

**Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agroambientali**

**- Entomologia -**

**Analisi della selettività di insetticidi verso  
*Adalia bipunctata* (Col.: *Coccinellidae*)  
mediante un approccio di tipo  
demografico**

**Lanzoni Alberto, Sangiorgi Luca , De Luigi Valentino,  
Consolini Luana, Pasqualini Edison, Burgio Giovanni**



ALMA MATER STUDIORUM  
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA



**Mortalità acuta** → % mortalità,  $DL_{50}$  o  $CL_{50}$  → circa 95% degli studi pubblicati

## **Effetti subletali**

Individui che sopravvivono all'esposizione di un prodotto tossico possono ancora sottostare a danni significativi dovuti ad effetti subletali

- Riduzione della lunghezza della vita
- Riduzione del tasso di sviluppo
- Riduzione della fecondità
- Riduzione della fertilità
- Modificazioni della sex-ratio
- Modificazioni comportamentali

## Endpoint → effetti valutati singolarmente

Mortalità a seguito del trattamento → Effetto acuto

Effetti sulla riproduzione degli individui che sopravvivono all'esposizione all'insetticida:

- Fecondità
- Fertilità
- Periodo di preovideposizione
- Longevità

→ Effetti cronici  
(subletali)

→ Effetti sugli  
individui

Esposizione ad  
un insetticida



- mortalità
- effetti subletali

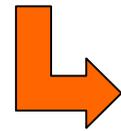
% mortalità



**Sottostima effetto  
totale di una sost.  
tossica**

fecondità, fertilità

## Approccio demografico (Life Table)



Effetti letali e subletali



Effetti sulla popolazione

Approccio demografico o “LIFE TABLE” fornisce ottimi strumenti per valutare **l'effetto totale** (letali e subletali) di un prodotto tossico proprio perché considera **tutti gli effetti** che esso può avere su una popolazione

Studio  
demografico  
o LTRE



Misura degli effetti che una sost.  
tossica produce a livello di  
popolazione mediante un numero

$r_m$

$\lambda$

# Materiali e metodi

Dosi:

- **Imidacloprid:** Confidor 10 ml/hl
- **Thiacloprid:** Calypso 5 ml/hl
- **Thiametoxam:** Actara 4 g/hl
- **Acetamiprid:** Epik 5 g/hl

**1/5 dose di  
etichetta per le  
drupacee**

Piante: pesco micropropagato ( $h \approx 25$  cm) in vaso

Trattamenti all'aperto, con irroratore a mano, fino al gocciolamento delle foglie

## Due prove → Larve & Adulti

*A. bipunctata* esposti  
ai neonicotinoidi allo  
stadio di larva di 3° età

24 ore esposizione

6 ore esposizione

♀♀ di *A. bipunctata*  
esposte ai  
neonicotinoidi allo  
stato adulto



- Allevamento delle  
larve sopravvissute

- Ottenimento di ♀♀

- Osservazione di 5  
♀♀ per tesi

- 3 repliche

- Osservazione di 4/5

- ♀♀ per tesi

- 3 repliche

- Ogni ♀ isolata con un maschio “non trattato”
- contenitore cilindrico ( $\varnothing = 6$  cm H = 8 cm)
- ambiente controllato (25 °C; UR 70%; 16:8 L:B)



Monitoraggio quotidiano per 15 gg:

- n° di uova deposte/♀ (Fecondità  $m_x$ )
- n° di uova schiuse /♀ (Fertilità  $h_x m_x$ )
- sopravvivenza delle ♀♀ ( $l_x$ )

$R_0 \rightarrow$  tasso riproduttivo netto

$$\sum l_x h_x m_x$$

(n° totale di femmine/femmina)

$r_m \rightarrow$  tasso intrinseco di crescita

$$\frac{\ln R_0}{T}$$

(n° femmine/femmina/x)

$\lambda \rightarrow$  tasso finito di crescita

$$e^{r_m}$$

(tasso di moltiplicazione della popolazione)

$T \rightarrow$  tempo medio generazione

$$\frac{\sum l_x h_x m_x x}{\sum l_x h_x m_x}$$

$Dt \rightarrow$  tempo di raddoppiamento

$$\frac{\ln 2}{r_m}$$

(tempo perché la popolazione raddoppi  
il suo valore iniziale)

$C_x \rightarrow$  proporzione ind. di età  $x$  in una popolazione stabile

$$\frac{e^{-r_m x} L_x}{\sum e^{-r_m x} L_x} \quad L_x = \frac{l_x + l_{(x+1)}}{2}$$

(distribuzione stabile d'età)

- *Sex-ratio* di 1:1
- Mortalità preimmaginale pari a 0
- Tempi di sviluppo tratti da Lanzoni *et al.*, 2004. *J. Appl. Entomol.*, 128: 298-306

## Stima della variabilità associata ai parametri delle Life-table: metodo Jackknife

$$R_0 - r_m - T - \lambda - DT$$

$$r_{m(j)} = n \times r_{all} - (n-1) \times r_{m(i)}$$

$$r_{m(mean)} = \frac{\sum_{j=1}^n r_{m(j)}}{n}$$

$$SEMr_{m(mean)} = \sqrt{\frac{VAR(r_{m(mean)})}{n}}$$

$$VARr_{m(mean)} = \frac{\sum_{j=1}^n (r_{m(j)} - r_{m(all)})^2}{n-1}$$

Matrice di Leslie → Modello di proiezione demografica per classi di età

$$\begin{pmatrix} n_1 \\ n_2 \\ n_3 \\ \vdots \\ n_z \end{pmatrix} (t+1) = \begin{pmatrix} F_1 & F_2 & F_3 & \cdots & F_z \\ p_1 & 0 & 0 & \cdots & 0 \\ 0 & P_2 & 0 & \cdots & 0 \\ \vdots & \cdots & \cdots & \cdots & \vdots \\ 0 & 0 & \cdots & P_{z-1} & 0 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} n_1 \\ n_2 \\ n_3 \\ \vdots \\ n_z \end{pmatrix} (t)$$

$n_{x(t)}$  = numero di ♀♀ vive nella classe di età  $x \rightarrow x+1$  al tempo  $t$

$P_x$  = probabilità che una femmina nella classe di età  $x \rightarrow x+1$  al tempo  $t$  sia viva nella classe di età  $x+1 \rightarrow x+2$  al tempo  $t+1$

$$P_x = \frac{L_{x+1}}{L_x}$$

$$L_x = \frac{l_x + l_{(x+1)}}{2}$$

$F_x$  = numero di ♀♀ nate nell'intervallo nell'intervallo  $t \rightarrow t+1$  per ♀ di età  $x \rightarrow x+1$  al tempo  $t$  che saranno vive nella classe di età  $0 \rightarrow 1$  al tempo  $t+1$

$$F_x = h_x m_x$$

Matrice di Leslie → Modello di proiezione demografica per classi di età

$$\mathbf{A} = \begin{pmatrix} F_1 & F_2 & F_3 & \cdots & F_z \\ p_1 & 0 & 0 & \cdots & 0 \\ 0 & P_2 & 0 & \cdots & 0 \\ \vdots & \cdots & \cdots & \cdots & \vdots \\ 0 & 0 & \cdots & P_{z-1} & 0 \end{pmatrix}$$

$\lambda$  (*tasso finito di crescita*) → Autovalore dominante di  $[\mathbf{A}]$        $r_m = \text{Ln } \lambda$

$$R_0 = \sum F_i \prod_{j=1}^{i-1} P_j \qquad T = \frac{\text{Ln } R_0}{r_m}$$

*Distribuzione stabile d'età* → Autovettore destro ( $\mathbf{w}$ )

*Valore riproduttivo di ciascuna classe di età* → Autovettore sinistro ( $\mathbf{v}$ )

## Perturbation analysis

Cosa succede ad una variabile dipendente se una o più variabili indipendenti vengono a modificarsi

Quanto  $\lambda$  risponde ai cambiamenti di ciascuno dei parametri biologici che contribuiscono ad esso

Sensitivity analysis → sensibilità di  $\lambda$  ai cambiamenti relativi a fecondità e sopravvivenza o in generale di un elemento di  $[\mathbf{A}]$

$$s_{ij} = \frac{w_j v_i}{\langle \mathbf{v} \times \mathbf{w} \rangle}$$

$v_i \rightarrow i$ -esimo elemento del vettore del valore riproduttivo

$w_j \rightarrow j$ -esimo elemento del vettore della distribuzione stabile d'età

Elasticity analysis → sensibilità proporzionale di  $\lambda$  ai cambiamenti relativi a fecondità e sopravvivenza o in generale di un elemento di  $[\mathbf{A}]$

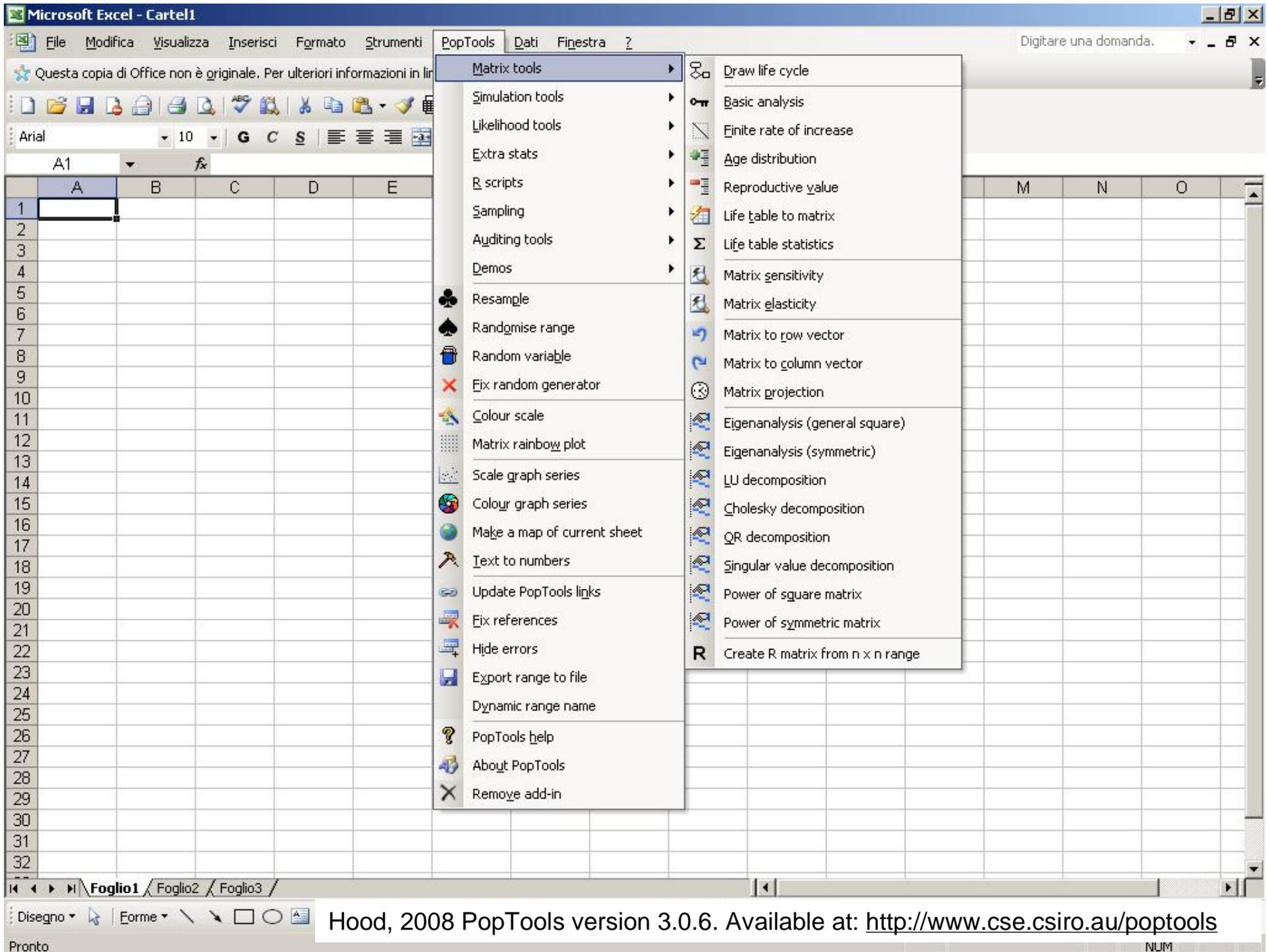
$$e_{ij} = \frac{a_{ij}}{I} \frac{\partial I}{\partial a_{ij}}$$

