi nelle trappole non è un diretto indicatore del successo del trattamento.

Sono stati quindi sperimentati altri sistemi di monitoraggio come il posizionamento di ovitrappole per verificare l'attività delle femmine; l'utilizzo di trappole ad acqua, che attraggono sia maschi che femmine, per verificare la diminuzione della popolazione anche con questo sistema di cattura; l'utilizzo di femmine sentinella e la dissezione in laboratorio delle stesse per verificare la presenza di spermatofore e valutarne lo stato di fecondazione o vergini (RYNE *et al.*, 2006; SAVOLDELLI & SÜSS, 2010; BURKS *et al.*, 2011; TREMATERRA & SAVOLDELLI, 2013; TREMATERRA *et al.*, 2017).

METODO ATTRATTICIDA O ATTRACT AND KILL

Il metodo attratticida è basato sul principio di attrarre gli insetti, per mezzo di feromoni o altri semiochimici, in un punto specifico, in cui entrino in contatto con un insetticida o vengano contaminati con qualche tipo di patogeno. Tale tecnica è particolarmente interessante per la possibilità di ridurre il quantitativo di insetticidi da utilizzare nei diversi reparti delle industrie alimentari e nelle aree di stoccaggio degli alimenti. Risultati positivi sono stati riportati in mulini e industrie dolciarie per il controllo di *E. kuehniella* e *C. cautella*, in Italia, e per il controllo di *L. serricorne* in magazzini alimentari alle Hawaii (TREMATERRA & CAPIZZI, 1991; PIERCE, 1994; TREMATERRA, 1995; 1997; SÜSS *et al.*, 1999), così come nei confronti di *P. interpunctella* negli Stati Uniti (NANSEN & PHILLIPS, 2002; 2004; CAMPOS & PHILLIPS, 2010; 2014).

CONCLUSIONI

Le diverse esperienze di ricerca applicata nell'ambito della difesa delle derrate indicano che il crescente impiego dei feromoni nella gestione dei parassiti delle derrate può contribuire alla gestione delle infestazioni e alla riduzione del numero di trattamenti chimici, ma non può essere considerato come l'unico metodo di difesa antiparassitaria. Tali tecniche devono infatti essere considerate parte di programmi di lotta integrata, in ragione del fatto che i Lepidotteri Piraloidi Ficitidi non sono gli unici infestanti di questi ambienti.

BIBLIOGRAFIA

- ANDERBRANT O., RYNE C., OLSSON P.O.C., JIRLE E., JOHNSON K., LÖFSTEDT C., 2007 – *Pheromones and kairomones for detection and control of indoor pyralid moths*. - IOBC/WPRS Bulletin, 30: 73-77.
- ANDERBRANT O., RYNE C., SIEMINSKA E., SVENSSON G.P., OLSSON P.O.C., JIRLE E., LÖFSTEDT C., 2009 – *Odour signals for detection and control of indoor pyralid moths*. - IOBC/WPRS Bulletin, 41: 69-74.
- ATHANASSIOU C.G., KAVALLIERATOS N.G., SCIARRETTA A., TREMATERRA P., 2016 – *Mating disruption of Ephestia kuehniella (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) in a storage facility: spatio-temporal distribution changed after long-term application*. - Journal of Stored Product Research, 67: 1-12.
- BRADY U.E., TUMLINSON J.H., BROENLEE R.G., SILVERSTEIN R.M., 1971 – *Sex stimulant and attractant in the Indian meal moth and in the almond moth*. - Science, 171 (3973): 802-804.
- BUCHELOS C.T., LEVINSON A.R., 1993 – *Efficacy of multisurface traps and Lasiotrap with and without pheromone addition, for monitoring and mass-trapping of Lasioderma serricorne F. (Col., Anobiidae) in insecticide-free tobacco stores*. - Journal of Applied Entomology, 116: 404-448.
- BURKHOLDER W.E., 1973 – *Black carpet beetle: Reduction of mating by megatomid acid, the sex pheromone*. - Journal of Economic Entomology, 66: 1372.
- BURKS C.S., KUENEN L.P.S., 2012 – *Effect of mating disruption and lure load on the number of Plodia interpunctella (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) males captured in pheromone traps*. - Journal of Stored Products Research, 49: 189-195.
- BURKS C.S., McLAUGHLIN J.R., MILLER J.R., BRANDL D.G., 2011 – *Mating disruption for control of Plodia interpunctella (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) in dried beans*. - Journal of Stored Products Research, 47(3): 216-221.
- CAMPOS M., PHILLIPS T. W., 2010 – *Contact toxicity of insecticides for attract and kill applications against adult Plodia interpunctella (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae)*. - Pest Management Science, 66 (7): 752-761.
- CAMPOS M., PHILLIPS T. W., 2014 – *Attract-and-kill and other pheromone-based methods to suppress populations of the Indian meal moth (Lepidoptera: Pyralidae)*. - Journal of Economic Entomology, 107 (1): 473-480.
- CARDÈ R.T., MINKS A.K., 1995 – *Control of moth pests by mating disruption: successes and constraints*. - Annual Review of Entomology, 40: 559-585.
- CARVALHO M. O., SANTOS F., MEXIA A., TORRES L., 2006 – *Use of pheromone traps to assess Lasioderma serricorne (F.) (Coleoptera: Anobiidae) infestation in a cigarette factory*

- on the Cape Verde islands. - *African Entomology*, 14 (2): 307-315.
- CARVALHO M.O., MEXIA A., 2002 – *The use of pheromone traps for mass-trapping of Lasioderma serricorne in a cigarette factory in Portugal*. - Proceedings of the 8th International Working Conference on Stored-Product Protection, York: 222-229.
- COX P.D., 2004 – *Potential for using semiochemicals to protect stored products from insect infestation*. - *Journal of Stored Products Research*, 40: 1-25.
- FADAMIRO H.Y., BAKER T.C., 2002 – *Pheromone puffs suppress mating by Plodia interpunctella and Sitotroga cerealella in an infested corn store*. - *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 102: 239-251.
- FIELDS P.G., WHITE N.D.G., 2002 – *Alternatives to methyl bromide treatments for stored-product and quarantine insects*. - *Annual Review of Entomology*, 47: 331-359.
- FLEURAT-LESSARD F., PIMAUD M.F., CANGARDEL H., 1986 – *Effets de doses élevées de Zeta sur Plodia interpunctella Huebner (Lépidoptère: Pyralidae) dans le stocks de pruneaux d'anguin*. In: *Les Pheromones Sexuelles des Lépidoptères*. Centre de recherches INRA de Bordeaux: 163-169.
- HODGES R.J., BENTON F.P., HALL D.R., DOS SANTOS SERODIO R., 1984 – *Control of Ephestia cautella (Walker) (Lepidoptera: Phycitidae) by synthetic sex pheromone in the laboratory and store*. - *Journal of Stored Products Research*, 20: 191-197.
- HOWSE P., 2005 – *Prevention of mating by auto confusion: new pest management technology using electrostatic powders*. - *IOBC/WPRS Bulletin*, 28: 477-478.
- HOWSE P., MACDONALD K., 2005 – *Mechanisms of the Exosect auto-confusion technique*. - *IOBC/WPRS Bulletin*, 28: 309-312.
- HUGGETT N.J., STORM C.G., SMITH M.J., 2010 – *Behavioural effects of pheromone-based control system, ExosexTM SPTab, on male Indianmeal moth, Plodia interpunctella*. In: Carvalho M.O., Fields P.G., Adler C.S., Arthur F.H., Athanassiou C.G., Campbell J.F., Fleurat-Lessard F., Flinn P.W., Hodges R.J., Isikber A.A., Navarro S., Noyes R.T., Riudavets J., Sinha K.K., Thorpe G.R., Timlick B.H., Trematerra P., White N.D.G. (Eds.), *Proceedings of the 10th International Working Conference on Stored-Product Protection*, 27 June - 2 July, Estoril. Julius Kühn Institut, Berlin: 119-124.
- KUWAHARA Y., HARA H., ISHII S., FUKAMI H., 1971 – *The sex pheromone of the Mediterranean flour moth*. - *Agr. Biol. Chem.*, 35: 447.
- LIKHAYO, P.W., HODGES, R.J., 2000 – *Field monitoring Sitophilus zeamais and Sitophilus oryzae using refuge and flight traps baited with synthetic pheromone and cracked wheat*. - *Journal of Stored Products Research*, 36: 341-353.
- MAFRA-NETO A., BAKER T.C., 1996 – *Timed metered sprays of pheromone disrupt mating of Cadra cautella (Lepidoptera: Pyralidae)*. - *Journal of Agricultural Entomology*, 13: 149-168.
- MAHROOF R.M., PHILLIPS T.W., 2014 – *Mating disruption of Lasioderma serricorne (Coleoptera: Anobiidae) in stored product habitats using the synthetic pheromone serricornin*. - *Journal of Applied Entomology*, 138(5): 378-386.
- NANSEN C., PHILLIPS T.W., 2002 – *Attracticide for control of Indianmeal Moth, Plodia interpunctella (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae)*. In: *Proceedings of the 8th International Working Conference on Stored-Product Protection*, New York: 306-310.
- NANSEN C., PHILLIPS T.W., 2004 – *Attractancy and toxicity of an attracticide for the Indianmeal moth, Plodia interpunctella (Lepidoptera: Pyralidae)*. - *Journal of Economic Entomology*, 97: 703-710.
- PEASE G., STORM C.G., 2010 – *Efficacy of pheromone-based control system, ExosexTM SPTab, against moth pests in European food processing facilities*. - In: Carvalho M.O., Fields P.G., Adler C.S., Arthur F.H., Athanassiou C.G., Campbell J.F., Fleurat-Lessard F., Flinn P.W., Hodges R.J., Isikber A.A., Navarro S., Noyes R.T., Riudavets J., Sinha K.K., Thorpe G.R., Timlick B.H., Trematerra P., White N.D.G. (Eds.), *Proceedings of the 10th International Working Conference on Stored-Product Protection*, 27 June - 2 July, Estoril. Julius Kühn Institut, Berlin: 183-189.
- PHILLIPS T.W., JIANG X.L., BURKHOLDER W.E., PHILLIPS J.K., TRAN, H.Q., 1993 – *Behavioural responses to food volatiles by two species of stored-product Coleoptera, Sitophilus oryzae and Tribolium castaneum*. - *Journal of Chemical Ecology*, 19: 723-734.
- PHILLIPS T.W., THRONE J.E., 2010 – *Biorational approaches to managing stored-product insects*. - *Annual Review of Entomology*, 55: 375-397.
- PIERCE L.H. 1994 – *Using pheromones for the location and suppression of phycitid and cigarette beetles in Hawaii – a five-year summary*. - *Proceedings 6th International Working Conference on Stored-Product Protection*, Canberra 1994: 439-433.
- PREVETT P.F., BENTON F.P., HALL D.R., HODGES R.J., DOS SANTOS SERODIO R., 1989 – *Suppression of mating in Ephestia cautella (Walker) (Lepidoptera: Phycitidae)*. - *Journal of Stored Products Research*, 25: 147-154.
- ROTUNDO G., GERMINARA G.S., 2015 – *I semiochimici in agricoltura*. - *Atti della Accademia dei Georgofili, Serie VIII*, vol. 12: 25-41.
- RYNE C., EKEBERG M., JONZÉN N., OEHLISCHLAGER C., LÖFTEDT C., ANDERBRANT O., 2006 – *Reduction in an almond moth Ephestia cautella (Lepidoptera: Pyralidae) population by means of mating disruption*. - *Pest Management Science*, 62: 912-918.
- RYNE C., SVENSSON G.P., ANDERBRANT O., LÖFTEDT C., 2007 – *Evaluation of long-term mating disruption of Ephestia kuehniella and Plodia interpunctella (Lepidoptera: Pyralidae) in indoor storage facilities by pheromone traps and monitoring of relative aerial concentrations of pheromone*. - *Journal of Economic Entomology*, 100: 1017-1025.
- RYNE C., SVENSSON G.P., LÖFSTEDT C., 2001 – *Mating disruption of Plodia interpunctella in small-scale plots: effects of pheromone blend, emission rates and population density*. - *Journal of Chemical Ecology*, 27: 2109-2124.
- SAVOLDELLI S., SÜSS L., 2010 – *Integrated control of Ephestia cautella (Walker) in a confectionary factory*. In: Carvalho M.O., Fields P.G., Adler C.S., Arthur F.H., Athanassiou C.G., Campbell J.F., Fleurat-Lessard F., Flinn P.W., Hodges R.J., Isikber A.A., Navarro S., Noyes R.T., Riudavets J., Sinha K.K., Thorpe G.R., Timlick B.H., Trematerra P., White N.D.G. (Eds.), *Proceedings of the 10th International Working Conference on Stored-Product Protection* 27 June - 2 July, 2010 Estoril. Julius Kühn Institut, Berlin: 991-992.
- SHANI A., CLEARWATER J., 2001 – *Evasion of mating disruption in Ephestia cautella (Walker) by increased pheromone production relative to that of undisturbed populations*. - *Journal of Stored Products Research*, 37: 237-252.
- SIEMINSKA E., RYNE C., LÖFSTEDT C., ANDERBRANT O., 2009 – *Long-term pheromone mediated mating disruption of the Mediterranean flour moth, Ephestia kuehniella, in a flour mill*. - *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 131: 294-299.
- SOWER L.L., WITMER G.P., 1977 – *Population growth and mating success of Indianmeal moths and Almond moths in the presence of synthetic sex pheromone*. - *Environmental Entomology*, 6: 17-20.

- SOWER L.L., TURNER W.K., FISH J.C., 1975 – *Population-density-dependent mating frequency among Plodia interpunctella (Lepidoptera: Phycitidae) in the presence of synthetic sex pheromone with behavioral observations.* - Journal of Chemical Ecology, 1: 335-342.
- SÜSS L., LOCATELLI D.P., MARRONE R., 1996 – *Possibilities and limits of mass trapping and mating disruption techniques in the control of Ephestia kuehniella (Zell.) (Lepidoptera Phycitidae).* - Bollettino di Zoologia agraria e di Bachicoltura, 28: 77-89.
- SÜSS L., LOCATELLI D.P., MARRONE R., 1999 – *Mating suppression of the Mediterranean flour moth (Ephestia kuehniella Zeller) (Lepidoptera Pyralidae) in a food industry.* - Bollettino di Zoologia agraria e di Bachicoltura, 31: 59-66.
- SWORDS P., VAN RYCKEGHEM A., 2010a – *Summary of commercially available pheromones of common stored-product beetles.* In: Carvalho M.O., Fields P.G., Adler C.S., Arthur F.H., Athanassiou C.G., Campbell J.F., Fleurat-Lessard F., Flinn P.W., Hodges R.J., Isikber A.A., Navarro S., Noyes R.T., Riudavets J., Sinha K.K., Thorpe G.R., Timlick B.H., Trematerra P., White N.D.G. (Eds.), Proceedings of the 10th International Working Conference on Stored-Product Protection 27 June - 2 July, 2010 Estoril. Julius Kühn Institut, Berlin: 1004-1007.
- SWORDS P., VAN RYCKEGHEM A., 2010b – *Summary of commercially available pheromones of common stored-product moths.* In: Carvalho M.O., Fields P.G., Adler C.S., Arthur F.H., Athanassiou C.G., Campbell J.F., Fleurat-Lessard F., Flinn P.W., Hodges R.J., Isikber A.A., Navarro S., Noyes R.T., Riudavets J., Sinha K.K., Thorpe G.R., Timlick B.H., Trematerra P., White N.D.G. (Eds.), Proceedings of the 10th International Working Conference on Stored-Product Protection 27 June - 2 July, 2010 Estoril. Julius Kühn Institut, Berlin: 1008-1010.
- TREMATERRA P., GENTILE P., 2010 – *Five years of mass trapping of Ephestia kuehniella Zeller: a component of IPM in a flour mill.* - Journal of Applied Entomology 2010, 134:149-156.
- TREMATERRA P., 1994 – *Control of Ephestia kuehniella Zeller by sex pheromones in the flour mills.* - Anzeiger für Schadlingskunde Pflanzenschutz Umweltschutz, 67:74-77.
- TREMATERRA P., 1989 – *Pheromone trapping and mating disruption leading to insectistasis.* - Boletín de Sanidad Vegetal, 17: 495-510.
- TREMATERRA P., 1990 – *Population dynamic of Ephestia kuehniella Zeller in a flour mill: three years of mass-trapping.* - Proc. 5th Int. Working Conf. Stored- Product Protection, Bordeaux: 1435-1443.
- TREMATERRA P., 1995 – *The use of attracticide method to control Ephestia kuehniella Zeller in flour mills.* - Anz Schadlingsk Pflanzenschutz Umweltschutz, 68: 69-73.
- TREMATERRA P., 1997 – *Integrated pest Management of stored-product insects: practical utilization of pheromones.* - Anz Schadlingsk Pflanzenschutz Umweltschutz, 70: 41-44.
- TREMATERRA P., ATHANASSIOU C., STEJSKAL V., SCIARRETTA A., KAVALLIERATOS N., PALLYOS N., 2011 – *Large scale mating disruption of Ephestia spp. and Plodia interpunctella in Czech Republic, Greece and Italy.* - Journal of Applied Entomology, 135: 749-762.
- TREMATERRA P., ATHANASSIOU C.G., SCIARRETTA A., KAVALLIERATOS N.G., BUCHELOS C.T., 2013 – *Efficacy of the auto-confusion system for mating disruption of Ephestia kuehniella (Zeller) and Plodia interpunctella (Hübner).* - Journal of Stored Products Research, 55: 90-98.
- TREMATERRA P., BATTAINI F., 1987 – *Control of Ephestia kuehniella Zeller by mass-trapping.* - Journal of Applied Entomology, 104: 336-340.
- TREMATERRA P., CAPIZZI A., 1991 – *Attracticide method in the control of Ephestia kuehniella Zeller: studies on effectiveness.* - Journal of Applied Entomology, 111: 451-456.
- TREMATERRA P., GENTILE P., 2010 – *Five years of mass trapping of Ephestia kuehniella Zeller: a component of IPM in a flour mill.* - Journal of Applied Entomology, 134: 149-156.
- TREMATERRA P., OLIVIERO A., SAVOLDELLI S., SCHOELLER M., 2017 – *Controlling infestation of a chocolate factory by Plodia interpunctella (Hübner) by combining mating disruption and the parasitoid Habrobracon hebetor (Say).* - Insect Science, 24 (3): 503-510.
- TREMATERRA P., SAVOLDELLI S., 2013 – *The use of water traps and presence of spermatophores to evaluate mating disruption in the almond moth, Ephestia cautella, during exposure to synthetic sex pheromone.* - Journal of Pest Science, 86 (2): 227-233.
- TREMATERRA P., SPINA G., 2013 – *Mating-disruption trials for control of Mediterranean flour moth, Ephestia kuehniella Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), in traditional flour mills.* - Journal of Food Protection, 76 (3): 456-461.
- TREMBLAY E., ROTUNDO G., 1980 – *I feromoni. Prospettive di controllo biologico degli insetti in agricoltura.* - Consiglio Nazionale delle Ricerche AQ/1: 51-56.
- VICK K.W., COFFELT J.A., SULLIVAN M.A., 1978 – *Disruption of pheromone communication in the Angoumois grain moth with synthetic female sex pheromone.* - Environmental Entomology, 7:528-531.

218 - Pagina bianca

EFFETTO DEL TRATTAMENTO CON POLVERI INERTI SULLE INTERAZIONI SEMIOCHIMICHE INSETTO - PIANTA OSPITE

GIACINTO SALVATORE GERMINARA ^a - MARCO PISTILLO ^a - ANTONIO DE CRISTOFARO ^b
GIUSEPPE ROTUNDO ^b

^a Dipartimento di Scienze Agrarie, degli Alimenti e dell'Ambiente, Università degli Studi di Foggia, Via Napoli 25, 71122 Foggia;
e-mail: giacinto.germinara@unifg.it

^b Dipartimento di Agricoltura, Ambiente e Alimenti, Università degli Studi del Molise, Via De Sanctis, 86100 Campobasso: rotundo@unimol.it
Lettura tenuta durante la Tavola Rotonda "Nuove tecnologie per la difesa delle derrate alimentari". Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze,
15 novembre 2019.

Effect of inert dust treatment on insect-host plant semiochemical interactions

Inert dusts are a wide variety of dry powders, chemically non-reactive in nature, whose use for stored products protection has ancient origins. In recent years, the increased demand for healthy and safe food and the legislative limitations on the use of synthetic insecticides are increasing the interest for the application of inert dusts in Integrated Pest Management (IPM) strategies for storage pests. The main mode of action of inert dusts towards arthropods is the absorption and abrasion of the epicuticular waxes causing an excessive and irreversible body water loss and ultimately the arthropod's death by desiccation. Further effects of inert dusts towards insects, still little investigated, include interference with their reproductive activity, growth of pre-imaginal stages, host-plant location capability. The olfactory responses of *Sitophilus granarius* (L.) adults to untreated and kaolin-treated wheat kernels have been investigated by behavioral, electrophysiological, and chemical analyses. Kaolin used to treat kernels absorbed wheat volatile compounds which were perceived by the antennal olfactory system of adult insects. As a result, the insects' capability to orient towards the host substrate was significantly reduced strongly suggesting interference with chemical communication in insect-host plant interactions as a further mode of action of inert dusts.

KEY WORDS: granary weevil, kaolin, host-plant location, wheat volatiles, behavioral bioassays.

INTRODUZIONE

Negli ultimi anni, la sempre maggiore attenzione posta dall'opinione pubblica alle problematiche di inquinamento ambientale e di sicurezza alimentare ha determinato una crescente domanda di alimenti ottenuti con metodi ecosostenibili. Le drastiche limitazioni legislative imposte all'uso di insetticidi di sintesi in post-raccolta, inoltre, sta complicando il già grave problema della resistenza degli infestanti alle poche molecole insetticide ancora autorizzate. In tale contesto, la gestione degli infestanti è sempre più indirizzata verso l'adozione di strategie di controllo integrato, basate principalmente sull'impiego di mezzi di lotta a basso impatto tra cui le polveri inerti.

In generale, viene definita "polvere inerte" una polvere secca, di varia origine, chimicamente non reattiva in natura (SUBRAMANYAM e ROESLI, 2000). Oltre che per la protezione delle piante e dei loro prodotti da vari agenti biotici (microrganismi, artropodi) e abiotici (stress idrico, caldo) di danno, le polveri inerti trovano applicazione nel settore agro-alimentare anche per il miglioramento delle caratteristiche dei suoli (capacità di ritenzione idrica, adsorbimento di elementi nutritivi,

riduzione del contenuto di metalli pesanti), il rilascio controllato di input chimici (fertilizzanti, erbicidi, geodisinfestanti), in alcuni processi di trasformazione (filtrazione e chiarificazione di bevande) e come additivi alimentari. Relativamente a quest'ultimo aspetto, va evidenziato che la Food and Drug Administration degli Stati Uniti classifica diverse polveri inerti come composti "Generally Recognised as Safe" (FDA GRAS listings, 2006).

L'utilizzo delle polveri inerti per la protezione delle derrate dagli attacchi degli artropodi ha origini antichissime e viene fatto risalire agli Aztechi dell'antico Messico (GOLOB, 1997). Secondo BANKS e FIELDS (1995), le polveri inerti utilizzate per la protezione delle derrate possono essere suddivise in quattro gruppi. Il primo comprende argille, sabbie e ceneri tra cui caolino, attapulgite, cenere vulcaniche, ceneri della combustione di materiale vegetale. Il secondo include minerali e sali tra cui dolomite, magnesite, rocce fosfatiche, zolfo in polvere, ossicloruro di rame, idrossido di calcio, carbonato di calcio, cloruro di sodio. Il terzo comprende le polveri sintetiche di silice, caratterizzate da un contenuto di SiO₂ superiore al 99,5%, tra cui gel di silice e trisilicofosfati di calcio. Il quarto gruppo, infine, include le polveri naturali di

silice rappresentate fondamentalmente dalle terre di diatomee e dalle zeoliti.

Numerosi studi hanno evidenziato le proprietà biocide, nei confronti di acari e insetti infestanti le derrate, di polveri appartenenti ai suddetti gruppi (SUBRAMANYAM e ROESLI, 2000; ATHANASSIOU e ARTHUR, 2018). Da tali studi è emerso che le argille, sabbie, ceneri, minerali e sali (primo e secondo gruppo) proteggono sufficientemente la granella di cereali e legumi da acari e insetti se applicate a dosi maggiori di 10 g/Kg (JENKINS, 1940; PARKIN, 1944; GAY *et al.*, 1947) mentre le polveri sintetiche e naturali di silice (terzo e quarto gruppo) garantiscono un adeguato controllo degli infestanti a dosi di 0,5 - 1 g/Kg di granella (GOLOB, 1997). Nel caso del caolino, rientrando tra le polveri del primo gruppo, è stato tuttavia dimostrato che la sua attivazione, mediante trattamento con acidi, ne migliora significativamente l'attività insetticida consentendo di ridurre la dose d'impiego (PERMUAL e LE PATOUREL, 1992). La possibilità di impiegare le polveri inerti a bassi dosaggi assume un'importanza fondamentale per la loro applicazione nella protezione di cereali e legumi in granella in quanto il trattamento, pur non modificando le caratteristiche qualitative e tecnologiche della granella, ne determina una riduzione del peso specifico, proporzionale alla quantità di polvere utilizzata (KORUNIC *et al.*, 1996). Tale effetto, dovuto all'aumento del volume della massa trattata come conseguenza dell'aumento degli spazi interstiziali tra i semi, rappresenta il principale svantaggio dell'uso delle polveri inerti ed ha indirizzato l'interesse principalmente verso polveri maggiormente efficaci quali terre di diatomee, zeoliti e caolino.

Le terre di diatomee sono resti fossili di alghe microscopiche (Bacillariophyceae) il cui scheletro, a struttura porosa e prevalentemente formato da silice amorfa e da ossidi di alluminio, calcio, ferro e altri minerali, si è depositato durante il Cenozoico (SUBRAMANYAM e ROESLI, 2000). Soprattutto negli Stati Uniti, sono stati registrati numerosi formulati a base di terre di diatomee per il controllo di specie appartenenti a vari ordini di artropodi dannosi in pieno campo e in postraccolta. Tali registrazioni sono supportate da una vasta letteratura scientifica che oltre a dimostrarne l'efficacia verso i diversi stadi biologici degli infestanti ha messo in evidenza anche importanti effetti additivi o sinergici qualora applicate in combinazione, per ridurre appunto le dosi d'impiego, con alcuni insetticidi di sintesi (ARTHUR, 2004), estratti vegetali (ATHANASSIOU e KORUNIC, 2007; YANG *et al.*, 2010) e microrganismi entomopatogeni (LORD, 2001; ATHANASSIOU e STEENBERG, 2007).

Le zeoliti formano un'ampia famiglia di alluminosilicati cristallini idratati di metalli terrosi, principalmente sodio, potassio e calcio (BARRER, 1978). Originare dalla reazione di rocce e di cenere vulcaniche con

acque alcaline, le zeoliti hanno una struttura a cavità interconnesse occupate da cationi e molecole d'acqua (GOTTARDI e GALLI, 1985). Gli studi per la valutazione delle zeoliti per il controllo di artropodi dannosi sono ancora limitati ma ne stanno dimostrando un'efficacia paragonabile a quella delle terre di diatomee (GERMINARA *et al.*, 2018) da cui non differiscono molto anche per struttura chimica. Pochi sono i formulati a base di zeolite attualmente in commercio sebbene negli ultimi anni si stia manifestando un interesse crescente per questi materiali soprattutto dopo l'inserimento, da parte dell'European Food Safety Authority (EFSA), della clinoptilolite nella lista delle sostanze considerate sicure per l'uso come additivi in alimenti e mangimi (EFSA, 2013a,b).

Il caolino è una roccia ad elevato contenuto di caolinite ($\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$), un minerale alluminosilicato in cui strati tetraedrici di silice (SiO_4) si legano, mediante atomi di ossigeno, a strati ottaedrici di allumina (AlO_6) (GLENN e PUTERKA, 2005). L'efficacia del caolino è stata dimostrata sia per il contenimento di afidi, tripidi e lepidotteri in campo (MAZOR e EREZ 2004; MARKO *et al.*, 2008; DE SMEDT *et al.*, 2015) che il controllo di coleotteri infestanti le derrate conservate (SWAMIAPPAN *et al.*, 1976; PERMUAL e LE PATOUREL, 1990).

La struttura porosa delle terre di diatomee, delle zeoliti e del caolino conferisce a tali materiali un'elevata superficie interna ed esterna che permette scambi ionici e reazioni chimiche (BRECK, 1974) da cui molto probabilmente dipende il loro meccanismo di azione contro gli artropodi.