$a_{ij} \rightarrow$  elemento della fila  $i$  e colonna  $j$  di  $[\mathbf{A}]$

$\frac{\partial I}{\partial a_{ij}} \rightarrow$  sensibilità di  $\lambda$  a modificarsi in  $a_{ij}$

$$\mathbf{E} = \left( \frac{a_{ij}}{I} \frac{\partial I}{\partial a_{ij}} \right) \quad \sum_{ij} e_{ij} = 1$$

L'elasticità di  $\lambda$  rispetto a  $P_i$  e  $F_i \rightarrow$  permette di comparare in maniera proporzionale il contributo dei vari elementi a  $\lambda$



Hood, 2008 PopTools version 3.0.6. Available at: <http://www.cse.csiro.au/poptools>

Effetti acuti

Tesi	Mortalità
TESTIMONE	5,4
IMIDACLOPRID	53,7
THIACLOPRID	24,8
THIAMETOXAN	61,2
ACETAMIPRID	51,9

“Larve a contatto con l’insetticida”

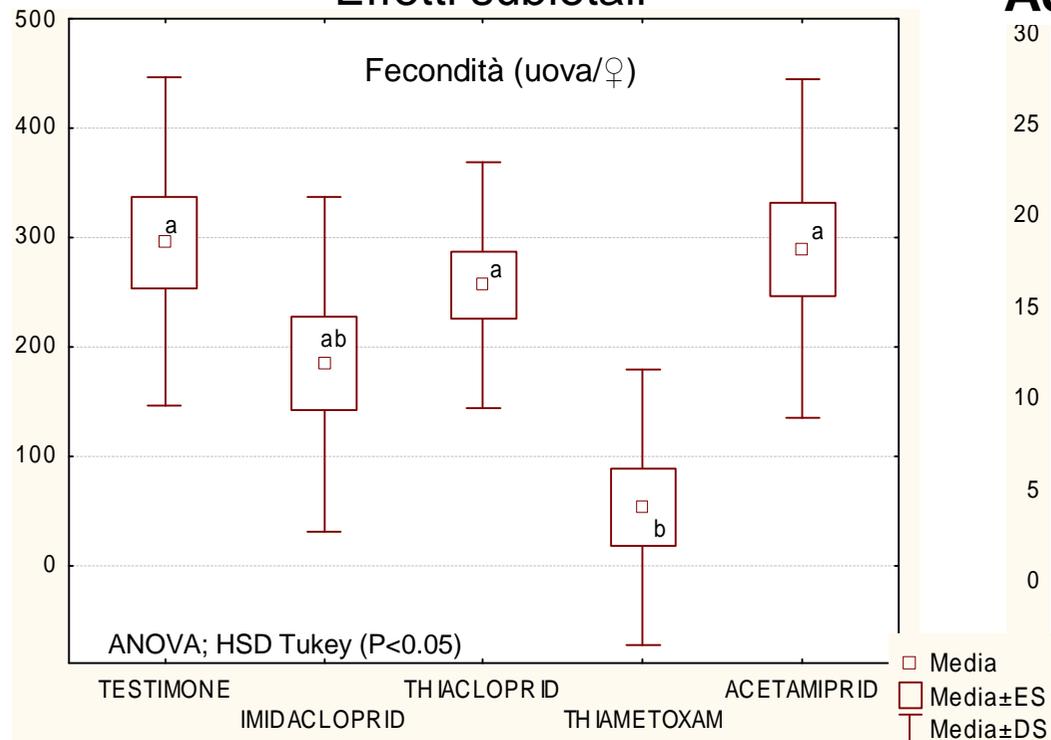
Misurazioni sugli individui

Effetti subletali

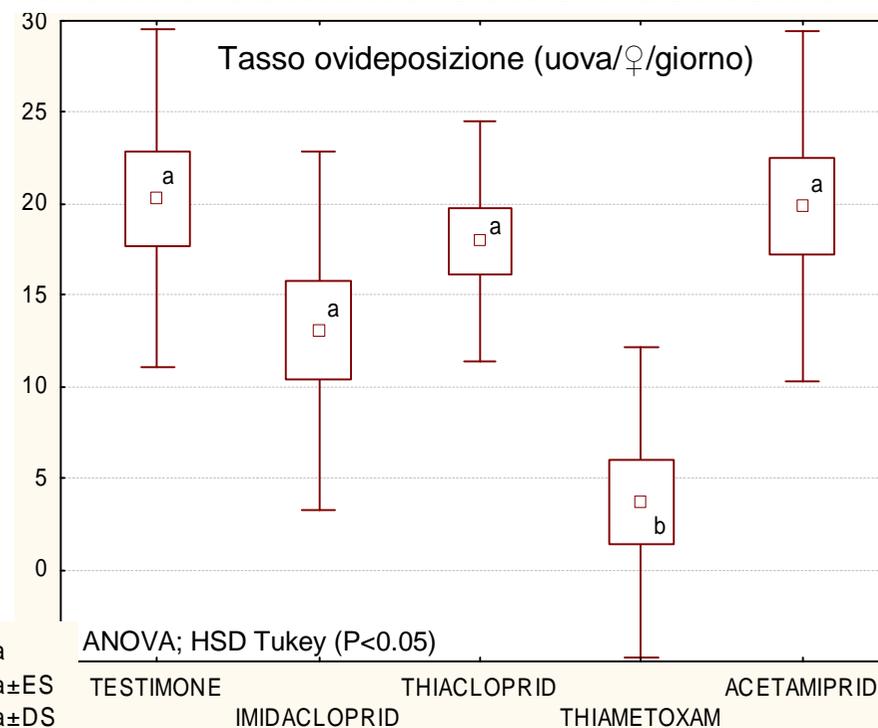
Tesi	Fecondità (uova/♀)	Tasso ovideposizione (uova/♀/giorno)	Fertilità (%)
TESTIMONE	338,3 ± 41,9	24,3 ± 2,9	61,78 ± 5,0
IMIDACLOPRID	302,5 ± 35,8	21,8 ± 2,5	49,86 ± 6,6
THIACLOPRID	279,5 ± 40,8	20,0 ± 2,9	51,14 ± 6,8
THIAMETOXAM	341,0 ± 43,0	24,4 ± 3,1	39,17 ± 8,4
ACETAMIPRID	271,7 ± 43,1	19,7 ± 3,1	44,31 ± 8,6
<i>P</i>	0,518	0,527	0,239

(Media ± ES) ANOVA

## Effetti subletali



## “Adulti a contatto con l’insetticida”



### Effetti acuti

Tesi	Mortalità
TESTIMONE	0,0
IMIDACLOPRID	36,7
THIAACLOPRID	10,5
THIAMETOXAM	28,2
ACETAMIPRID	24,1

Misurazioni sugli individui

Tesi	Fertilità (%)	Periodo preovideposizione (gg)
Testimone	39,1 ± 6,8	3,3 ± 0,2
Imidacloprid	16,4 ± 8,1	3,2 ± 0,2
Thiacloprid	32,4 ± 8,9	3,8 ± 0,3
Thiametoxam	24,6 ± 12,7	4,0 ± 0,6
Acetamiprid	35,3 ± 8,7	3,4 ± 0,4
<b>P</b> (Media ± ES) ANOVA	<b>0,179</b>	<b>0,671</b>

## Effetti a livello di popolazione

## “Larve a contatto con l’insetticida”

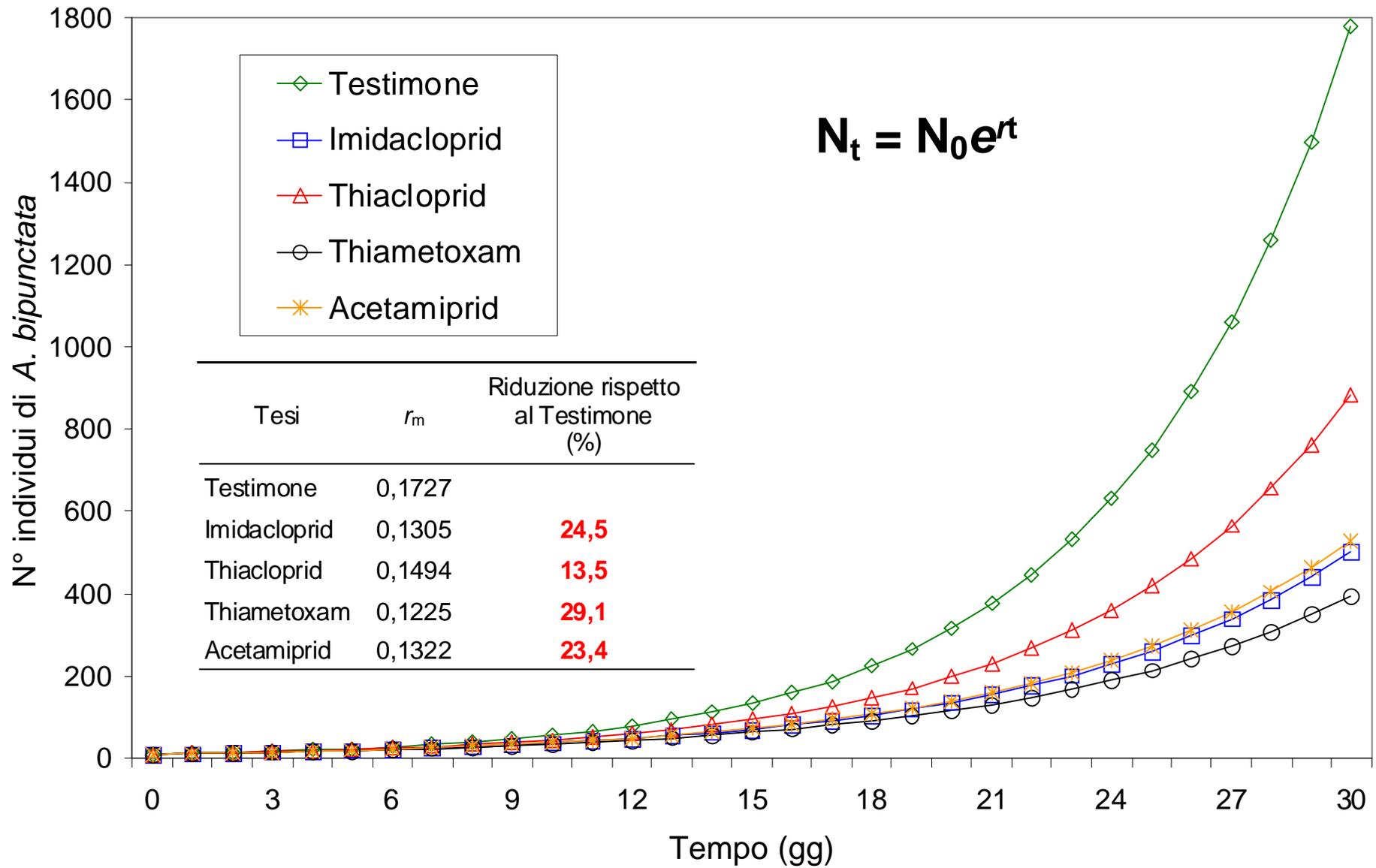
Tesi	$R_0$	T	$r_m$	DT	$\lambda$
Testimone	105,85 ± 15,16a	26,99 ± 0,15a	0,1727 ± 0,0053a	4,013 ± 0,124a	1,1885 ± 0,0063a
Imidacloprid	36,49 ± 6,50b	27,57 ± 0,43a	0,1305 ± 0,0066b	5,323 ± 0,272b	1,1394 ± 0,0076b
Thiacloprid	58,44 ± 10,53ab	27,24 ± 0,33a	0,1494 ± 0,0068ab	4,641 ± 0,209ab	1,1611 ± 0,0078ab
Thiametoxam	30,11 ± 8,36b	27,81 ± 0,26a	0,1225 ± 0,0106b	5,660 ± 0,503b	1,1303 ± 0,0120b
Acetamiprid	37,41 ± 9,31b	27,39 ± 0,33a	0,1322 ± 0,0102b	5,242 ± 0,415b	1,1414 ± 0,0116b
<i>P</i>	0,0005	0,085	0,0007	0,004	0,0006

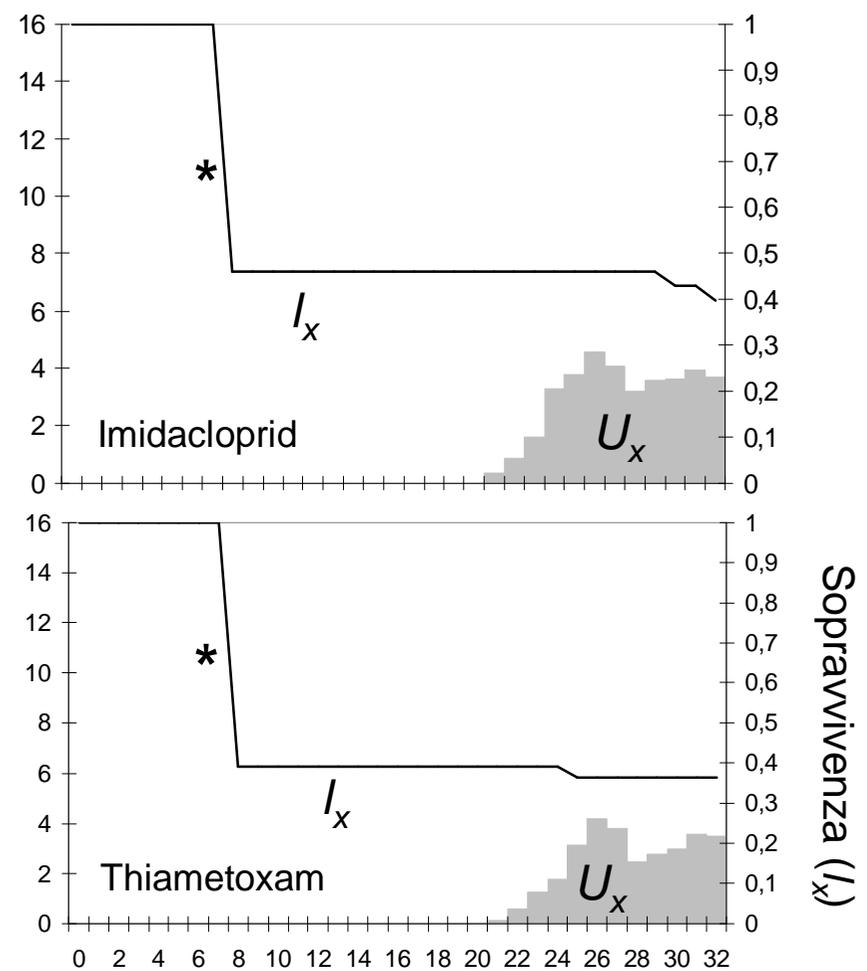
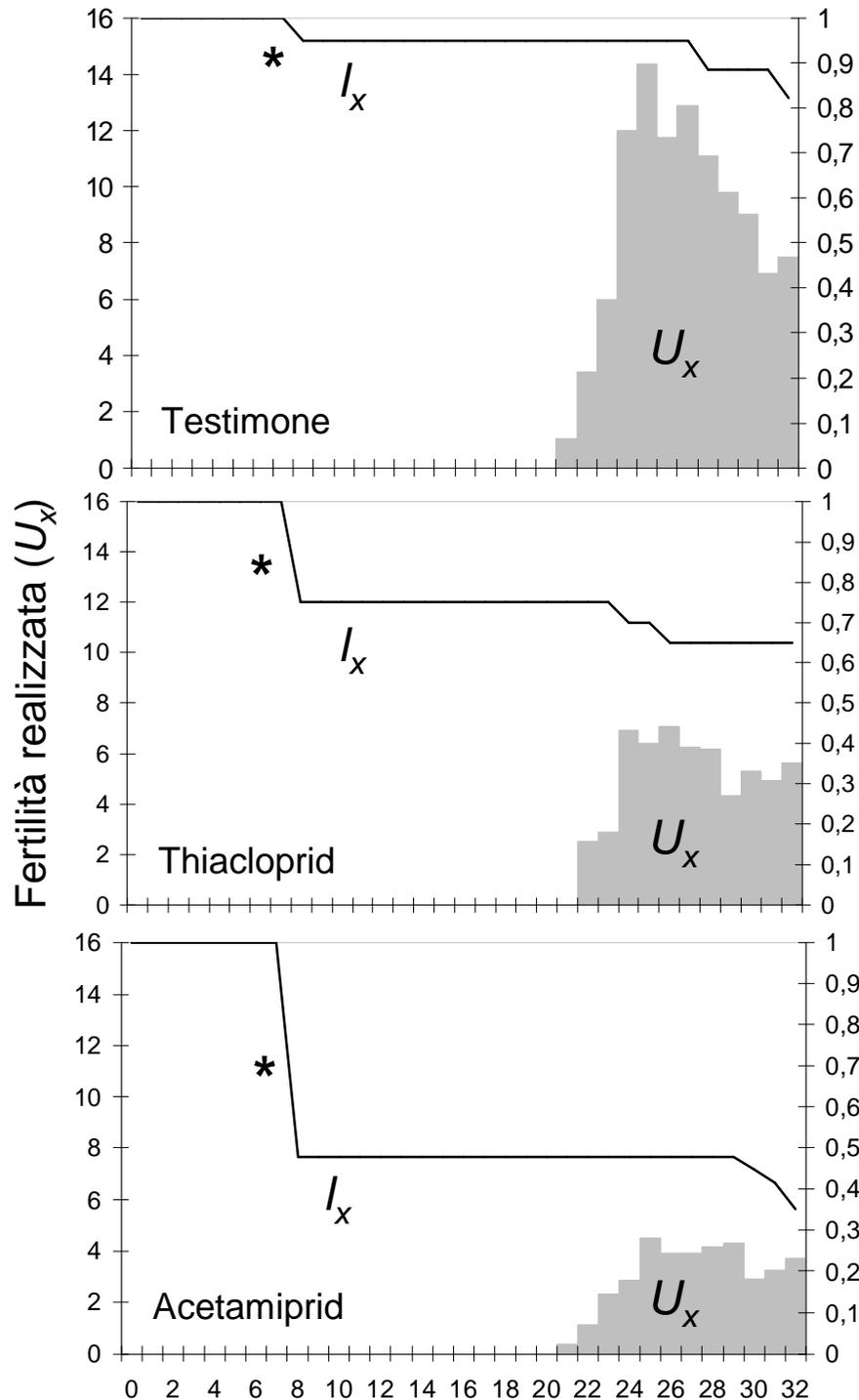
Test Kruskal-Wallis

### Distribuzione stabile d'età

	Testimone	Imidacloprid	Thiacloprid	Thiametoxam	Acetamiprid
Uovo	29,73	29,08	28,36	29,04	29,06
Larva	58,49	59,62	58,76	60,05	59,54
Pupa	7,85	6,61	8,12	6,24	6,73
Adulto	3,93	4,69	4,75	4,67	4,68

# “Larve a contatto con l’insetticida”





Andamento della sopravvivenza è simile per gli individui sopravvissuti al trattamento (\*)

Sebbene compresso dalla minor sopravvivenza l'andamento di  $U_x$  non mostra differenze rilevanti fra le tesi