MECCANISMO DI AZIONE DELLE POLVERI INERTI

Vari meccanismi di azione sono stati proposti per spiegare l'attività acaricida e insetticida delle polveri inerti tra cui (1) l'occlusione degli stigmi e la conseguente morte dell'insetto per asfissia, (2) l'abrasione della cuticola a livello delle membrane intersegmentali e conseguente morte per disidratazione, (3) disseccamento corporeo per assorbimento di acqua attraverso la cuticola, (4) ingestione di particelle di polvere inerte, (5) assorbimento delle cere epicutcolari con conseguente perdita irreversibile di acqua attraverso la cuticola. Osservazioni più dettagliate al riguardo hanno permesso di chiarire il contributo dei diversi possibili meccanismi di azione. Per esempio, la uguale quantità di ossigeno consumata da adulti di *Acanthoscelides obtecticus* L. trattati con silice cristallina o bentonite rispetto ad adulti non trattati (CHIU, 1939), la maggiore efficacia di polveri con caratteristiche idrofobiche rispetto a polveri idrofiliche (ALEXANDER *et al.*, 1944), l'incapacità di alcuni acari di ingerire particelle di drierici (COOK e ARMITAGE, 1999) ha portato ad escludere, o comunque a considerare trascurabili, rispettivamente l'occlusione

degli stigmi, l'assorbimento di acqua dal corpo e l'ingestione di particelle come possibile meccanismo di azione.

Allo stato attuale si ritiene che il meccanismo di azione di queste polveri sia principalmente dovuto all'assorbimento e, in misura minore, all'abrasione dei lipidi che formano lo strato ceroso dell'epicuticola che, causando una perdita eccessiva e irreversibile di acqua dal corpo, determinano la morte dell'acaro o dell'insetto per disidratazione. In una serie di esperimenti, infatti, EBELING (1961) dimostrò che un film di cera d'ape distribuita su un vetrino era adsorbito da un gel di silice (SG-67) dopo 1 ora di contatto a 22°C, che il gel subiva un viraggio del colore dal grigiastro al bianco e che la cera migrava all'interno del gel di silice. Fu dimostrato, inoltre, che la migrazione della cera avviene anche in presenza di umidità relativa molto elevata (100%) sebbene in tempi più lunghi a causa dell'ostacolo creato dalla formazione di uno strato di molecole di acqua sulla superficie del gel di silice. Lo stesso autore, pertanto, ha concluso che l'efficacia insetticida di una polvere inerte dipende fondamentalmente dalle dimensioni dei suoi pori (> 20 Angstroms), dalla superficie specifica e dalla capacità di assorbimento di sostanze oleose. Il ruolo secondario dell'effetto abrasivo delle polveri inerti è dimostrato, invece, dal fatto che polveri con proprietà assorbenti sono, in genere, più efficaci di quelle ad azione abrasiva (ALEXANDER *et al.*, 1944).

Secondo alcuni autori, la mortalità indotta dal trattamento con polveri inerti non è dovuta al loro effetto disidratante "tout court" ma a cambiamenti fisiologici indotti dalla disidratazione come la produzione dell'ormone bursicone (VINCENT, 1971) che determinerebbe un'ulteriore emissione di liquido corporeo attraverso il sistema tracheale (ROEDER, 1953) e la cuticola.

In ogni caso, sebbene rimangano alcuni aspetti da chiarire in relazione alle varie tipologie di polveri inerti e della specie bersaglio, si è concordi nel ritenere che il meccanismo di azione delle polveri inerti sia di tipo prevalentemente "fisico" come anche suggerito dal fatto che la morte dell'organismo trattato avviene più lentamente (diversi giorni) rispetto a quella causata dal trattamento con sostanze tossiche (alcune ore), agenti secondo meccanismi di tipo biochimico.

ULTERIORI EFFETTI DEL TRATTAMENTO CON POLVERI INERTI

Il trattamento con polveri inerti, definito dagli anglosassoni "particle film technology", può determinare effetti negativi su varie funzioni vitali degli insetti tra cui riduzione dell'accoppiamento, della deposizione e della schiusura delle uova, limitazione della capacità di aggredire il substrato ospite, aumento dei tempi di

sviluppo, riduzione di massa corporea, allontanamento dell'insetto dopo contatto con una superficie trattata (deterrenza), interferenza sulla capacità di localizzazione della pianta ospite (KNIGHT *et al.*, 2000; MAZOR e EREZ, 2004; LARENTZAKI *et al.*, 2008; DE SMEDT *et al.*, 2015). Quest'ultimo effetto è stato imputato al mascheramento visivo della pianta all'insetto a seguito, per esempio, dell'imbiancamento della sua superficie con caolino (ARTHUR e PUTERKA, 2002; MAHMOUD *et al.*, 2010; SHEIBANI *et al.*, 2016). Poco studiata, invece, è la possibile interferenza del trattamento con polveri inerti sulla comunicazione chimica interspecifica tra insetto fitofago e pianta ospite. Considerata la natura porosa delle polveri inerti, appare possibile che esse possano assorbire, almeno in parte, composti volatili emessi dalle piante coinvolti nei processi di localizzazione dei siti di alimentazione, accoppiamento e ovideposizione dei fitofagi (VISSER, 1986).

EFFETTO DEL TRATTAMENTO CON CAOLINO SULLE INTERAZIONI SEMIOCHIMICHE *SITOPHILUS GRANARIUS* - PIANTA OSPITE

Per chiarire le possibili interferenze del trattamento con polveri inerti sulla comunicazione insetto - pianta ospite, è stato studiato l'orientamento degli adulti di *Sitophilus granarius* (L.) verso gli odori di cariossidi di frumento trattate con caolino, essendo nota l'attrattività del frumento verso questa specie (LEVINSON e KANAUIA, 1982; GERMINARA *et al.*, 2008).

I risultati dello studio, condotto mediante tecniche di indagine comportamentale, elettrofisiologica e chimica sono di seguito riassunti. Biosaggi di doppia scelta, condotti in olfattometro a caduta, hanno confermato l'elevata attrattività delle cariossidi di frumento verso gli adulti di *S. granarius*. Tale attrattività ha subito una significativa riduzione dopo 24 h di trattamento delle cariossidi con caolino ed è stata ripristinata dopo rimozione della polvere dalla superficie delle cariossidi mediante setacciatura e getti d'aria (Fig. 1). Il caolino da solo non ha indotto effetti attrattivi o repellenti. Pertanto, tali esperimenti hanno suggerito che il trattamento con caolino è in grado di interferire efficacemente sul processo di localizzazione dell'ospite da parte degli adulti di *S. granarius*.

Per supportare i risultati di tali esperimenti con ulteriori indagini, sono stati preparati estratti in solvente da caolino recuperato da cariossidi di frumento dopo 24 h di trattamento e da caolino tal quale (controllo).

In biosaggi comportamentali, l'estratto di caolino tenuto a contatto con le cariossidi è risultato attrattivo verso gli adulti del curculionide mentre quello da caolino tal quale non ha indotto orientamento preferenziale degli insetti verso lo stimolo (estratto) o il controllo (solvente) suggerendo, quindi, la presenza

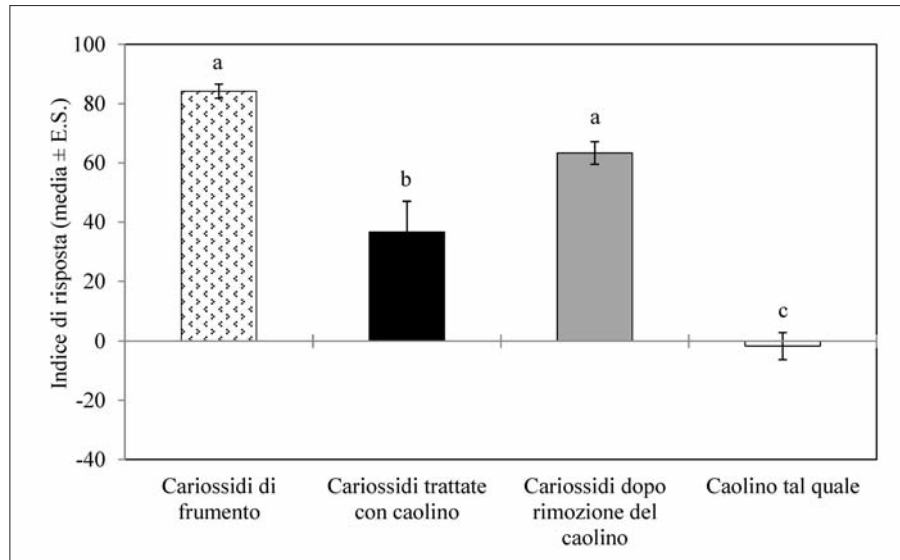


Fig. 1 - Indice di risposta (IR), in olfattometro a doppia scelta, di adulti di *S. granarius* agli odori di cariossidi di frumento non trattate, trattate con caolino, dopo parziale rimozione del caolino (setacciatura e getti d'aria), caolino tal quale. IR = [(numero di insetti nel trattato - numero di insetti nel controllo)/numero totale di insetti] x 100 (GERMINARA *et al.*, 2008). I valori contrassegnati con lettere diverse indicano differenze significative per $P = 0,05$ (test di Tukey).

nel primo estratto di sostanze volatili dei cereali ad azione attrattiva verso gli insetti. Per confermare la presenza di tali sostanze nell'estratto sono stati condotti saggi elettrofisiologici e analisi chimiche.

In saggi elettroantennografici (EAG), le risposte EAG di maschi e femmine di *S. granarius* verso l'estratto da caolino tenuto a contatto con le cariossidi sono risultate significativamente maggiori di quelle indotte dall'estratto da caolino tal quale, indicando, nel primo estratto, la presenza di composti volatili dei cereali in grado di stimolare il sistema olfattivo antennale degli insetti.

L'analisi chimica degli stessi estratti, mediante gascromatografia abbinata a spettrometria di massa (GC-MS), ha confermato, infine, la presenza, nell'estratto EAG più attivo, di composti volatili (acido esanoico, acido nonanoico, ottanale, nonanale, decanale, dodecanale, 2-pentadecanone, farnesol) noti per essere emessi dai cereali (MAGA, 1978) che, invece, non sono stati riscontrati nell'estratto da caolino tal quale. In definitiva, lo studio ha dimostrato che il caolino è in grado di assorbire composti volatili emessi dal frumento che sono percepiti dal sistema olfattivo degli adulti di *S. granarius* e che tale assorbimento determina una significativa riduzione della capacità degli insetti di orientarsi verso il substrato ospite.

Alla luce di tali risultati, appare possibile considerare l'interferenza sulle interazioni semiochimiche tra insetto e pianta ospite come un ulteriore meccanismo di azione delle polveri inerti.

RIASSUNTO

Negli ultimi anni, la maggiore domanda di alimenti sani e sicuri e le limitazioni legislative imposte all'uso degli insetticidi di sintesi stanno accrescendo l'interesse

per l'impiego delle polveri inerti in strategie di controllo integrato degli insetti infestanti le derrate. Le polveri inerti comprendono un'ampia varietà di polveri secche, chimicamente non reattive in natura, il cui impiego per la protezione delle derrate ha origini antiche. Il meccanismo di azione di tali polveri è principalmente di tipo fisico essendo dovuto all'azione assorbente e abrasiva nei confronti delle cere epicuticolari degli artropodi che, provocando una perdita eccessiva e irreversibile di acqua dal corpo, ne causa la morte. Altri effetti, meno studiati, delle polveri inerti nei confronti degli insetti riguardano l'interferenza sull'attività riproduttiva, sull'accrescimento degli stadi giovanili, sulla capacità di localizzazione della pianta ospite. Si riportano i risultati di studi comportamentali, elettrofisiologici e chimici per valutare l'effetto del trattamento di cariossidi di frumento con caolino sull'orientamento di adulti di *S. granarius* verso il substrato ospite. I risultati mostrano che il caolino è in grado di assorbire composti volatili delle cariossidi che sono percepite dal sistema olfattivo dell'insetto e che tale assorbimento determina una significativa riduzione dell'attrattiva delle cariossidi verso l'insetto suggerendo l'interferenza sulle interazioni semiochimiche insetto-pianta ospite come ulteriore meccanismo di azione delle polveri inerti.

BIBLIOGRAFIA

- ALEXANDER P., KITCHENER J.A., BRISCOE H.V.A., 1944 - *Inert dust insecticides*. - Ann. Appl. Biol., 31: 143-159.
 ARTHUR F.H., 2004 - *Evaluation of a new insecticide formulation (F2) as a protectant of stored wheat, maize, and rice*. - J. Stored Prod. Res., 40: 317-330.
 ARTHUR F.H., PUTERKA G.J., 2002 - *Evaluation of kaolinite-based particle films to control Tribolium species (Coleoptera: Tenebrionidae)*. - J. Stored Prod. Res., 38: 341-348.

- ATHANASSIOU C.G., KORUNIC Z., 2007 - *Evaluation of two new diatomaceous earth formulations, enhanced with abamectin and bitterbarkomycin, against four stored grain beetle species*. - J. Stored Prod. Res., 43: 468-473.
- ATHANASSIOU C.G., STEENBERG T., 2007 - *Insecticidal effect of Beauveria bassiana (Balsamo) Vuillemin (Ascomycota: Hypocreales) in combination with three diatomaceous earth formulations against Sitophilus granarius (L.) (Coleoptera: Curculionidae)*. - Biol. Control, 40: 411-416.
- ATHANASSIOU C.G., ARTHUR F.H., 2018 - *Bacterial insecticides and inert Materials*. In: Recent advances in stored product protection, Athanassiou C.G., Arthur F.H., Ed., Springer-Verlag GmbH, pp. 83-98.
- BANKS J.H., FIELDS P.G., 1995 - *Physical methods for insect control in stored-grain ecosystems*. In: Stored-grain ecosystems, Jayas D.S., White N.D.G., Muir W.E. Ed., Marcel Dekker, New York, pp. 353-409.
- BARRER R.M., 1978 - *Zeolites and clay minerals as sorbents and molecular sieves*. Academic Press, London and New York Inc., VIII + 497 pp.
- BRECK, D.W., 1974. *Zeolite molecular sieves: structure, chemistry and use*. Wiley Interscience, New York, 771 pp.
- CHIU S.F., 1939 - *Toxicity studies of so-called "inert" materials with the bean weevil, Acanthoscelides obtectus (Say)*. - J. Econ. Entomol., 32: 240-248.
- COOK D.A., ARMITAGE D.M., 1999 - *The efficacy of Dryacide, an inert dust, against two species of Astigmatid mites, Glycyphagus destructor and Acarus siro, at nine temperature and moisture content combinations on stored grain*. - Exp. Appl. Acarol., 23: 51-63.
- DE SMEDT C., SOMEUS E., SPANOGHE P., 2015 - *Potential and actual uses of zeolites in crop protection*. - Pest Manag. Sci., 71: 1355-1367.
- EBELING W., 1961 - *Physicochemical mechanisms for the removal of insect wax by means of finely divided powders*. - Hilgardia, 30: 531-564.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2013a - *Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavours and Processing Aids*. - EFSA Journal, 11: 3155.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2013b - *Panel of Additives and Products or Substances used in Animal Feed*. 2013b. - EFSA Journal, 11: 3039.
- FDA GRAS List, 2006 - *Sodium Aluminasilicates*. Database of select committee on GRAS substances reviews.
- GAY F.J., RATCLIFFE F.N., MCCULLOCH R.N., 1947 - *Studies on the control of wheat insects by dusts. I. Field tests of various mineral dusts against grain weevils*. - Council Sci. Ind. Res. (Aust.) Bull., 182: 7-20.
- GERMINARA G.S., DE CRISTOFARO A., ROTUNDO G., 2008 - *Behavioral responses of adult Sitophilus granarius to individual cereal volatiles*. - J. Chem. Ecol., 34: 523-529.
- GERMINARA G.S., ALBANESE R., PISTILLO O.M., 2018 - *Valutazione dell'efficacia di una zeolite cubana contro gli infestanti*. - Tecnica Molitoria, 70: 38-46.
- GLENN D.M., PUTERKA G.J., 2005 - *Particle films: a new technology for agriculture*. - Hortic. Rev., 31: 1-44.
- GOLOB P., 1997 - *Current status and future inert dusts for control of stored product insects*. - J. Stored Prod. Res., 33: 69-79.
- GOTTARDI G., GALLI E., 1985 - *Natural Zeolites*. Springer-Verlag, Berlin, XII+409 pp.
- JENKINS C.F.H., 1940 - *Notes on control of weevils in wheat*. - J. Dept. Agric. Western Aust., 17: 411-417.
- KNIGHT A.L., UNRUH T.R., CHRISTIANSON B.A., PUTERKA G.J., GLENN D.M., 2000 - *Effects of a kaolin-based particle film on obliquebanded leafroller (Lepidoptera: Tortricidae)*. - J. Econ. Entomol., 93: 744-749.
- KORUNIC Z., FIELDS P.G., KOVACS M.L.P., NOLL J.S., LUKOW O.M., DEMIANYK C.J., SHIBLEY K.J., 1996 - *The effect of diatomaceous earth on grain quality*. - Postharvest Biol. Technol., 9: 373-387.
- LARENTZAKI E., SHELTON A.M., PLATE J., 2008 - *Effect of kaolin particle film on Thrips tabaci (Thysanoptera: Thripidae), oviposition, feeding and development on onions: a lab and field case study*. - Crop Prot., 27: 727-734.
- LEVINSON H., KANAUIA K.R., 1982 - *Feeding and oviposition behavior of the granary weevil (Sitophilus granarius L.) induced by stored wheat, wheat extracts and dummies*. - Z. angew. Entomol., 93: 292-305.
- LORD J.C., 2001 - *Desiccant dusts synergize the effect of Beauveria bassiana (Hyphomycetes: Moniliales) on stored-grain beetles*. - J. Econ. Entomol., 94: 367-372.
- MAGA J.A., 1978 - *Cereal volatiles, a review*. - J. Agric. Food Chem., 26: 175-178.
- MAHMOUD A.E.M., EL-SEBAI O.A., SHAHEN A.A., MARZOUK A.A., 2010 - *Impact of kaolin-based particle film dusts on Callosobruchus maculatus (F.) and C. chinensis (L.) after different storage periods of treated broad bean seeds*. 10th International Working Conference on Stored Product Protection, Estoril, Portugal, Julius Kühn-Institut, Berlin, Germany 425: 638-646.
- MARKO V., BLOMMERS L.H.M., BOGYA S., HELSEN H., 2008 - *Kaolin particle films suppress many apple pests, disrupt natural enemies and promote woolly apple aphid*. - J. Appl. Entomol., 132: 26-35.
- MAZOR M., EREZ A., 2004 - *Processed kaolin protects fruits from Mediterranean fruit fly infestations*. - Crop Prot., 23: 47-51.
- PARKIN E.A., 1944 - *Control of the granary weevil with finely ground mineral dusts*. - Ann. Appl. Biol., 31: 84-88.
- PERMUAL D., IE PATOUREL G.N.J., 1990 - *Laboratory evaluation of acid-activated kaolin to protect stored paddy against infestation by stored product insects*. - J. Stored Prod. Res., 26: 149-153.
- PERMUAL D., IE PATOUREL G.N.J., 1992 - *Small bin trials to determine the effectiveness of acid activated kaolin against four species of beetles infesting paddy under tropical storage conditions*. - J. Stored Prod. Res., 28: 193-199.
- ROEDER L.D., 1953 - *Insect Physiology*. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- SHEIBANI Z., SHOJAII M., SHOJAADDINI M., IMANI S., HASSANI M.R., 2016 - *Repellency of kaolin particle film to common pistachio psyllid, Agonoscyta pistaciae under field conditions*. - Bull. Insectology, 69: 7-12.
- SUBRAMANYAM B., ROESLI R., 2000 - *Inert dusts*. In: Alternatives to pesticides in stored-product IPM, Subramanyam B., Hagstrum D.W. (Eds.), Kluwer Academic Publishers, Boston, pp. 321-380.
- SWAMIAPPAN M., JAYARAJ S., CHANDY K.C., SUNDARAMURTHY V.T., 1976 - *Effect of activated kaolinitic clay on some storage insects*. - Z. angew. Ent., 80: 385-389.
- VINCENT J.F.V., 1971 - *Effects of bursicon on cuticular properties of Locusta migratoria migratoria*. - J. Insect Physiol., 17: 625-636.
- VISSER J.H., 1986 - *Host odor perception in phytophagous insects*. - Annu. Rev. Ent., 37: 141-172.
- YANG F.L., LIANG G.W., XU Y.J., LU Y.Y., ZENG L., 2010 - *Diatomaceous earth enhances the toxicity of garlic, Allium sativum, essential oil against stored product pests*. - J. Stored Prod. Res., 46: 118-123.

224 - Pagina bianca

IL CONTROLLO BIOLOGICO NELLE INDUSTRIE ALIMENTARI

AGATINO RUSSO^a - POMPEO SUMA^a

^a Dipartimento di Agricoltura, Alimentazione e Ambiente (Di3A) – sez. Entomologia applicata, Università degli studi di Catania, Via Santa Sofia, 100, 95123 Catania; e-mail: agarusso@unict.it.

Lettura tenuta durante la Tavola Rotonda “Nuove tecnologie per la difesa delle derrate alimentari”. Seduta pubblica dell’Accademia – Firenze, 15 novembre 2019.

Biological control in food industries

Several reviews on biological control of stored-product pests have been published during the last 30 years reporting advantages and disadvantages of this approach for the management of different stored food pests. A brief summarization on the potential and practical application of the main predators [i.e. *Xylocoris flavipes* (Reuter)] and parasitoids [i.e. *Anisopteromalus calandrae* (Howard), *Habrobracon hebetor* (Say), *Holepyris sylvanidis* (Brèthes)] of some stored food pests, is herein presented and discussed.

KEY WORDS: predators; parasitoids; pest insects; stored food.

INTRODUZIONE

Dopo il raccolto molte piante agricole e prodotti alimentari, ad esempio cereali, semi oleosi, legumi o frutti vengono processati in diverso modo così da poter essere conservati anche per lunghi periodi di tempo. Nel corso del trasporto e principalmente durante la successiva fase di stoccaggio, tali prodotti possono subire danni anche seri in termini quanti-qualitativi per via degli attacchi entomatici. Le perdite post-raccolta ammontano infatti al 5-10% in tutto il mondo, raggiungendo punte del 30% nelle aree tropicali o nei paesi in via di sviluppo (SAAD & ABDELGALEIL, 2018). Le principali minacce sono spesso rappresentate da fattori biologici quali roditori, uccelli, acari, funghi, microrganismi ed insetti (HUBERT *et al.*, 2018). Nel caso specifico, gli insetti nocivi contribuiscono in modo significativo alla perdita globale di cibo, stimata dalla FAO in oltre un miliardo di tonnellate all’anno (NAYAK & DAGLISH, 2018). Per molto tempo le industrie alimentari, al fine di controllare gli animali infestanti, hanno fatto praticamente ricorso solo alla lotta chimica ma, tale tendenza, sta rapidamente cambiando; sono infatti ben noti i rischi intrinseci che caratterizzano i biocidi ed i loro consequenziali effetti per gli utilizzatori finali (BARRATT *et al.*, 2018). Inoltre, i problemi legati allo sviluppo di popolazioni resistenti di alcuni parassiti (NAYAK & DAGLISH, 2018) e la riduzione del numero di molecole autorizzate in Europa negli ultimi anni a causa di leggi e regolamenti sempre più stringenti e severe, hanno incentivato la ricerca di strategie di controllo degli infestanti alternative o, quantomeno

complementari, alla lotta chimica. Per tale ragione nell’ultimo decennio si è assistito al progressivo diffondersi di approcci di tipo integrato (Integrated Pest Management), nell’ambito del quale il controllo biologico ha via via assunto particolare interesse (REICHMUT, 2000; RUSSO, 2012; RIUDAVETS, 2018; SCHÖLLER *et al.*, 2018).

Le industrie alimentari sono ambienti caratterizzati da condizioni termo-igrometriche spesso costanti, disponibilità pressoché illimitata di *pabulum* ad elevato valore nutrizionale oltre a possedere particolari caratteristiche strutturali che creano microambienti in grado di proteggere gli stessi infestanti dall’azione di molti biocidi (RUSSO, 2012).

Sono molteplici le esperienze di lotta biologica condotte nelle industrie alimentari e documentate nella letteratura di riferimento che hanno visto l’impiego di diversi agenti biotici di controllo quali batteri, funghi, nematodi, acari e insetti (SCHÖLLER & FLINN, 2012). Negli ultimi 10 anni sono stati pubblicati oltre 130 lavori scientifici su applicazioni di controllo biologico contro artropodi dannosi per gli alimenti, il 70% dei quali si basa sull’impiego di predatori e/o parassitoidi (RIUDAVETS, 2018). In questa sede, per ovvia necessità di sintesi, verranno presi in esame solo alcuni degli insetti utilizzati quali agenti di contenimento, illustrando succintamente solo quelle specie di predatori e parassitoidi più promettenti e che meriterebbero un maggiore approfondimento scientifico. Per una più estesa trattazione dell’argomento si rimanda a SCHÖLLER *et al.*, 2018.

PREDATORI

Xylocoris flavipes (Reuter) (Hemiptera Anthocoridae)

Tra i predatori, l'antocoride *Xylocoris flavipes* è probabilmente una delle specie più studiate dal punto di vista ecologico, etologico ed economico. Tutti i membri del genere *Xylocoris* si rinvencono naturalmente in vari habitat e comunque dove si accumulano detriti di origine vegetale. Tre specie di *Xylocoris*, ovvero *X. flavipes*, *X. galactinus* (Fieber) e *X. sordidus* (Reuter), sono state intercettate all'interno di strutture contenenti derrate. Queste specie sono frequentemente associate a popolazioni di coleotteri infestanti i prodotti conservati come *Tribolium confusum* Jacqueline du Val, *T. castaneum* (Herbst), *Sitophilus zeamais* Motschulsky, *S. granarius* (L.), *Lasioderma serricornis* (F.) (SCHÖLLER & PROZELL, 2011) e lepidotteri *Plodia interpunctella* (Hübner), *Sitotroga cerealella* (Olivier) e *Corcyra cephalonica* Stainton (SUMA *et al.*, 2013); tutte gli stadi attivi di *X. flavipes* ricercano attivamente le specie ospiti su cui sviluppare e attaccano le uova e gli stadi biologici generalmente di dimensioni minori. Le migliori prestazioni si registrano quando il predatore è rilasciato tempestivamente dopo l'avvio delle fasi di stoccaggio dei substrati (ad es. cereali). L'intervallo di temperatura ottimale per lo sviluppo di questo predatore è di 29–31°C, sebbene sino a oltre 35°C e con un'umidità relativa ottimale del 70%, riesce a completare il proprio ciclo biologico. Per tale ragione, l'uso di questo predatore nelle aree a clima mite, dove le temperature estive possono superare i 30°C, potrebbe di certo rappresentare una buona strategia di intervento nell'ambito di un approccio IPM (RUSSO *et al.*, 2004; SCHÖLLER & PROZELL, 2011).

PARASSITOIDI

Anisopteromalus calandrae (Howard) (Hymenoptera Pteromalidae)

Anisopteromalus calandrae è uno dei parassitoidi che con maggior frequenza si rinviene su grano immagazzinato, tant'è che risulta ampiamente distribuito nei diversi areali del globo dove il suddetto cereale viene prodotto e lavorato. È segnalato quale valido antagonista naturale di diverse specie di coleotteri prevalentemente infestate ai cereali e alle leguminose da granella quali: *S. granarius*, *S. zeamais*, *Rhyzopertha dominica* (F.), *Stegobium paniceum* (L.), *L. serricornis*, *Acanthoscelides obtectus* (Say) e *Callosobruchus maculatus* (F.) (REICHMUTH, 2000; REICHMUTH *et al.*, 2007). Lo pteromalide è un ectoparassitoide primario, idiobionte, che attacca gli stadi larvali tardivi e le giovani pupe delle vittime quando ancora presenti all'interno dei semi infestati. Alcuni autori hanno evidenziato l'esistenza di due specie "gemelle" strettamente

correlate; una a strategia *r* che vive a spese di *Sitophilus* spp., l'altra a strategia *k* che si riproduce a spese di anobiidi. Queste sono state recentemente distinte in *A. calandrae* e *A. quinarius* GOKHMAN & BAUR, 2014, quest'ultima nuova per la scienza (BAUR *et al.*, 2014) ed è opportuno sottolineare che le due entità spesso coesistono nei medesimi ambienti. Le larve di *Anisopteromalus* possono svilupparsi a temperature comprese tra 30 e 36°C (NIEDERMAYER *et al.*, 2013). Sebbene gran parte degli studi condotti ha riguardato l'efficacia di *A. calandrae* quando rilasciato su grano sfuso, è stato anche dimostrato come esso sia in possesso di una discreta capacità di controllo degli infestanti anche quando il cereale è stoccato all'interno di sacchi, riuscendo a penetrarvi a prescindere dal materiale di cui sono costituiti (es. iuta, polipropilene e nylon) (MAHAL *et al.*, 2005).