Effetto principale → mortalità acuta

## “Adulti a contatto con l’insetticida”

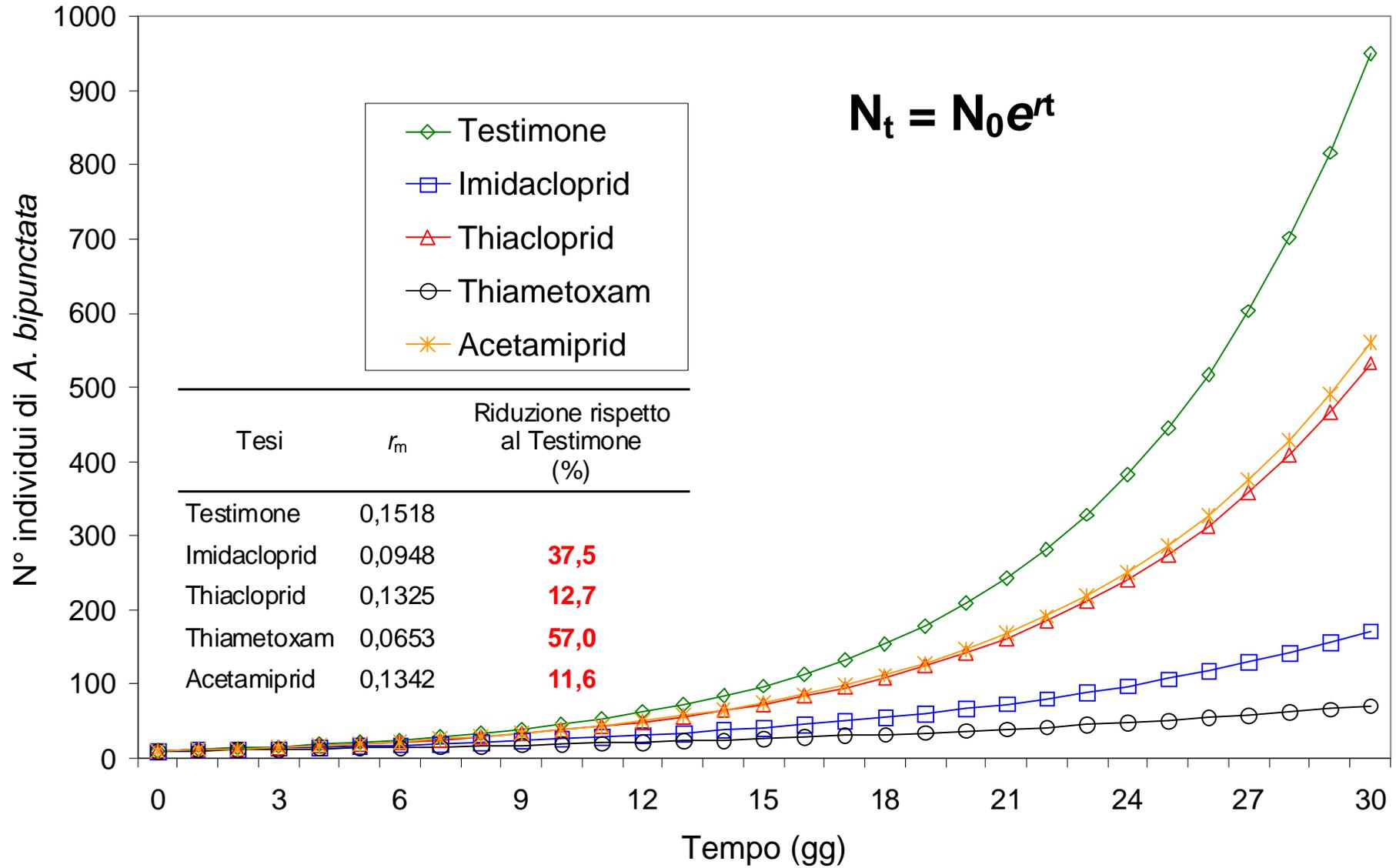
Tesi	$R_0$	T	$r_m$	DT	$\lambda$
Testimone	65,81 ± 13,62a	27,57 ± 0,47ac	0,1518 ± 0,0081a	4,565 ± 0,247a	1,1640 ± 0,0094a
Imidacloprid	12,66 ± 7,38bc	26,77 ± 1,91ab	0,0948 ± 0,0257bc	7,309 ± 2,579bc	1,0995 ± 0,0279bc
Thiacloprid	41,84 ± 12,03ab	28,18 ± 0,44c	0,1325 ± 0,0099ab	5,232 ± 0,394ab	1,1417 ± 0,0113ab
Thiametoxam	6,38 ± 4,36b	28,39 ± 0,30c	0,0653 ± 0,0318c	10,623 ± 8,087c	1,0674 ± 0,0336c
Acetamiprid	43,54 ± 14,91ac	28,13 ± 0,59ac	0,1342 ± 0,0140ab	5,166 ± 0,564ab	1,1436 ± 0,0159ab
<i>P</i>	0,0002	0,0008	0,0001	0,0001	0,0001

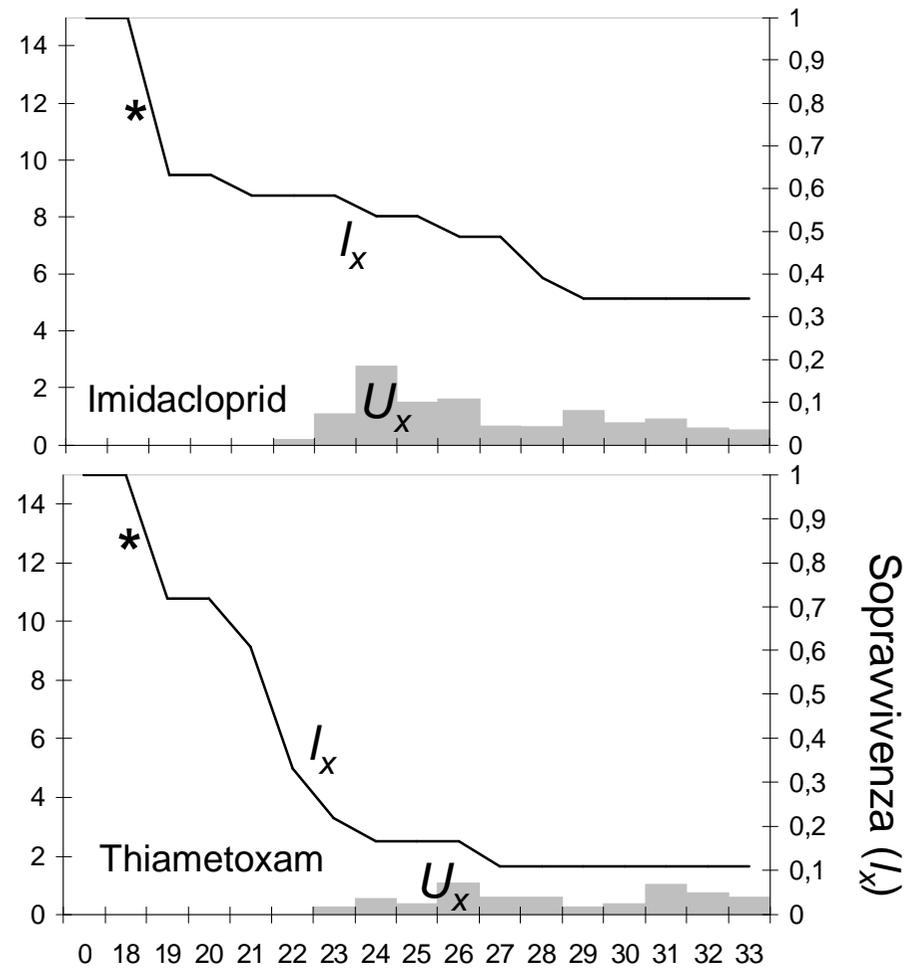
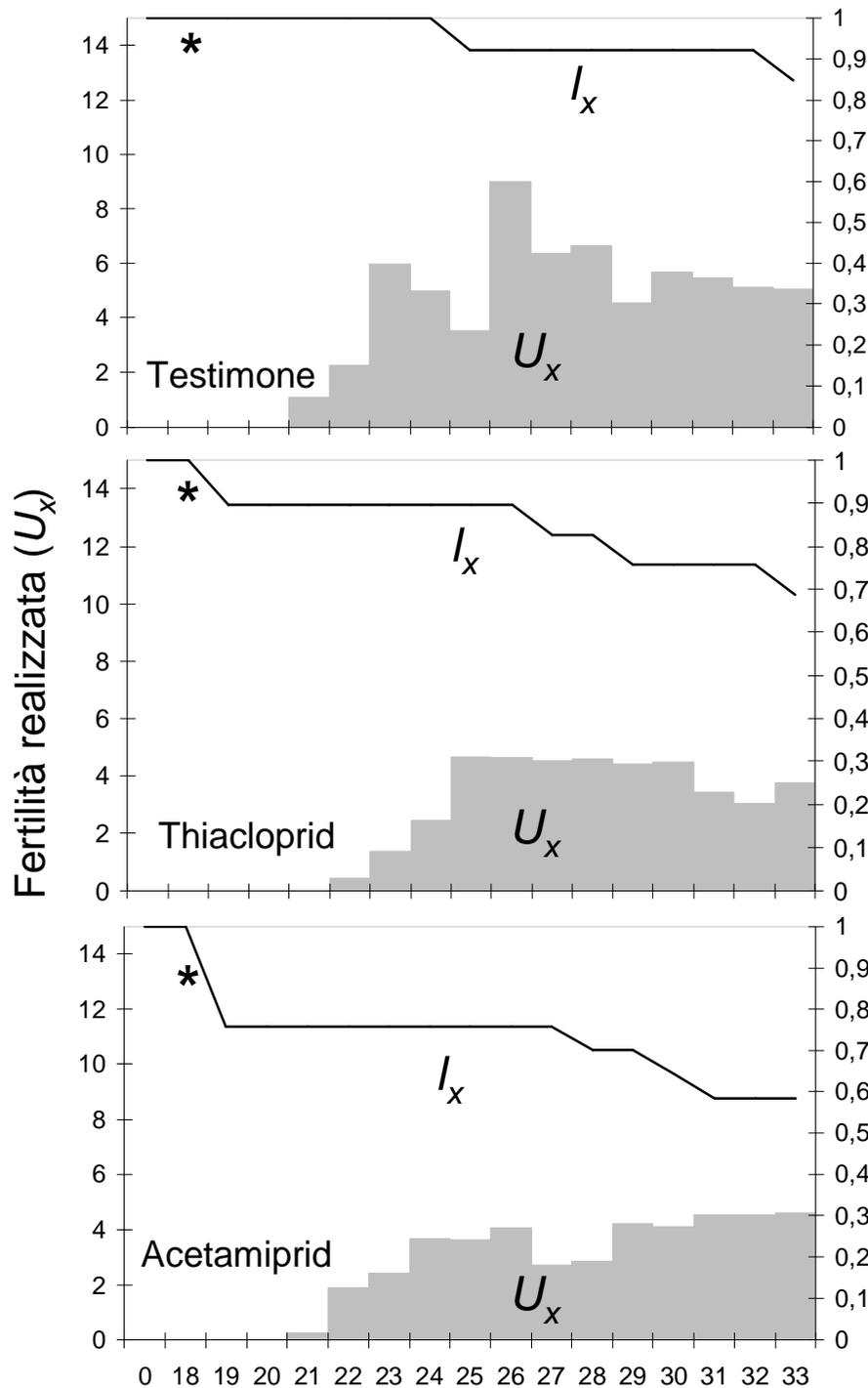
Test Kruskal-Wallis

### Distribuzione stabile d'età

	Testimone	Imidacloprid	Thiacloprid	Thiametoxam	Acetamiprid
Uovo	26,40	19,31	23,81	16,13	24,28
Larva	58,11	56,65	57,62	55,44	58,27
Pupa	9,75	15,54	11,44	19,52	11,40
Adulto	5,74	8,49	7,13	8,92	6,05

# “Adulti a contatto con l’insetticida”





Andamento della sopravvivenza simile al Test. per i sopravvissuti al trattamento (\*) con Thiacloprid Acetamiprid poco e decisamente diverso per Imidacloprid e Thiametoxam

$U_x$  non mostra differenze rilevanti fra le tesi

Effetto principale → mortalità acuta

→ mortalità cronica

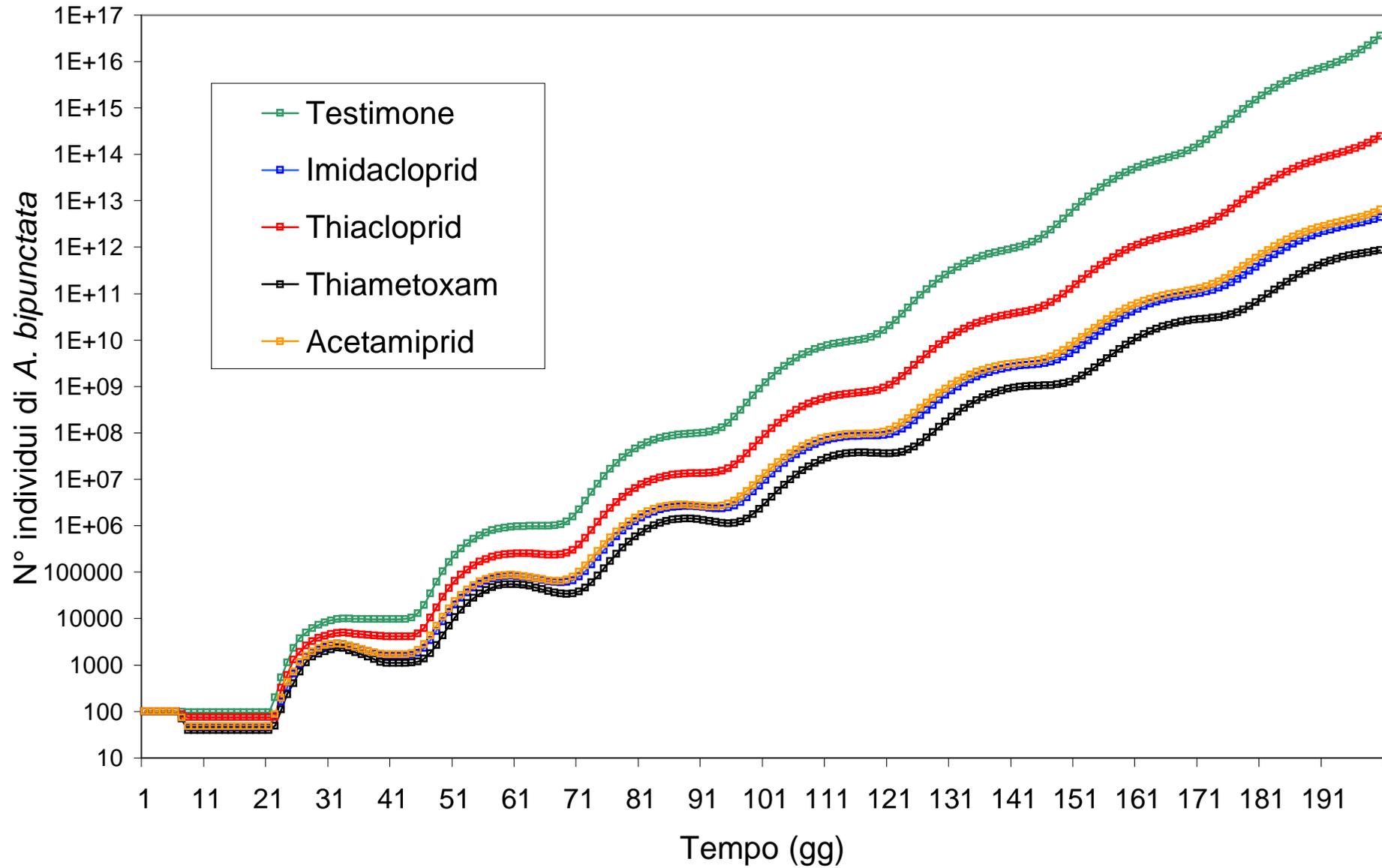
## “Larve a contatto con l’insetticida”

Modello di proiezione di una popolazione (Matrice di Leslie)

Tesi	$R_0$	T	$r_m$	DT	$\lambda$
Testimone	101,42	26,19	0,1764	3,929	1,1929
Imidacloprid	34,37	26,81	0,1319	5,254	1,1410
Thiacloprid	55,31	26,45	0,1517	4,568	1,1638
Thiametoxam	28,31	27,11	0,1233	5,621	1,1312
Acetamiprid	35,04	26,60	0,1337	5,184	1,1431

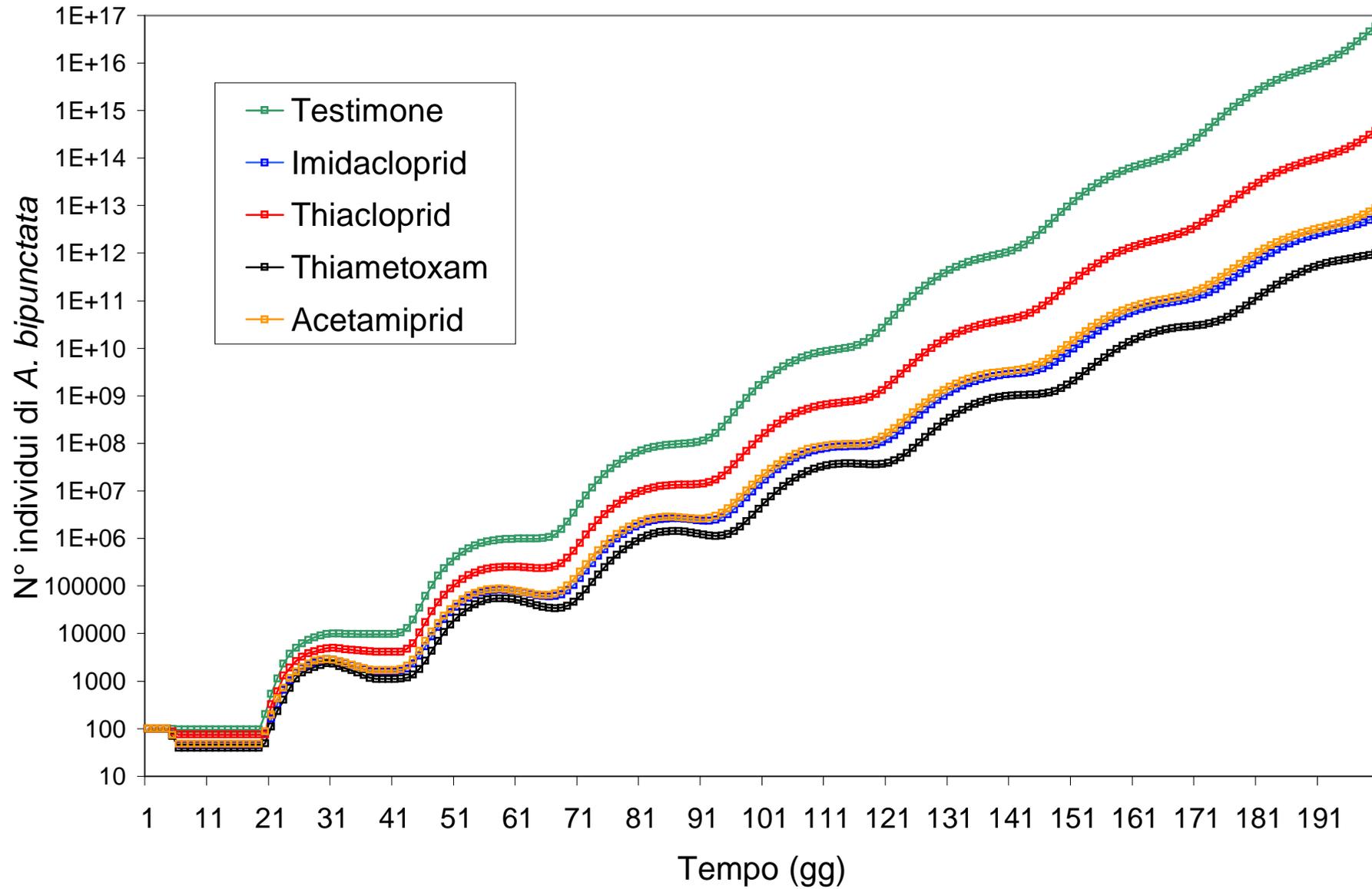
# “Larve a contatto con l’insetticida”

Popolazione di partenza 100 uova



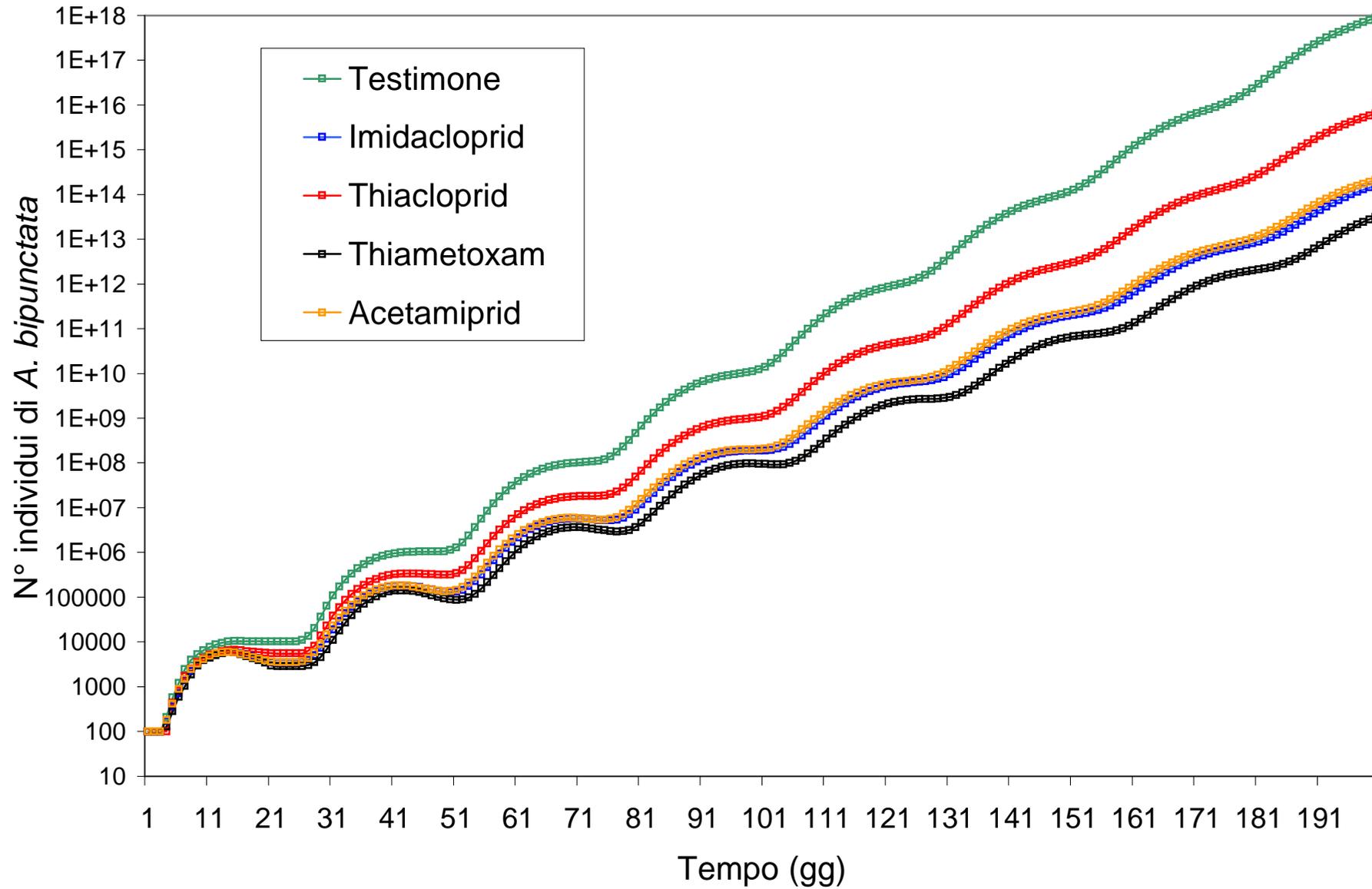
# “Larve a contatto con l’insetticida”