Theocolax elegans (Westwood) (Hymenoptera Pteromalidae)

Questa specie risulta ampiamente distribuita laddove gli alimenti sono immagazzinati e risultano infestati da *S. granarius*, *S. oryzae*, *S. zeamais*, *R. dominica* (TOEWS *et al.*, 2001), *S. paniceum*, *Callosobruchus* spp. e dalla vera tignola del grano *S. cerealella* (REICHMUTH *et al.*, 2007). È un ectoparassitoide solitario che parassitizza le larve all'interno dei substrati infestati (TOEWES *et al.*, 2001). La sua capacità di intercettare l'ospite a lungo raggio si pensa sia mediata dai volatili emessi dai substrati medesimi (es. cereali, GERMINARA *et al.*, 2009). Lo pteromalide è in grado di ridurre le popolazioni di *S. zeamais* fino al 50% e quelle di *R. dominica* dal 50 al 99% a seconda della temperatura (FLINN, 1998). Il ciclo biologico di *Theocolax elegans* si completa in circa 22 giorni a 27°C ed è stato dimostrato come la temperatura rivesta un ruolo determinante sulla sua capacità di parassitizzazione; infatti su grano infestato e raffreddato a 25°C, *T. elegans* è stato dieci volte più efficace nel sopprimere le popolazioni di *R. dominica*, rispetto ad un grano infestato e mantenuto a 32°C (FLINN, 1998).

Lariophagus distinguendus (Förster) (Hymenoptera Pteromalidae)

Si tratta di un parassitoide segnalato quale potenziale agente biologico di controllo di un gran numero di coleotteri che infestano i prodotti agricoli immagazzinati: *S. oryzae*, *S. granarius* (STEIDLE & SCHÖLLER, 2002), *R. dominica* (MENON *et al.*, 2002), *L. serricornis*, *S. paniceum*, *A. obtectus* e *Ptinus clavipes* (REICHMUTH, 2000). Si comporta da ectoparassitoide solitario di larve e pupe. Alcune autori hanno mostrato la determinante influenza che la temperatura esercita sui livelli di efficacia del parassitoide (RYOO *et al.*, 1991) e i primi studi sulla specie, condotti negli anni '70 riportavano come, in virtù della bassa fecondità

registrata, *Lariophagus distinguendus* non poteva essere considerato idoneo quale agente di contenimento nell'ambito dei programmi di controllo biologico (GONEN & KUGLER, 1970). Successivamente, STEIDLE (1998), ha dimostrato che i valori di fecondità variavano al variare dei ceppi studiati, delle specie ospiti impiegate e dalle condizioni di allevamento. A supporto di tali conclusioni, il recente studio condotto da KÖNIG *et al.* (2019) ha permesso di identificare più specie gemelle all'interno di questo *taxon*. Dal punto di vista applicativo, *L. distinguendus* si è dimostrato in grado di parassitizzare i suoi ospiti in presenza di basse temperature (NIEDERMAYER *et al.*, 2013) e anche quando gli stessi si trovano all'interno del substrato infestato. STEIDLE & SCHÖLLER (2002) hanno infatti messo in evidenza come le femmine dello pteromalide possono localizzare i loro ospiti sino ad una profondità di 4 metri dalla superficie del grano, seppure il livello di parassitizzazione diminuisce proporzionalmente con l'aumentare della profondità.

Habrobracon hebetor (Say) (Hymenoptera Braconidae)

È un ectoparassitoide idiobionte gregario e cosmopolita che si sviluppa su larve di molti Lepidotteri, principalmente afferenti alla famiglia dei Pyralidae (SCHÖLLER *et al.*, 2018). Esso è stato studiato come agente di controllo in diversi continenti (BALEVSKI, 1984; HUANG, 1986). Di recente, GHIMIRE & PHILLIPS (2010) hanno fornito i principali parametri biologici di *Habrobracon hebetor* quando impiegato su ospiti diversi quali *Galleria mellonella* L., *Coryra cefalonica* (Stainton), *Phthorimaea operculella* (Zeller) e *S. cerealella*. Oggi *H. hebetor* trova ampio impiego nei programmi di controllo biologico ed è stato approfonditamente studiato dal punto di vista biologico e demografico (AKINKUOLERE *et al.*, 2009). Esso risulta particolarmente sensibile alle basse temperature, per cui la pianificazione dei programmi di controllo biologico nelle aree fredde deve tenere in conto tale importante aspetto limitativo (CARRILLO *et al.*, 2005). Tuttavia, è possibile conservare gli esemplari per circa 20 giorni in frigorifero a temperature di $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ senza comprometterne la sopravvivenza e le capacità riproduttive (CHEN *et al.*, 2011).

Holepyris sylvanidis (Brèthes) (Hymenoptera Bethyidae)

Un altro interessante gruppo di imenotteri parassitoidi è rappresentato dalla famiglia Bethyidae, che pare possa offrire buone potenzialità applicative nel controllo biologico degli insetti infestanti le industrie alimentari (AMANTE *et al.*, 2017c). La specie maggiormente indagata a scopi applicativi è attualmente *Holepyris sylvanidis* parassitoide cosmopolita che vive a spese di coleotteri delle famiglie Cucujidae, Curculionidae e

Tenebrionidae (AMANTE *et al.*, 2017b). Esso è capace di penetrare attivamente all'interno del substrato e nelle fessure alla ricerca dell'ospite, rappresenta un valido agente di controllo di *T. confusum* e *T. castaneum* (AMANTE *et al.*, 2018). È importante però ricordare che la ridotta fecondità delle femmine, rende la specie poco idonea per l'impiego con il metodo inoculativo, come già noto per altre specie di antagonisti che vivono a spese di parassiti degli alimenti immagazzinati (Eliopoulos *et al.*, 2017). *H. sylvanidis* potrebbe manifestare un potenziale migliore quando impiegato con i metodi inondativo o aumentativo, ma la fattibilità economica dipenderà principalmente dall'efficienza dei metodi di allevamento di massa (AMANTE *et al.*, 2017 b).

Cephalonomia waterstoni (Gahan) (Hymenoptera Bethyidae)

È un ectoparassitoide larvale idiobionte di *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens), *C. pusillus* (Schönherr) e *C. turcicus* (Grouvelle) (Coleoptera: Cucujidae) (FINLAYSON, 1950) tra i quali la prima specie ne rappresenta l'ospite più suscettibile (FINLAYSON, 1950). HAGSTRUM (1987) e REICHMUTH *et al.* (2007) hanno documentato la capacità di *Cephalonomia waterstoni* di mantenere le popolazioni di criptoleste al di sotto della soglia economica di dannosità mentre FLINN & HAGSTRUM (1995) hanno sottolineato la notevole capacità del parassitoide di intercettare la specie ospite, che di solito pullula nei detriti delle masse granarie. Un aspetto molto importante per il suo impiego diviene quindi la piena comprensione dei meccanismi che regolano la sua "host location". In tal senso alcune recenti indagini (AMANTE *et al.*, 2017a) hanno evidenziato il ruolo cairomonico svolto dai volatili presenti nelle polveri prodotte dall'attività trofica di *C. ferrugineus*, che pare esaltino l'efficacia del betilide.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

L'impiego di insetti entomofagi per il controllo dei più comuni parassiti rinvenibili nelle industrie alimentari sembra ancora piuttosto limitato anche se recentemente sta riscuotendo un cospicuo interesse da parte della comunità scientifica di riferimento. Una spiegazione del fenomeno può essere ricercata nei punti di forza e di debolezza di questo metodo di controllo. Tra i vantaggi, va considerato che:

- il controllo biologico è particolarmente interessante per gli impianti di trasformazione che non sono disposti a interrompere il ciclo di lavorazione, per la realizzazione degli interventi di controllo degli infestanti;
- il suo impiego è sicuro (nessuna tossicità per l'operatore, per il consumatore e per l'ambiente);
- diverse specie entomofaghe sono altamente efficaci;

- queste ultime sono spesso specifiche e possono attivamente ricercare l'ospite (anche quando presente a bassa densità di popolazione);
- i rischi dell'insorgenza di fenomeni di resistenza sono pressoché nulli.

Di contro, bisogna però tenere presente che:

- i nemici naturali possono potenzialmente contaminare i prodotti immagazzinati;
- come accennato in precedenza, la maggior parte di essi è specifica nei confronti della loro vittima, il che significa che è anche importante sapere esattamente quali specie dannose stanno causando il problema al fine di selezionare gli antagonisti più efficienti;
- le tempistiche del loro rilascio sono un punto cruciale e devono essere accuratamente programmate, così da sincronizzare il loro sviluppo con la crescita della popolazione dei parassiti;
- non possono essere usati con successo se la densità di popolazione degli infestanti ha raggiunto elevati livelli di dannosità (diversamente dai fumiganti);
- solo poche specie di parassitoidi e predatori sono attualmente disponibili in commercio.

Sulla base di tali considerazioni, l'ottimizzazione dei metodi di controllo biologico è essenziale per la loro attuazione pratica. In questa direzione, ad esempio, alcuni studi hanno dimostrato che, fornendo alle femmine adulte di alcune specie, una dieta a base di integratori alimentari adeguati (es. miele), è possibile ottenere un aumento significativo della produzione di uova, del numero di prole e della longevità, specialmente in quelle specie che non praticano l'*host feeding* cioè che non si nutrono dell'emolinfa dei loro ospiti. Va infine ribadito che, il controllo biologico non può in tutti i casi rappresentare “di per sé” un'unica strategia di controllo degli infestanti; tale metodo andrebbe infatti considerato come uno strumento da includere nei programmi di controllo integrato. In questo contesto, numerosi sono i recenti studi condotti sul tema e orientati a valutare l'efficacia del controllo integrato quando abbinato ad altre strategie di controllo. Si vedano ad esempio i lavori di MURATA *et al.* (2007) e di RABINDER & SINGH (2011) nei quali viene valutata l'attività di alcuni dei principali antagonisti, in combinazione tra loro e/o con tecniche di controllo chimico, fisico e/o chimico/fisico. Considerando che l'interesse per la gestione integrata degli infestanti di alimenti immagazzinati assume interesse sempre crescente, il controllo biologico ben si candida quale componente importante di dette strategie. Sebbene la disponibilità in commercio di antagonisti naturali risulti ancora limitata, così come l'esperienza per la sua applicazione pratica, le ricerche mirate all'ottimizzazione di una loro produzione massale e ulteriori studi condotti sul “campo” rappresentano di certo compiti futuri da soddisfare in questo settore di ricerca.

BIBLIOGRAFIA

- AKINKUROLERE R.O., BOYER S., CHEN H., ZHANG H., 2009 - *Parasitism and host-location preference in Habrobracon hebetor (Hymenoptera: Braconidae): role of refuge, choice, and host instar*. - J. Econ. Entomol., 102(2): 610-615.
- AMANTE M., RUSSO A., SCHÖLLER M., STEIDLE J.L.M., 2017a - *Olfactory host location in the rusty grain beetle parasitoid Cephalonomia waterstoni (Gahan) (Hymenoptera: Bethyridae)*. - J. Stored Prod. Res., 71: 1-4.
- AMANTE M., RUSSO A., SCHÖLLER M., STEIDLE J.L.M., 2018 - *Olfactory host location and host preference of Holepyris sylvanidis (Brethes) (Hymenoptera: Bethyridae), a parasitoid of Tribolium confusum Jacquelin du Val and T. castaneum*. - J. Stored Prod. Res., 78: 105-109.
- AMANTE M., SCHÖLLER M., HARDY I.C.W., RUSSO A., 2017b - *Reproductive biology of Holepyris sylvanidis (Hymenoptera: Bethyridae)*. - Biol. Control, 106: 1-8.
- AMANTE M., SCHÖLLER M., SUMA P., RUSSO A., 2017c - *Bethylids attacking stored-product pests: an overview*. - Ent. Exp. et App., 163: 251-264.
- BALEVSKY N., 1984 - *Use of the parasite Habrobracon hebetor Say for biological control*. - Zash. Rast., 32:19-28.
- BARRATT B.I.P., MORAN V.C., BIGLER F., VAN LENTEREN J.C., 2018 - *The status of biological control and recommendations for improving uptake for the future*. - BioControl, 63 (1): 155-167.
- BAUR H., KRANZ-BALTENSPERGER Y., CRUAUD A., RASPLUS J.Y., TIMOKHOV A.V., GOKHMAN V.E., 2014 - *Morphometric analysis and taxonomic revision of Anisopteromalus Ruschka (Hymenoptera: Chalcidoidea: Pteromalidae) - an integrative approach*. - Syst. Entomol., 39: 691-709.
- CARRILLO M.A., HEIMPEL G.E., MOON R.D., CANNON C.A., HUTCHINSON W.D., 2005 - *Cold hardiness of Habrobracon hebetor (Say) (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of pyralid moths*. - J. Insect Physiol., 51: 759-768.
- CHEN H., OPIT G.P., SHENG P., ZHANG H., 2011 - *Maternal progeny quality of Habrobracon hebetor (Say) (Hymenoptera: Braconidae) after cold storage*. - Biol. Control, 58: 255-261.
- ELIOPOULOS P.A., KAPRANAS A., GIVROPOULOU E.G., HARDY I.C.W., 2017 - *Reproductive efficiency of the bethylid wasp Cephalonomia tarsalis: the influences of spatial structure and host density*. - Bull. Entomol. Res., 107(2): 139-147.
- FINLAYSON L.H., 1950 - *Host preference of Cephalonomia waterstoni Gahan, a bethylid parasitoid of Laemophloeus species*. - Behaviour, 2: 275-316.
- FLINN P.W., HAGSTRUM D.W., 1995 - *Simulation model of Cephalonomia waterstoni (Hymenoptera: Bethyridae) parasitizing the rusty grain beetle (Coleoptera: Cucujidae)*. - Environ. Entomol., 24: 1608-1615.
- GERMINARA G.S., DE CRISTOFARO A., ROTUNDO G., 2009 - *Antennal olfactory responses to individual cereal volatile in Theocolax elegans (Westwood) (Hymenoptera: Pteromalidae)*. - J. Stored Prod. Res., 45: 195-200.
- GHIMIRE M.N., PHILLIPS T.W., 2010 - *Suitability of different Lepidopteran host species for development of Bracon hebetor (Hymenoptera: Braconidae)*. - Environ. Entomol., 39(2): 449-458.