Popolazione di partenza 100 larve



# “Larve a contatto con l’insetticida”

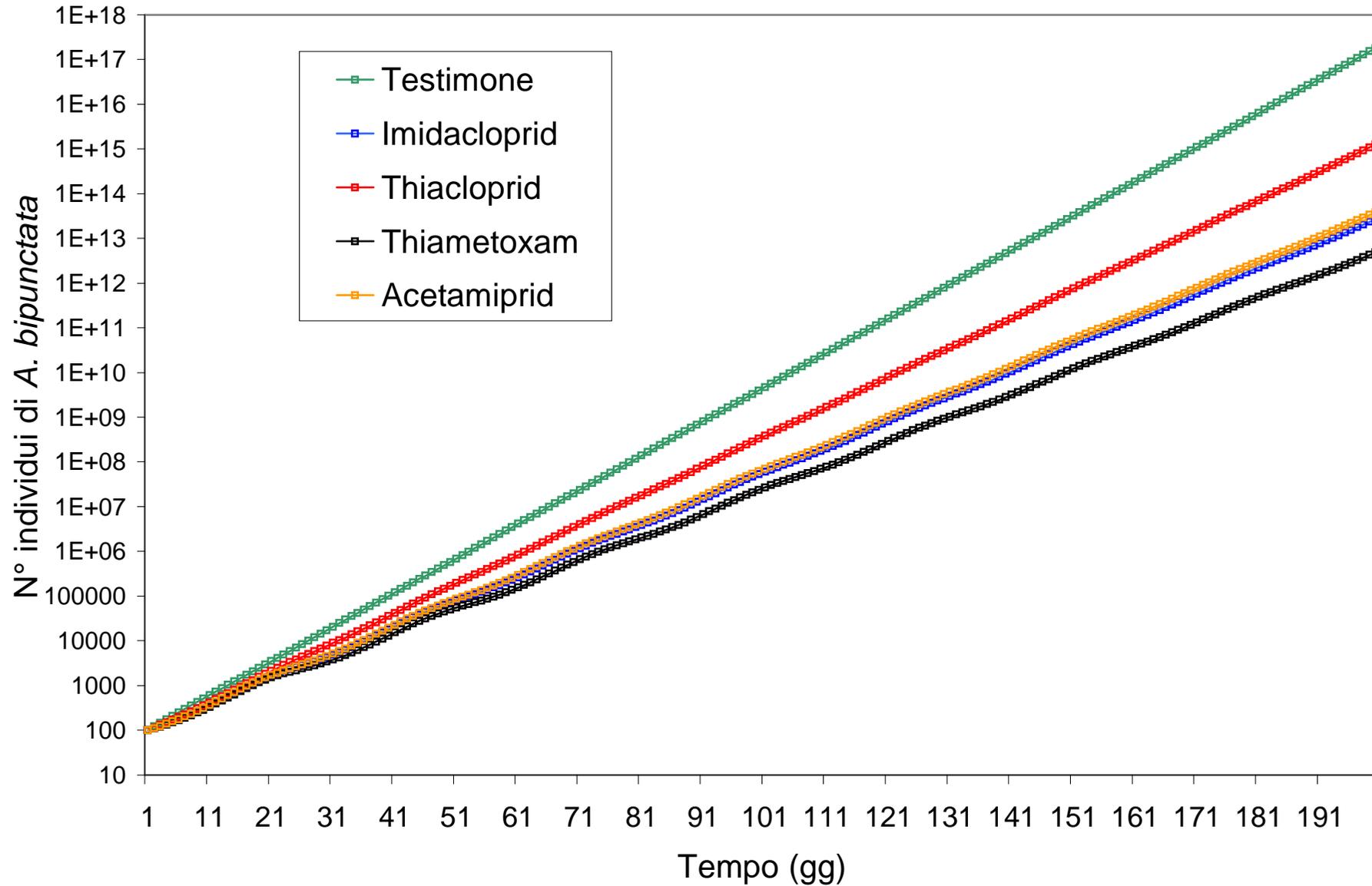
Popolazione di partenza 100 adulti



# “Larve a contatto con l’insetticida”

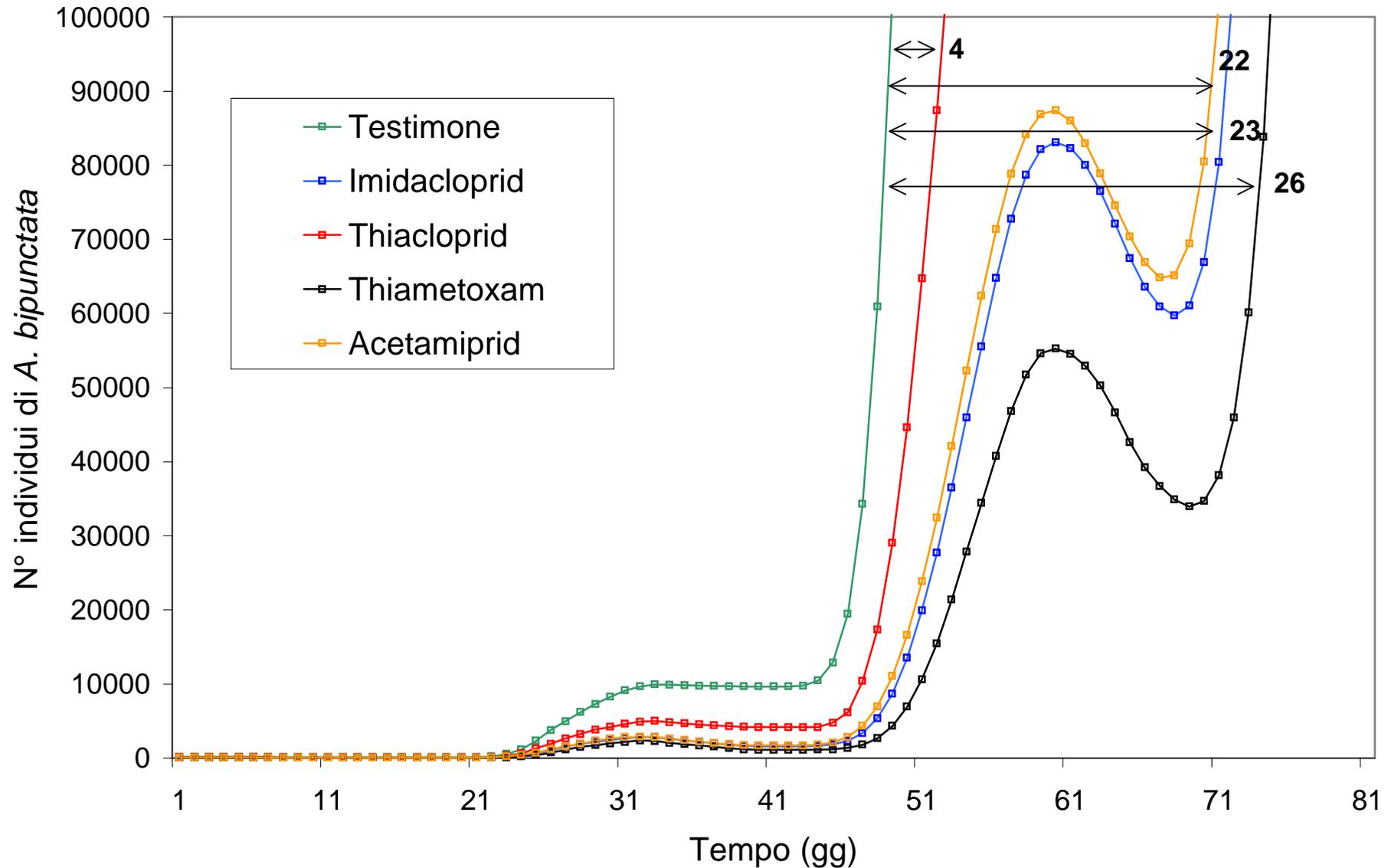
Popolazione di partenza

100 individui in una distribuzione stabile d'età



# “Larve a contatto con l’insetticida”

Popolazione di partenza 100 uova