- GONEN M., KUGLER J., 1970 - *Notes on the biology of Lariophagus distinguendus (Foerster) (Hym. Pteromalidae) as a parasite of Sitophilus oryzae (L.) (Col. Curculionidae)*. - Isr. J. Zool., 5: 133-140.
- HAGSTRUM D.W., 1987 - *Seasonal variation of stored wheat environment and insect populations*. - Environ. Entomol., 16: 77-83.
- HUANG X.F., 1986 - *Use of Habrobracon hebetor Say in granary pest control*. - Chin. J. Biol. Control, 2: 78-80.
- HUBERT J., STEJSKAL V., ATHANASSIOU C.G., THRONE J.E., 2018 - *Health hazards associated with arthropod infestation of stored products*. - Ann. Rev. Ent., 63: 553-573.
- KÖNIG C., PASCHKE S., POLLMANN M., REINISCH R., GANTERT C., WEBER J., KROGMANN L., STEIDLE J.L.M., GOKHMAN V.E., 2019 - *Molecular and cytogenetic differentiation within the Lariophagus distinguendus (Förster, 1841) species complex (Hymenoptera, Pteromalidae)*. - Comp. Cytogenet., 13(2): 133-145.
- MAHAL N., ISLAM W., PARWEEN S., MONDAL K.A.M.S.H., 2005 - *Effect of Anisopteromalus calandrae (Hymenoptera: Pteromalidae) in controlling residual populations of Rhyzopertha dominica (Coleoptera: Bostrichidae) in wheat stores*. - Int. J. Trop. Insect Sci., 25(4): 245-250.
- MENON A., FLINN P.W., BARRY A., DOVER B.A., 2002 - *Influence of temperature on the functional response of Anisopteromalus calandrae (Hymenoptera: Pteromalidae), a parasitoid of Rhyzopertha dominica (Coleoptera: Bostrichidae)*. - J. Stored Prod. Res., 38: 463-469.
- MURATA M., IMAMURA T., MIYANOSHITA A., 2007 - *Suppression of the stored-product insect Tribolium confusum by Xylocoris flavipes and Amphibolus venator*. - J. Appl. Entomol., 13(8): 559-563.
- NAYAK M.K., DAGLISH G.J., 2018 - *Importance of stored product insects*. In: Recent Advances in Stored Product Protection, C.G. Athanassiou, F.H. Arthur Ed., Springer, Berlin, Germany, 1-17.
- NIEDERMAYER S., OBERMAIER E., STEIDLE J.L.M., 2013 - *Some like it hot, some not: influence of extreme temperatures on Lariophagus distinguendus and Anisopteromalus calandrae*. - J. Appl. Entomol., 137: 146-152.
- REICHMUTH C., SCHÖLLER M., ULRICH C., 2007 - *Stored product pests in grain. Morphology - biology - damage - control*. - AgroConcept Verlagsgesellschaft, Bonn, 170 pp.
- REICHMUTH C., 2000 - *Biological control in stored product protection*. - IOBC/WPRS Bull., 23(10): 11-23.
- RIUDAVETS J., 2018 - *Biological control of stored products pests*. - IOBC/WPRS Bull., 130: 107-109.
- RUSSO A., 2012 - *Limiti e prospettive delle applicazioni di lotta biologica in post-raccolta*. - Atti Accademia Nazionale Italiana di Entomologia, 59: 91 – 99.
- RUSSO A., COCUZZA G.E., VASTA M.C., 2004 - *Life tables of Xylocoris flavipes (Hemiptera: Anthocoridae) feeding on Tribolium castaneum (Coleoptera: Tenebrionidae)*. - J. Stored Prod. Res., 40: 103-112.
- RYOO M.I., HONG Y.S., YOO C.K., 1991 - *Relationship between temperature and development of Lariophagus distinguendus (Hymenoptera: Pteromalidae), an ectoparasitoid of Sitophilus oryzae (Coleoptera: Curculionidae)*. - J. Econ. Entomol., 84: 825-829.
- SAAD M.M.G., ABDELGALEIL S.A.M., 2018 - *Effectiveness of monoterpenes and phenylpropenes on Sitophilus oryzae L. (Coleoptera: Curculionidae) in stored wheat*. - J. Asia-Pac. Ent., 21: 1153-1158.
- SCHÖLLER M., PROZELL S., 2011 - *Potential of Xylocoris flavipes (Hemiptera: Anthocoridae) to control Tribolium confusum (Coleoptera: Tenebrionidae) in Central Europe*. - IOBC/WPRS Bull., 69: 163-168.
- SCHÖLLER M., PROZELL S., SUMA P., RUSSO A., 2018 - *Biological Control of Stored-Product Insects*. In: Recent Advances in Stored Product Protection, C.G. Athanassiou, F.H. Arthur Ed., Springer, Berlin, Germany, 183-209.
- SCHÖLLER M., FLINN P.W., 2012 - *Biological control: insect pathogens, parasitoids, and predators*. In: Stored Product Protection., D.W. Hagstrum, T.W. Phillips, G. Cuperus Ed., Kansas State University, Kansas, USA, 203-212.
- STEIDLE J.L.M., 1998 - *The biology of Lariophagus distinguendus, a natural enemy of stored products pests and potential candidate for biological control*. - IOBC/WPRS Bull., 21: 103-109.
- STEIDLE J.L.M., SCHÖLLER M., 2002 - *Fecundity and ability of the parasitoid Lariophagus distinguendus (Hymenoptera: Pteromalidae) to find larvae of the granary weevil Sitophilus granarius (Coleoptera: Curculionidae)*. - J. Stored Prod. Res., 38: 43-53.
- SUMA P., AMANTE M., BELLA S., LA PERGOLA A., RUSSO A., 2013 - *Stored-product insects natural enemies in wheat industry in Sicily*. - IOBC-WPRS Bull., 98: 227-233.
- TOEWS M.D., PHILLIPS T.W., CUPERUS G.W., 2001 - *Effects of wheat cultivar and temperature on suppression of Rhyzopertha dominica (Coleoptera: Bostrichidae) by the parasitoid Theocolax elegans (Hymenoptera: Pteromalidae)*. - Biol. Control, 21: 120-127.

230 - Pagina bianca

ACARI DELLE DERRATE: INVASIVITÀ E PROBLEMATICHE ALLERGENICHE E DI CONTROLLO

SAURO SIMONI^a - ENRICO DE LILLO^b

^a *Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria, Centro di ricerca per la Difesa e la Certificazione (CREA-DC). Via Lanciola 12/a, 50125, Firenze, Italia; e-mail: sauro.simoni@crea.gov.it*

^b *Università degli Studi di Bari Aldo Moro - Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti (Di.S.S.P.A.). Via G. Amendola, 165/a, 70126, Bari, Italia; e-mail: enrico.delillo@uniba.it*

Lettura tenuta durante la Tavola Rotonda "Nuove tecnologie per la difesa delle derrate alimentari". Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 15 novembre 2019.

Storage mites: invasivity, allergenic and control problems

Presence and infestations of astigmatid mite pests in post harvest steps, stored food and products can cause enormous economic losses through direct damage and contamination of food products. Mites are broadly distributed in a wide range of habitats. Several species are major pests of flour, grain, seeds, nuts, cheeses and stored meats. Furthermore, mites can vector fungi and bacteria and produce allergens that can affect operators and consumers.

Under increased worldwide trading, the industries are committed to maintain the "zero tolerance" policy for live insects and mites and other biological contaminations. The management of Astigmata pests - mainly Glycyphagidae and Acaridae - in stored food and products, by reducing and avoiding chemical applications and pest resistance, is largely and urgently expected.

Several factors can determine biological traits and risk potential of these mites. The importance of some crucial items concerning temperature, relative humidity and allergenic importance are approached.

KEY WORDS: Astigmata, sustainable control, temperature-humidity tolerance, allergy.

Insetti, acari e roditori sono tra le maggiori cause di alterazione e perdita dei prodotti agricoli lungo il percorso produttore - consumatore (ATHANASSIOU *et al.*, 2018) e l'impatto degli acari è stato rilevato in costante incremento (HOY, 2011). La quota complessiva di perdita di prodotti alimentari nella filiera raccolta - conservazione/trasformazione - mercato/rilascio è indubbiamente cospicua (REZAEI e LIU, 2017) (Fig. 1), ma la precisa attribuzione alle singole cause di perdita è spesso complessa e altamente correlata al tipo di prodotto e alle aree geografiche di produzione e destinazione. L'azione degli artropodi è sicuramente di rilievo ma è difficilmente enucleabile in tale contesto. Tuttavia, si stima come le perdite dovute agli insetti sulle derrate in magazzino possano raggiungere il 9% del quantitativo nei paesi sviluppati e almeno il 20% nei paesi in via di sviluppo (PHILIPS e THRONE, 2010). Nonostante ciò, le risorse destinate a favorire l'innovazione e il consolidamento delle strategie di difesa dei prodotti da agenti biotici di varia natura e del loro mantenimento in sicurezza attraverso la ricerca di base e applicata sono nettamente inferiori a quelle destinate all'incremento quantitativo della produzione (KADER, 2005; MINOR *et al.*, 2019) (Fig. 2).

Numerosi studi si sono occupati di approfondire e comprendere gli aspetti bio-etologici che favoriscono

il successo degli acari delle derrate, il loro impatto e le relative strategie di gestione, prendendo in considerazione anche l'altrettanto importante aspetto allergologico (O'FARRELL e BUTLER, 1948; CUSACK *et al.*, 1975; ZDARKOVA, 1998; THIND e CLARKE, 2001; KUCEROVA e HORAK, 2004; HUBERT *et al.*, 2006; STEJSKAL *et al.*, 2015). Il confronto tra i risultati di molti di questi studi appare spesso problematico in seguito alle diverse condizioni e ai modelli sperimentali adottati, seppure appaiono in grado di fornire alcuni elementi di carattere generale. Gli acari sono tra le principali avversità delle materie prime immagazzinate e manifestano una spiccata aggressività verso queste quando le condizioni di conservazione dei prodotti richiedono o comportano elevati contenuti di umidità ambientale (HUGHES, 1976; VAN HAGE-HAMSTEN e JOHANSSON, 1992; COLLOFF, 2009). Numerose specie delle famiglie Acarididae, Glycyphagidae, Choroglyphidae, Carpoglyphidae, Histiotomidae, Pyroglyphidae, tutte appartenenti agli Astigmata, possono infestare i prodotti agricoli in magazzino e in ambienti di lavorazione o commerciali (per es. cereali, frutta secca, formaggi, spezie, insaccati, cibo per animali domestici, ecc.). Anche acari Prostigmata e Mesostigmata possono trovarsi associati a questi prodotti ma manifestano un diverso regime trofico

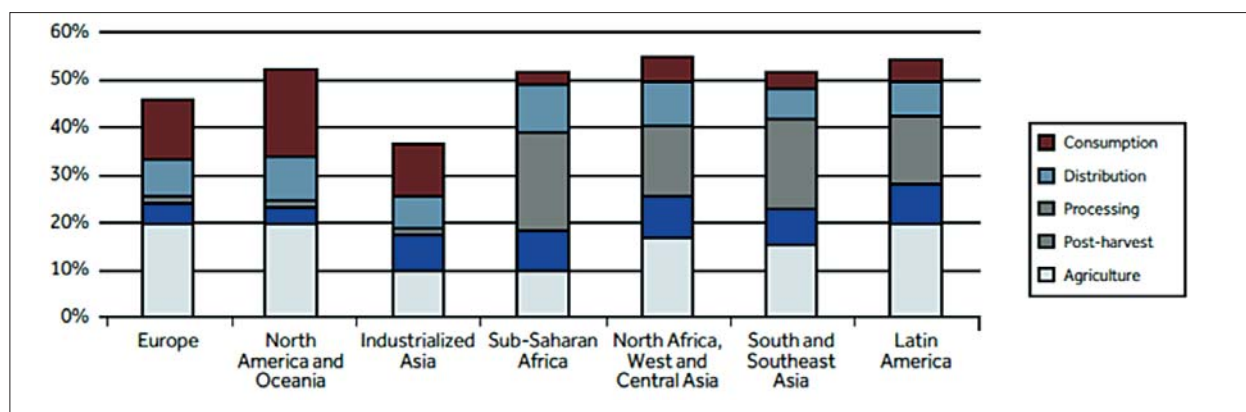


Fig. 1 – Quota percentuale in peso persa o sprecata nella filiera ‘campo-consumatore’ per frutta e vegetali in regioni differenti del mondo. Con il termine ‘agriculture’ si indicano le perdite che si verificano durante il raccolto e la susseguente selezione; con ‘post-harvest’ si inquadrano le perdite che si verificano durante le operazioni di gestione, trasporto e immagazzinamento immediatamente dopo il raccolto e prima del trattamento/lavorazione dei prodotti (modificato da REZAEI e LIU, 2017).

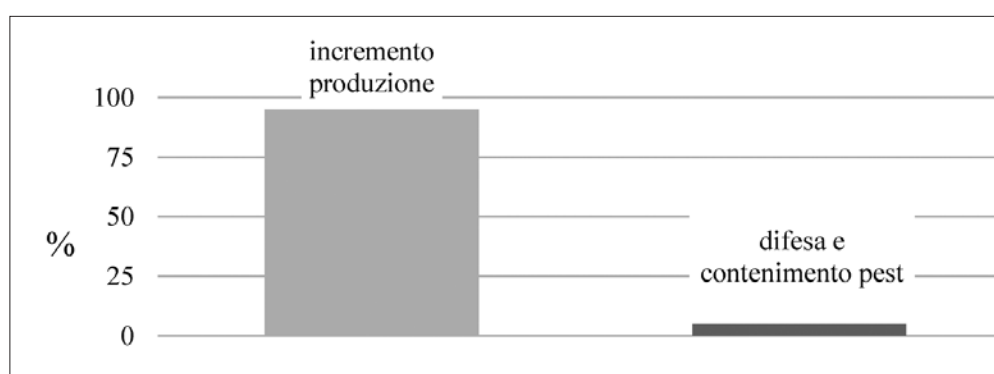


Fig. 2 – Quota percentuale e rispettivo ambito di destinazione del budget investito in ricerca nell’ultimo trentennio (sintesi da KADER 2005; AULAKH *et al.*, 2013).

essendo predatori, micofagi o detritivori. I prodotti conservati rappresentano il pabulum di ecosistemi semplificati, particolarmente sensibili ed esposti a colonizzazioni di organismi di varia natura, che entrano in reti trofiche caratterizzate dalla presenza di entità rese cosmopolite dal diffuso commercio dei prodotti a cui sono associati. La densità degli acari può aumentare rapidamente in condizioni favorevoli di temperatura e umidità del materiale conservato e/o dell’ambiente di conservazione con effetti altamente negativi sulla qualità del materiale immagazzinato sia per azione diretta, attraverso la loro azione trofica (PARKINSON, 1990), che indiretta, attraverso la diffusione di batteri e funghi (HUBERT *et al.*, 2004) e/o provocando anche reazioni allergiche negli operatori e consumatori (FERNÁNDEZ-CALDAS *et al.*, 2008) per l’azione dei classici acari delle polveri (Astigmata: Pyroglyphidae: *Dermatophagoides pteronyssinus*, *D. farinae*, *Euroglyphus maynei*). A riguardo, il rinvenimento di popolazioni miste tra acari delle derrate e acari delle polveri risulta sempre più frequentemente documentato (JÖGI *et al.*, 2020).

L’acquisizione di conoscenze sulle specie di acari delle derrate, sulla loro distribuzione, dinamica e prevalenza in aree e contesti specifici è da ritenersi imprescindibile anche se, a volte, appare comples-

sa o trascurata nella progettazione di programmi di gestione efficaci, data la complessità e la natura dei fattori che intervengono nella strutturazione dell’infestazione delle derrate.

Nel presente contributo si vuole porre l’attenzione su alcuni fattori abiotici che possono avere un ruolo sempre più critico nella gestione degli acari delle derrate (COLLINS, 2012), nonché gli effetti negativi della presenza di acari sugli alimenti da un punto di vista allergologico. Bisogna rimarcare come si possa sempre più diffondere e consolidare la presenza cosmopolita di specie di acari che rivestono un ruolo altamente considerevole per la salubrità dei prodotti e per la salute delle persone, alla luce del netto incremento del commercio mondiale, delle nuove e intense dinamiche geografico-ambientali che coinvolgono la popolazione umana e del rispetto delle loro esigenze culturali anche al di fuori delle aree di origine dei consumatori.

TEMPERATURA

Gli acari sono organismi tipicamente pecilotermi e il loro ciclo vitale è dipendente dalla temperatura e dalle sue fluttuazioni. È ampiamente noto come

gli acari delle derrate siano altamente resistenti alle condizioni di bassa temperatura usuali in depositi o nella logistica di conservazione dei prodotti (STEJSKAL *et al.*, 2019). Sulla base di dati disponibili in letteratura, STEJSKAL *et al.* (2019) hanno recentemente analizzato le soglie termiche inferiore di sviluppo individuale (*i.e.* temperatura alla quale si arresta lo sviluppo dell'individuo - LDT) e della popolazione (*i.e.* temperatura alla quale gli artropodi si moltiplicano garantendo un minimo incremento numerico della popolazione - LPT) in 15 specie di acari tra le più comunemente presenti su prodotti immagazzinati (Fig. 3). I valori medi della soglia termica inferiore è risultata di $6,8 \pm 1,1^{\circ}\text{C}$ per lo sviluppo individuale e di $11,4 \pm 1,2^{\circ}\text{C}$ per lo sviluppo della popolazione. Appare comunque evidente l'incompletezza e l'eterogeneità dei dati in letteratura. Il confronto tra gli ordini di artropodi, le cui specie sono frequenti in ambienti di conservazione - trasformazione, ha mostrato profonde differenze. Infatti, i valori medi della soglia termica inferiore di

sviluppo individuale sono i più bassi per gli Acari, leggermente più elevati per i Ditteri, mentre Psocoptera, Coleoptera e Blattodea mostrano soglie sensibilmente più alte (Fig. 4). Questi dati indicano come anche decrementi controllati della temperatura nella filiera campo - consumo non limitano le popolazioni degli acari al contrario di quanto avviene per gli altri taxa. Inoltre, gli acari sono in grado di manifestare il raddoppiamento delle densità delle loro popolazioni in tempi estremamente limitati anche a basse temperature e ciò è decisamente più evidente in acari delle derrate rispetto a quelli delle polveri a pari condizioni di temperatura e umidità (Tab. 1) (COLLOFF, 2009).

L'approfondimento della conoscenza dei meccanismi biochimici e genomici che presiedono alla risposta biologica di queste specie a condizioni estreme di temperatura potrebbe consentire l'applicazione di un approccio biotecnologico innovativo nella gestione di questi organismi (TIANRONG *et al.*, 2018; YANG *et al.*, 2019).

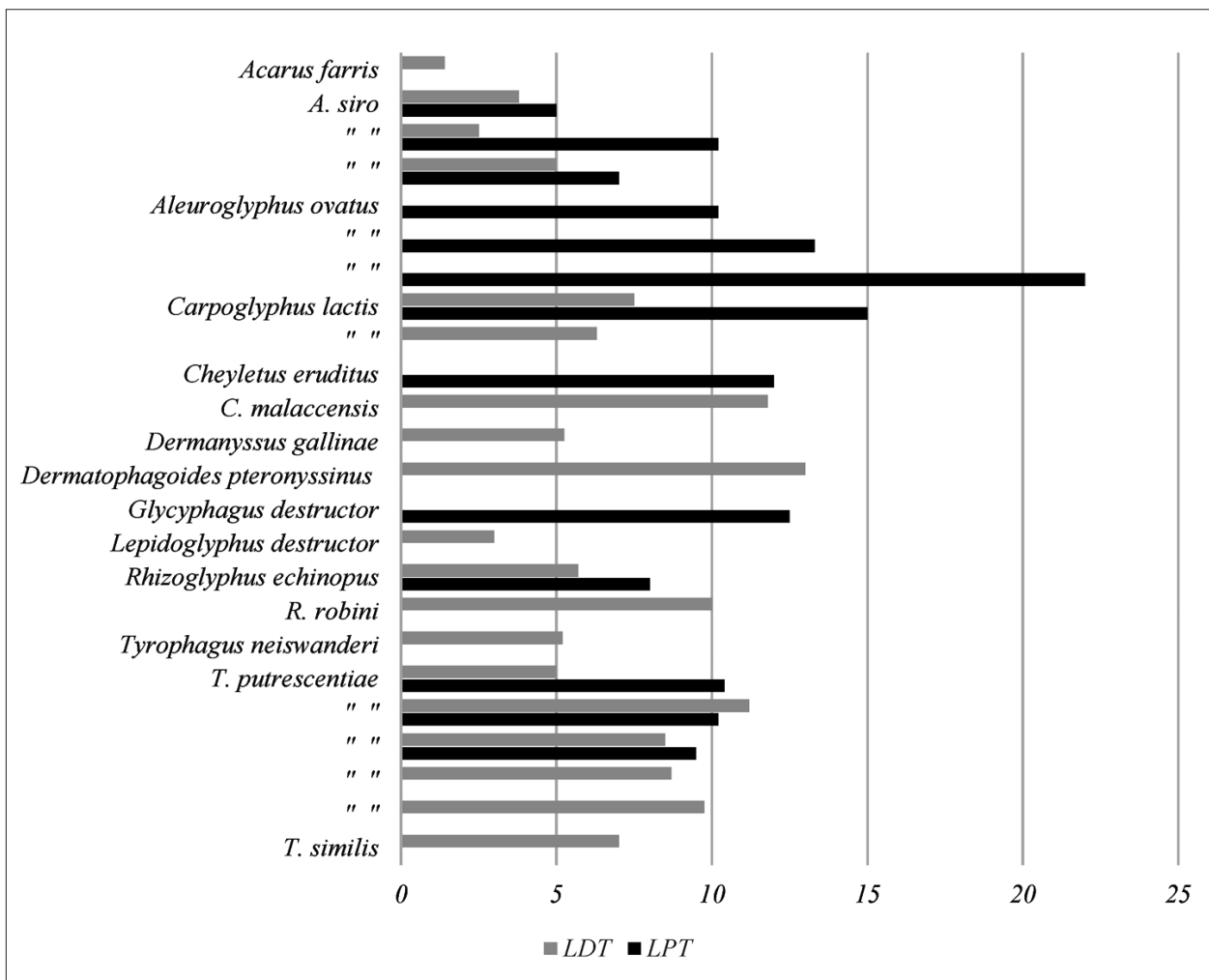


Fig. 3 – Valori medi per la soglia termica inferiore di sviluppo individuale (LDT) e per la soglia termica inferiore di sviluppo della popolazione (LPT) di 15 specie di acari (tratto da STEJSKAL *et al.*, 2019).

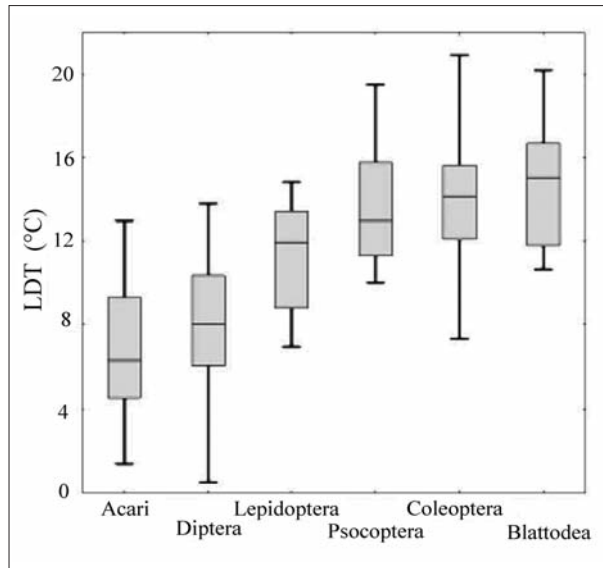


Fig. 4 – Boxplot che riporta le soglie termiche medie di sviluppo individuale (LDT) per sei ordini cui appartengono numerose specie di organismi infestanti le derrate alimentari e in conservazione a vari livelli: acari, ditteri, lepidotteri, psocotteri, coleotteri, blattoidei.

Tabella 1 – Caratteristiche biologiche di acari Glycyphagidae e Acaridae, tipici infestanti delle derrate, e Pyroglyphidae, acari delle polveri: tasso finito di incremento e tempo di raddoppio della popolazione (modificato da COLLOFF, 2009).

Taxon	T°C	UR%	specie	Tasso finito di incremento (giorno ⁻¹)	Tempo di raddoppio della popolazione (gg)
Glycyphagidae	25	85	<i>Glycyphagus domesticus</i>	1,12	8,1
	25	85	<i>Lepidoglyphus destructor</i>	1,13	7,5
Acaridae	28	85	<i>Acarus siro</i>	1,2	5,1
	30	90	<i>Tyrophagus putrescentiae</i>	1,9	1,1
Pyroglyphidae	25	75	<i>Euroglyphus maynei</i>	1,03	39,2
	26,5	75	<i>Dermatophagoides farinae</i>	1,05	21,6
	25	75	<i>D. pteronyssinus</i>	1,04	24,3

UMIDITÀ

Gli Astigmata non possiedono stigmi e trachee, hanno cuticola debolmente sclerificata e la loro respirazione - traspirazione avviene per via tegumentale (COLLOFF, 2009). WHARTON e ARLIAN (1972) hanno evidenziato l'importanza dell'osmoregolazione negli acari, in particolare molto critica per gli Astigmata, che ricorrono a strategie e strutture morfo-funzionali che regolano il rapporto della concentrazione dell'acqua rispetto all'ambiente circostante, dovendo gestire frequentemente equilibri contro gradiente. La necessità di mantenere un determinato contenuto idrico per gli Astigmata e, quindi, per gli acari delle derrate può rappresentare una criticità dal punto di vista biologico ma anche un'espressione evoluta delle strutture mor-

fologiche preposte alla gestione dell'osmoregolazione e delle strategie vitali di tali organismi. Un esempio rilevante di adattamento morfo-funzionale è costituito dalle ghiandole sopracoxali, organi principali di escrezione e osmoregolazione in molti artropodi, le quali funzionano anche come mezzo di estrazione di acqua dall'aria insatura in molti Astigmata (WHARTON e FURUMIZO, 1977).

Gli acari delle derrate hanno, in genere, dimensione del corpo maggiore e delle uova simile a quelle degli acari delle polveri. Pertanto, la necessità di ridurre la perdita di acqua all'ovideposizione può incidere sulla fecondità che è più contenuta negli acari delle polveri (COLLOFF, 2009). Per proteggersi da contesti sfavorevoli, gli Astigmata sembrano poter sfruttare anche fenomeni di aggregazione interspecifica che coinvolgono tutti gli stadi di sviluppo e che potrebbero essere regolati da feromoni di aggregazione in comune (CARR e ROE, 2016). Gli acari delle derrate, inoltre, mostrano una più spiccata e tempestiva tendenza a percepire e dirigersi verso siti con più alta umidità rispetto ad altri Astigmata. Recenti esperienze hanno evidenziato come *Glycyphagus domesticus* sia nettamente più pronto nel recepire e più costante nel permanere in microecosistemi a più elevata umidità relativa rispetto ad alcuni acari delle polveri (Fig. 5) (SIMONI *et al.*, osservazioni personali). La necessità di disporre di alti livelli di umidità ambientale soddisfa chiaramente anche le esigenze termo-igrometriche dei funghi con i quali gli acari hanno intime associazioni simbiotiche di diverso genere, inclusa la loro dispersione passiva naturale.

Tutti questi adattamenti e altri non citati dipendono da numerosi fattori intrinseci, da feedback ambientali e significativamente dall'attività critica all'equilibrio (*Critical Equilibrium Activity*) la quale è specie-dipendente e rappresenta il valore minimo di umidità ambientale al di sotto del quale gli acari non sono in grado di estrarre acqua dall'aria rendendo negativo il loro bilancio idrico, portandoli a disidratazione e morte (WHARTON e ARLIAN, 1972). Quali siano i fattori morfologici, funzionali, biochimici che più incidano su queste caratteristiche, fino a che punto tale grado di flessibilità sia estendibile, come le femmine possano modificare tali parametri sono aspetti ancora da indagare esaustivamente.

ALLERGIA

Più di 250 specie di acari compromettono la salute dell'uomo e degli animali domestici causando irritazioni temporanee della pelle in seguito alla loro azione trofica, dermatiti persistenti per infestazione della pelle o dei follicoli piliferi, allergie, trasmissione di patogeni e

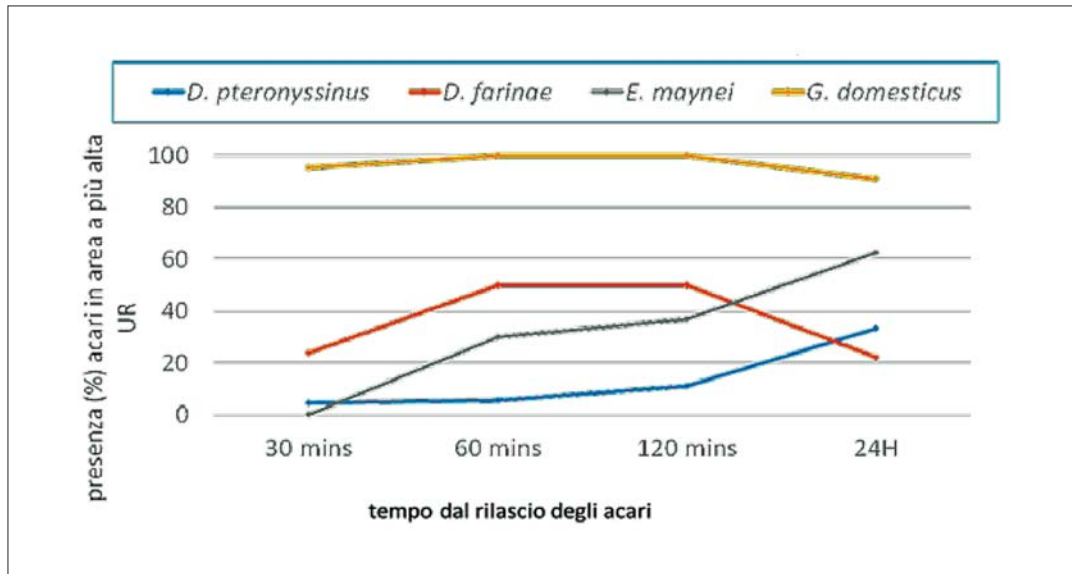


Fig. 5 – Percentuale di preferenza di individui delle specie *Glycyphagus Domesticus* (acaro delle derrate), *Dermatophagoides. pteronyssinus*, *D. farinae*, *Euroglyphus maynei* (acari delle polveri) in area con alta UR (>75%) rispetto alla bassa (<25%) in un esperimento di esposizione della durata di 24 ore.

parassiti, invasione delle vie respiratorie, canali auricolari e occasionalmente organi interni, panico (acarofobia), acariosi illusoria (condizione psicologica in cui si è convinti di essere attaccati dagli acari) (MULLEN e CONNOR, 2019).