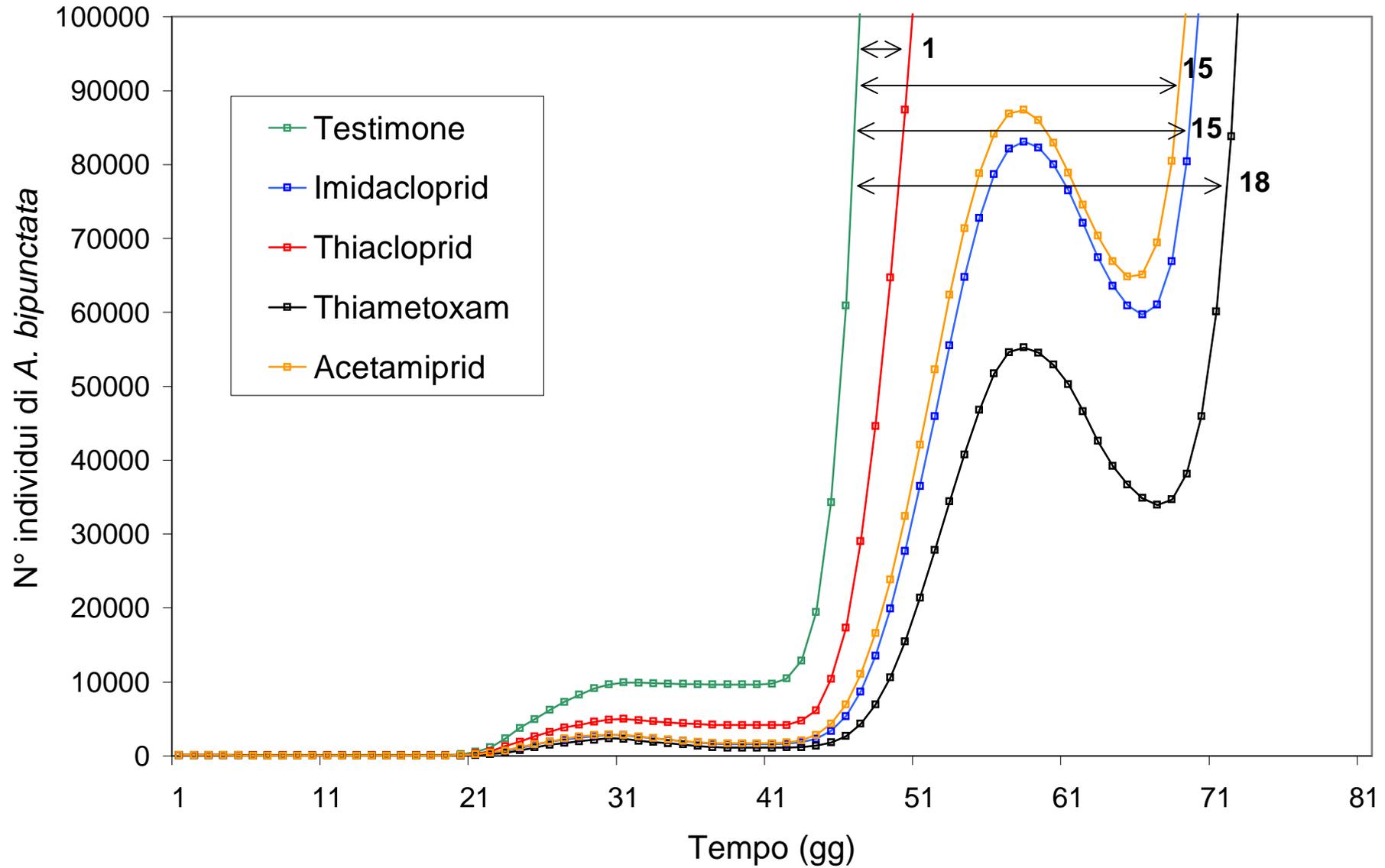
## Delay in Population Growth Index

Misura del recupero di una popolazione che compara una popolazione testimone ad altre esposte a determinati livelli di mortalità e/o riduzione di progenie

Stark *et al.*, 2004 *PNAS*, 101: 732-736

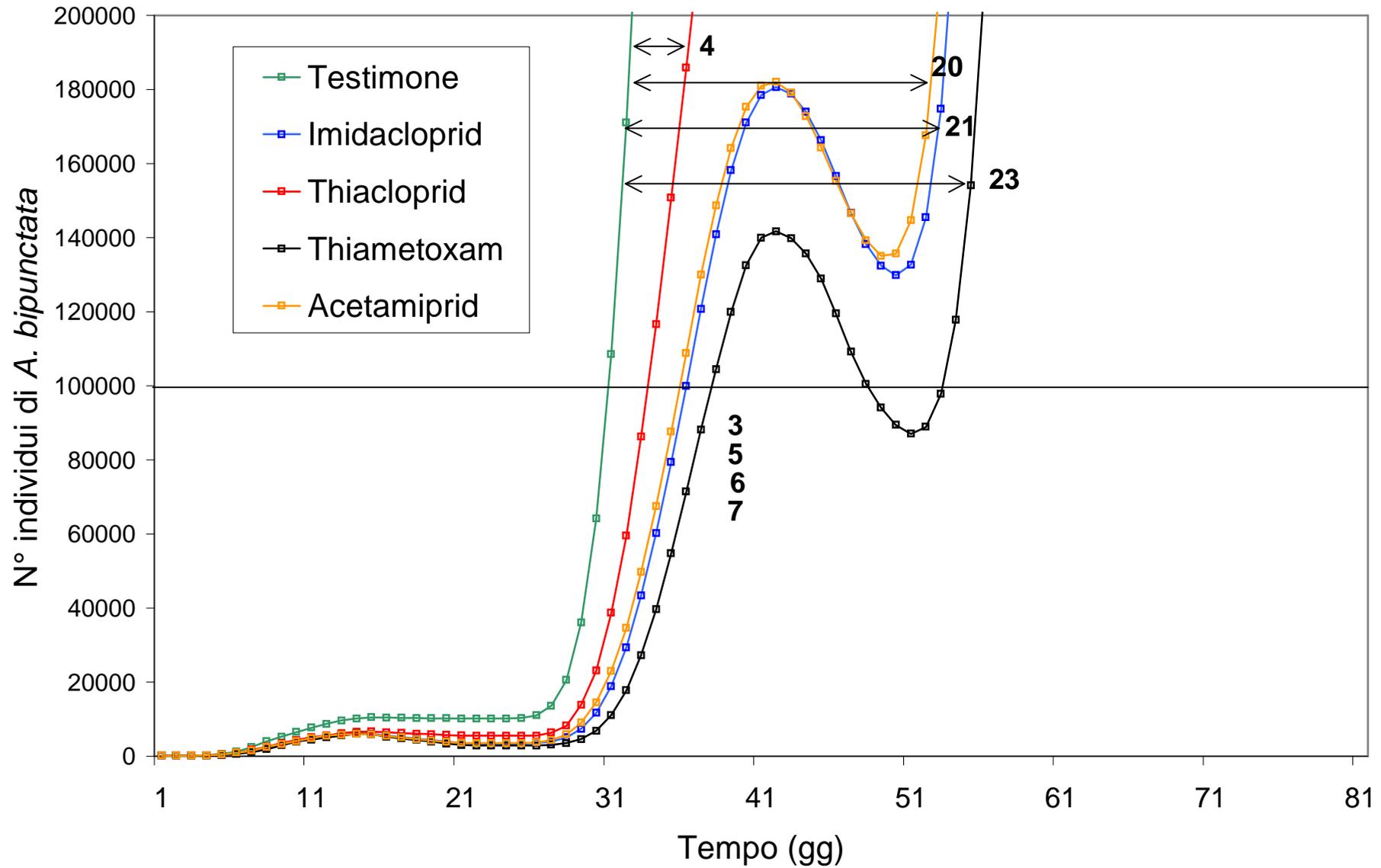
# “Larve a contatto con l’insetticida”