La numerosità dei casi di malattie allergiche è aumentata vistosamente negli ultimi decenni tanto da divenire un consistente e costante problema di salute pubblica (LACK, 2008; STEJSKAL *et al.*, 2018). Per quanto alcune statistiche siano complesse da definire, si stima che il 10-20% della popolazione mondiale sia affetto da asma, rinite allergica o dermatite da contatto, che il 6-8% dei bambini di età inferiore ai 3 anni e il 2-3% della popolazione generale abbia qualche tipo di allergia alimentare (CUI, 2013).

Gli acari delle polveri domestiche e dei prodotti di stoccaggio sono un'importante fonte di allergeni che possono indurre reazioni allergiche IgE-mediate con espressioni variabili da lievi a molto gravi. Le diverse cause di allergie lungo la filiera campo - tavola si possono facilmente sovrapporre con manifestazioni di reazioni allergiche crociate sempre più frequentemente riconosciute e distinte (MORALES *et al.*, 2015), al contrario di quanto avveniva in passato (SARIDOMICHELAKIS *et al.*, 2008). Tuttavia la diagnosi e l'identificazione delle allergie causate da acari sono complicate dalla commistione delle specie e dei substrati colonizzati. Infatti, fenomeni di allergia crociata possono essere determinate anche da acari delle derrate la cui densità è frequentemente sottostimata rispetto ad altri Astigmata (REBOUX *et al.*, 2019). Tra l'altro, le allergie alimentari sono spesso definite dopo aver proceduto alla verifica che gli acari non sono gli

agenti responsabili, in quanto i test di laboratorio non supportano il medico e la diagnosi di queste allergie è basata sulla eliminazione/reintroduzione di alimenti sospetti nella dieta (FIOCCHI e DAHDAH, 2013). Infine, l'anafilassi orale (o aerea) dovuta agli acari, detta anche 'Pancake Syndrome', è caratterizzata da gravi e improvvise manifestazioni allergiche che si verificano in pazienti atopici dopo l'assunzione di alimenti a base di farina di frumento contaminata da acari - delle polveri e delle derrate - i cui allergeni sono termoresistenti alla cottura (SÁNCHEZ-BORGES *et al.*, 2009).

CONCLUSIONI

Il quadro che si ottiene da questa breve sintesi evidenzia chiaramente una carenza, frammentarietà ed eterogeneità delle conoscenze sulla moltitudine di produzioni e trasformazioni agricole correntemente disponibili (STEJSKAL *et al.*, 2015). Questo aspetto diventa ancor più grave per un paese come l'Italia, caratterizzato da prodotti alimentari unici e irripetibili per tradizione, delicatezza dei processi produttivi e qualità organolettica-nutrizionale. I numerosi prodotti caseari, di trasformazione delle carni e da forno sono esposti a infestazioni in vari passaggi della filiera fino alla tavola del consumatore finale. La moltitudine degli ambienti di lavorazione e conservazione rende, ancora, alquanto complessa l'applicazione delle strategie di gestione e controllo. La gestione degli ambienti prevede sempre più il ricorso a un'attenta calibrazione dei fattori ambientali (temperatura e umidità) i quali, seppur impegnativi da gestire dal

punto di vista economico, sono sempre quelli più auspicati da applicare poiché limitano l'impiego di sostanze attive nella difesa delle derrate. Tuttavia, a questo riguardo, appare evidente come la gestione della temperatura possa risultare insoddisfacente nel contenimento degli acari se non associata a interventi di altra natura.

Sarebbe quanto mai auspicabile favorire indagini sugli acari delle derrate e delle polveri lungo il percorso produzione - tavola in un contesto multidisciplinare dove si integrano competenze specifiche del settore acarologico con quelle dei tecnologi alimentari e microbiologi, andando contro la tendenza di un disimpegno economico verso tale investimento (ADLER, 2013). Il luogo culturale-scientifico più appropriato sembra essere quello di European Food Safety Authority (EFSA) in cui strutturare sistematici e coordinati programmi di valutazione scientifica del rischio concernente gli organismi nocivi allo stoccaggio. È altamente auspicabile che indagini specifiche possano estendersi ampiamente proprio in Italia, riconosciuta da tutti come patria dell'eccellenza e della più ampia diversità alimentare.

RIASSUNTO

La presenza di acari Astigmata lungo il percorso produttore – consumatore può causare perdite economiche rilevanti e la contaminazione dei prodotti alimentari. Gli acari sono largamente diffusi e numerose specie sono dannose su granaglie e loro derivati, semi, frutta secca e disidratata, formaggi e insaccati. Inoltre, gli acari delle derrate sono vettori di funghi e batteri, come possono produrre allergeni responsabili di manifestazioni allergiche negli operatori del settore così come nei consumatori. Considerando la globalizzazione del commercio dei prodotti alimentari, i produttori devono garantire la salubrità di questi evitando qualsiasi forma di contaminazione biologica, acari inclusi. La gestione degli Astigmata, principalmente Glycyphagidae e Acaridae, senza il ricorso alla chimica, è largamente e urgentemente attesa.

Numerosi fattori possono influenzare le caratteristiche biologiche e l'impatto di questi acari sulle derrate. Temperatura, umidità dell'ambiente e la rilevanza allergenica sono stati esaminati nel presente contributo.

PAROLE CHIAVE: Astigmata, controllo sostenibile, tolleranza temperatura-umidità, allergia.

BIBLIOGRAFIA

ATHANASSIOU C.G., RUMBOS C.I., 2018 - *Emerging Pests in Durable Stored Products*. In: Recent Advances in Stored Product Protection, Athanassiou C. & Arthur F. Ed., Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 211-227.

AULAKH J., REGMI A., FULTON J., ALEXANDER C., 2013 - *Estimating Post-Harvest Food Losses: Developing a Consistent Global Estimation Framework*. - Annual Meeting, August 4-6, 2013, Washington, D.C., <https://EconPapers.repec.org/RePEc:ags:aaea13:150363>

CARR A.L., ROE M., 2016 - *Acarine attractants: chemoreception, bioassay, chemistry and control*. - Pestic. Biochem. Physiol., 131: 60-79.

COLLINS D.A., 2012 - *A review on the factors affecting mite growth in stored grain commodities*. - Exp. Appl. Acarol., 56: 191-208.

COLLOFF M.J., 2009 - *Dust Mites*. CSIRO Publishing, Collingwood, Australia & Springer, Dordrecht, The Netherlands, xvi+583 pp.

CUI Y., 2013 - *Structural biology of mite allergens*. - Mol. Biol. Rep., 40: 681-686.

CUSACK P.D., EVANS G.O., BRENNAN P.A., 1975 - *A survey of the mites of stored grain and grain products in the Republic of Ireland*. - Sci. Proc. R. Dublin Soc. Ser. B, 3: 273-329.

FERNÁNDEZ-CALDAS E., PUERTA L., CARABALLO L., LOCKEY R.F., 2008 - *Mite allergens*. - Cl. Aller. Im., 21: 161-182.

FIOCCHI A., DAHDAH L., 2013 - *L'allergia alimentare: panoramica su una patologia sempre più diffusa e multiforme*. - Rivista di Immunologia e Allergologia Pediatrica, 02/2013: 15-20.

HOY M.A., 2011 - *Agricultural Acarology: Introduction to Integrated Mite Management*. CRC Press, Boca Raton, FL, 430 pp.

HUBERT J., MUNZBERGOVA Z., KUCEROVA Z., STEJSKAL V., 2006 - *Comparison of communities of stored product mites in grain mass and grain residues in the Czech Republic*. - Exp. Appl. Acarol., 39: 149-158.

HUBERT J., STEJSKAL V., MUNZBERGOVÁ Z., KUBÁTOVÁ A., VÁNOVÁ M., ZD'ÁRKOVÁ E., 2004 - *Mites and fungi in heavily infested stores in the Czech Republic*. - J. Econ. Entomol., 97: 2144-2153.

HUGHES A.M., 1976 - *The mites of stored food and houses*. HMSO, London, 400 pp.

JÖGI N.O., KLEPPE OLSEN R., SVANES C., GISLASON D., GISLASON T., SCHLÜNSSEN V., SIGSGAARD T., SUNDBOM F., STORAAS T., BERTELSEN R.J., 2020 - *Prevalence of allergic sensitization to storage mites in Northern Europe*. - Clin. Exp. Allergy, 50: 372-382.

KADER A.A., 2005 - *Increasing food availability by reducing postharvest losses of fresh produce*. - Acta Hort., 682: 2169-2175.

KUCEROVA Z., HORAK P., 2004 - *Arthropod infestation in samples of stored seeds in the Czech Republic*. - Czech J. Genet. Plant. Breed., 40(1): 11-16.

LACK G., 2008 - *Epidemiologic risks for food allergy*. J. Allergy Clin. Immun., 121: 1331-1336.

MINOR T., THORNSBURY S., MISHRA A.K., 2019 - *The Economics of Food Loss in the Produce Industry*. Routledge, Taylor & Francis Group, 312 pp.

MORALES M., IRAOLA V., LEONOR J.R., BARTRA J., RODRIGUEZ F., BOQUETE M., HUERTAS Á.J., PANIAGUA M.J., PINTO H., CARNÉS J., 2014 - *Different sensitization to storage mites depending on the co-exposure to house dust mites*. - Ann. Allerg. Asthma Im., 114: 36-42.

MULLEN G.R., O'CONNOR B.M., 2019 - *Mites (Acari)*. In: Medical and Veterinary Entomology. Mullen G.R. & Durden L.A. (Eds), Academic Press, pp. 533-602.

O'FARRELL A.F., BUTLER P.M., 1948 - *Insects and mites associated with the storage and manufacture of food stuffs in Northern Ireland*. - Econ. Proc. R. Dublin Soc., 3(22): 343-407.

PARKINSON C.L., 1990 - *Population increase and damage by three species of mites on wheat at 20°C and two humidities*. - Exp. Appl. Acarol., 8: 179-193.

PHILLIPS T.W., THRONE J.E., 2010 - *Biorational Approaches to Managing Stored-Product Insects*. - Annu. Rev. Entomol., 55: 375-397.

REBOUX G., VALOT B., ROCCHI S., SCHERER E., ROUSSEL S., MILLON L., 2019 - *Storage mite concentrations are*

- underestimated compared to house dust mite concentrations.* - Exp. Appl. Acarol., 77: 511-525.
- REZAEI M., LIU B., 2017 - *Food loss and waste in the food supply chain.* - Nutfruit, 71: 26-27.
- SÁNCHEZ-BORGES M., SUÁREZ-CHACON R., CAPRILES-HULETT A., CABALLERO-FONSECA F., IRAOLA V., FERNÁNDEZ-CALDAS E., 2009 - *Pancake Syndrome (Oral Mite Anaphylaxis).* - World Allergy Organ J., 2(5): 91-96.
- SARIDOMICHELAKIS M.N., MARSELLA R., LEE K., ESCH R., FARMAKI R., KOUTINAS A., 2008 - *Assessment of cross-reactivity among five species of house dust and storage mites.* - Vet. Dermatol., 19(2): 67-76.
- STEJSKAL V., HUBERT J., AULICKY R., KUCEROVA Z., 2015 - *Overview of present and past and pest-associated risks in stored food and feed products: European perspective.* - J. Stored. Prod. Res., 64: 122-132.
- STEJSKAL V., HUBERT J., LI Z., 2018 - *Human Health Problems and Accidents Associated with Occurrence and Control of Storage Arthropods and Rodents.* In: Athanassiou C., Arthur F. (eds) Recent Advances in Stored Product Protection. Springer, Berlin, Heidelberg
- STEJSKAL V., VENDL T., LI Z., AULICKY R., 2019 - *Minimal Thermal Requirements for Development and Activity of Stored Product and Food Industry Pests (Acari, Coleoptera, Lepidoptera, Psocoptera, Diptera and Blattodea): A Review.* - Insects, 10(5): 149.
- THIND B.B., CLARKE P.G., 2001 - *The occurrence of mites in cereal-based foods destined for human consumption and possible consequences of infestation.* - Exp. Appl. Acarol., 25: 203-215.
- TIANRONG X., TAO L., XIAOYUE L., LEI L., SHENGQUAN Q., XINYU L., BIN X., 2018 - *Gene cloning and expression of heat shock protein gene from Aleuroglyphus ovatus and its response to temperature stress.* - Int. J. Acarol., 44(7): 279-287.
- VAN HAGE-HAMSTEN M., JOHANSSON S.G., 1992 - *Storage mites.* - Exp. Appl. Acarol., 16(1-2): 117-128.
- WHARTON G.W., ARLIAN L.G., 1972 - *Utilization of water by terrestrial mites and insects.* In: Insect and Mite Nutrition. Rodriguez J.G. Ed., North Holland Publishing Co., Amsterdam, pp. 153–165.
- WHARTON G.W., FURUMIZO R.T., 1977 - *Supracoxal gland secretions as a source of freshwater for Acaridae.* - Acarologia, 19(1): 112-116.
- YANG R., NIU., D.L., ZHAO Y.E., GONG X.J., HU L., AI L., 2019 - *Function of heat shock protein 70 in the thermal stress response of Dermatophagoides farinae and establishment of an RNA interference method.* - GENE, 705: 82-89.
- ZDARKOVA E., 1998 - *Mite fauna of stored grain in the Czech Republic.* - Plant Protec. Sci., 34(2):49-52.

238 - Pagina bianca