Popolazione di partenza 100 larve



# “Larve a contatto con l’insetticida”

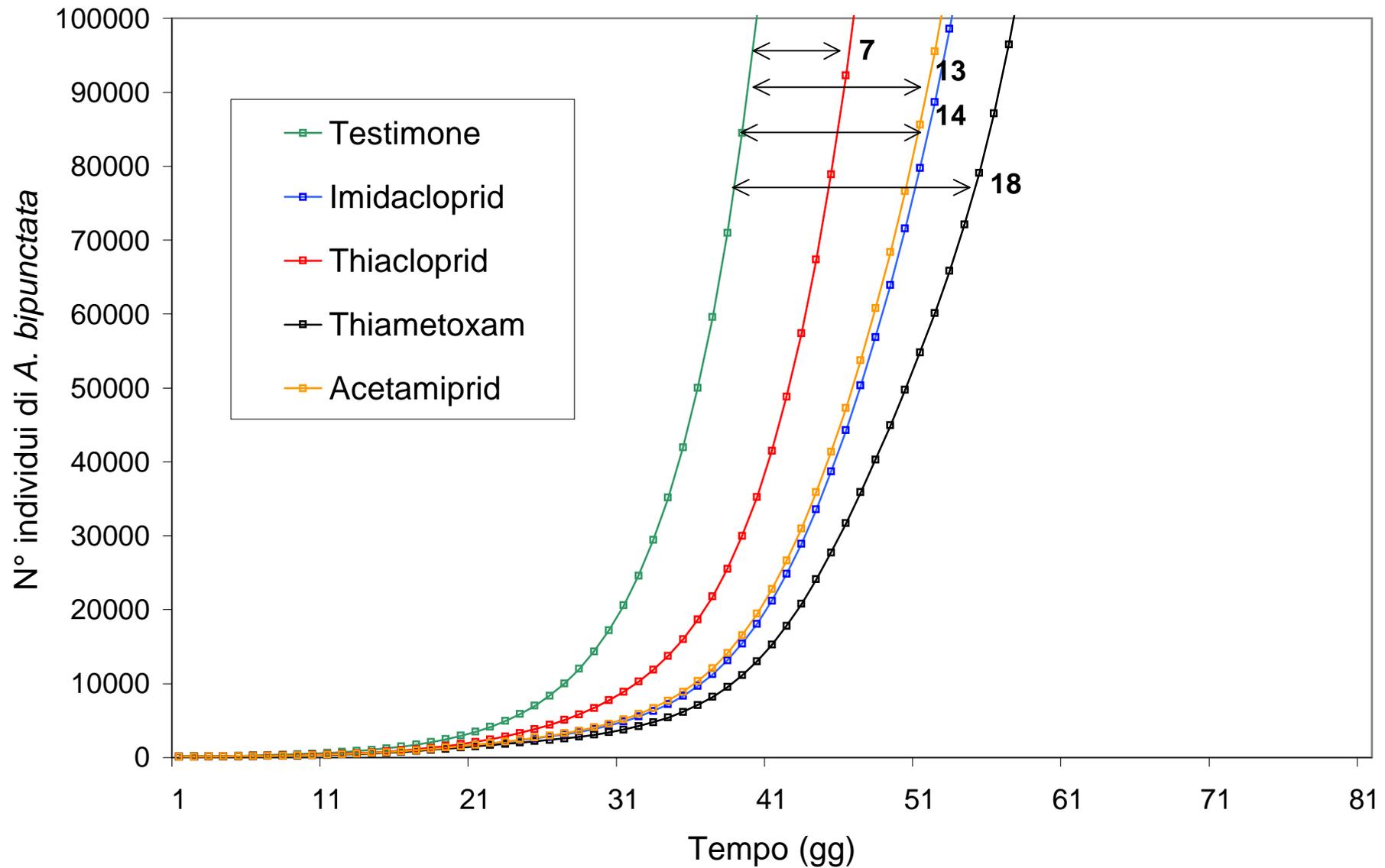
Popolazione di partenza 100 adulti



# “Larve a contatto con l’insetticida”

Popolazione di partenza

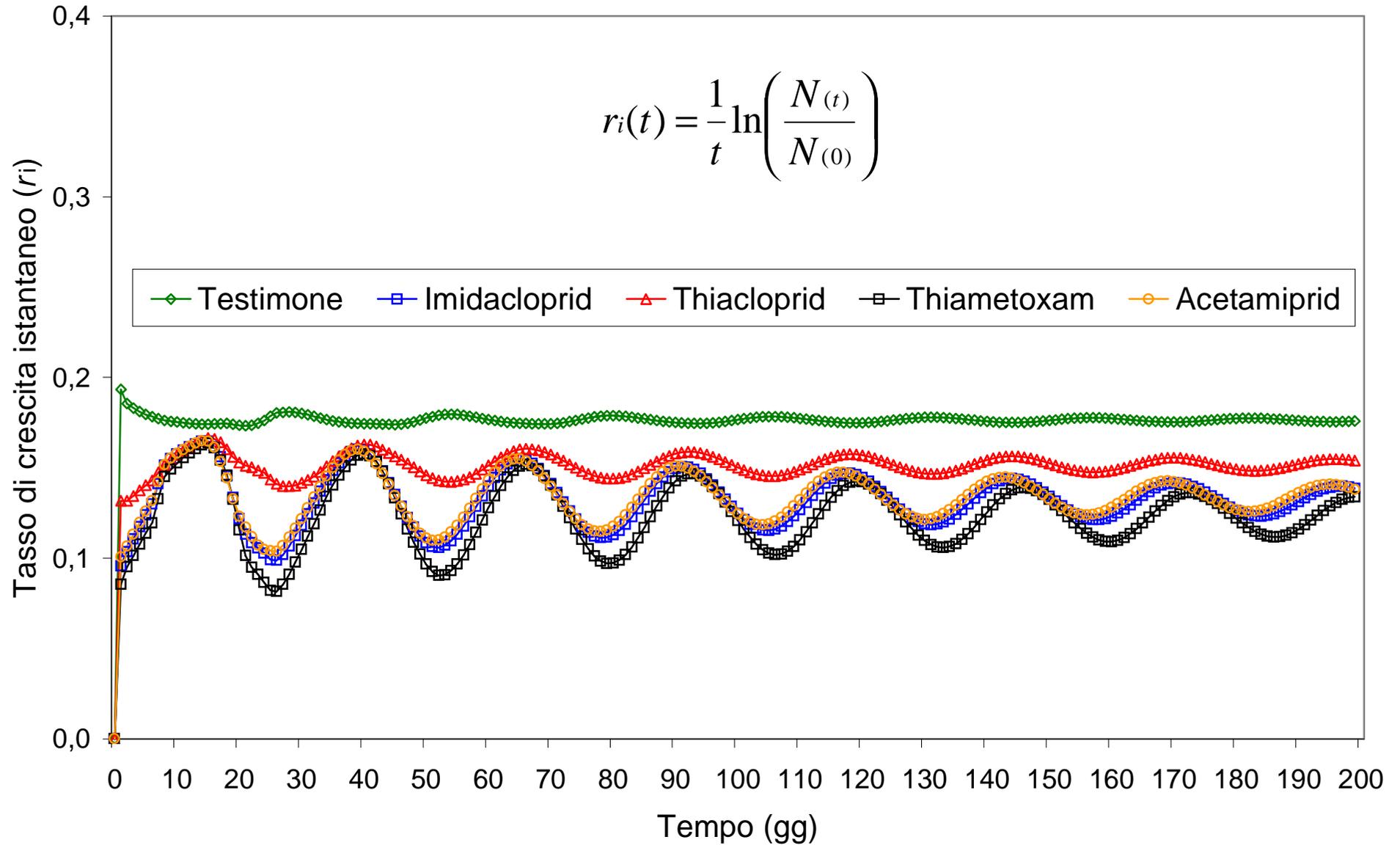
100 individui in una distribuzione stabile d’età



# “Larve a contatto con l’insetticida”

Popolazione di partenza

100 individui in una distribuzione stabile d'età



## “Larve a contatto con l’insetticida”

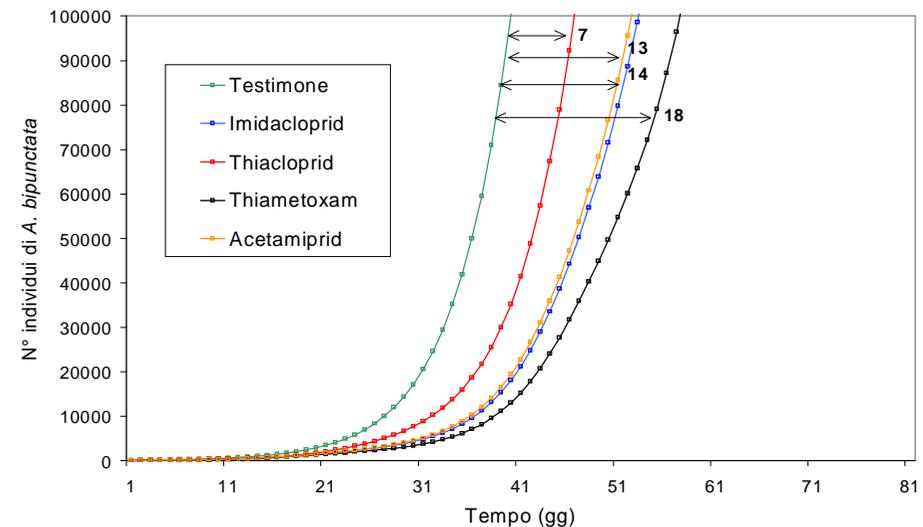
Testimone	N° individui in ogni stato	Valore riproduttivo	Elasticità di $\lambda$	
			$\Sigma e_{ij} \{P_i\}$	$\Sigma e_{ij} \{F_i\}$
Uovo	30,3	0,4	0,0391	0
Larva	58,4	6,6	0,3906	0
Pupa	7,6	15,3	0,2344	0
Adulto	3,6	77,7	0,2969	0,0391

Imidacloprid	N° individui in ogni stato	Valore riproduttivo	Elasticità di $\lambda$	
			$\Sigma e_{ij} \{P_i\}$	$\Sigma e_{ij} \{F_i\}$
Uovo	30,4	0,4	0,0380	0
Larva	58,2	9,0	0,3799	0
Pupa	6,8	17,8	0,2280	0
Adulto	4,6	72,9	0,3161	0,0380

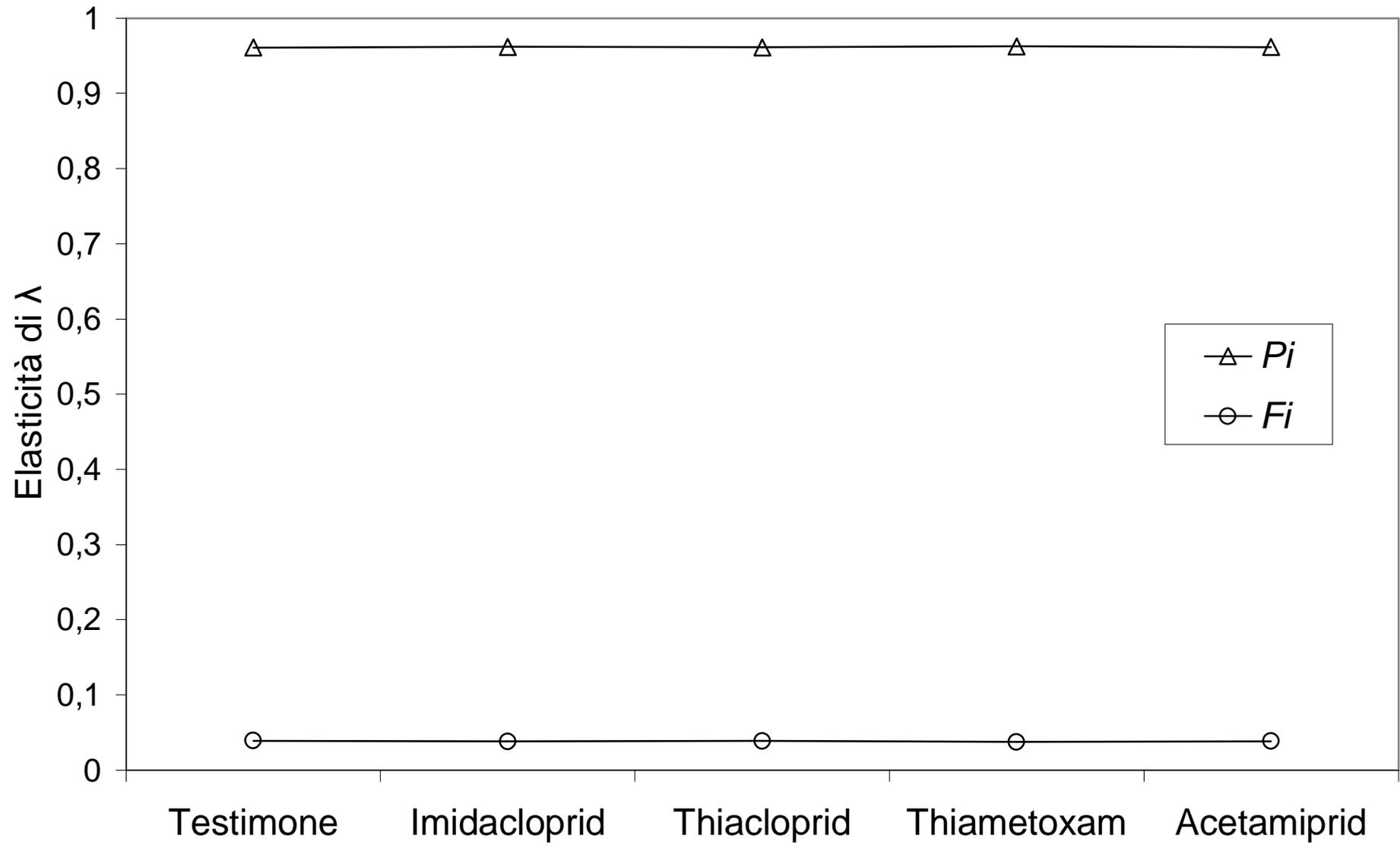
Thiacloprid	N° individui in ogni stato	Valore riproduttivo	Elasticità di $\lambda$	
			$\Sigma e_{ij} \{P_i\}$	$\Sigma e_{ij} \{F_i\}$
Uovo	29,1	0,5	0,0386	0
Larva	58,3	7,8	0,3860	0
Pupa	8,1	16,0	0,2316	0
Adulto	4,5	75,8	0,3052	0,0386

Thiametoxam	N° individui in ogni stato	Valore riproduttivo	Elasticità di $\lambda$	
			$\Sigma e_{ij} \{P_i\}$	$\Sigma e_{ij} \{F_i\}$
Uovo	30,5	0,4	0,0375	0
Larva	58,4	9,1	0,3749	0
Pupa	6,5	17,5	0,2249	0
Adulto	4,7	73,0	0,3252	0,0375

Acetamiprid	N° individui in ogni stato	Valore riproduttivo	Elasticità di $\lambda$	
			$\Sigma e_{ij} \{P_i\}$	$\Sigma e_{ij} \{F_i\}$
Uovo	30,3	0,4	0,0383	0
Larva	58,2	9,1	0,3832	0
Pupa	6,9	18,0	0,2299	0
Adulto	4,6	72,5	0,3103	0,0383



# “Larve a contatto con l’insetticida”



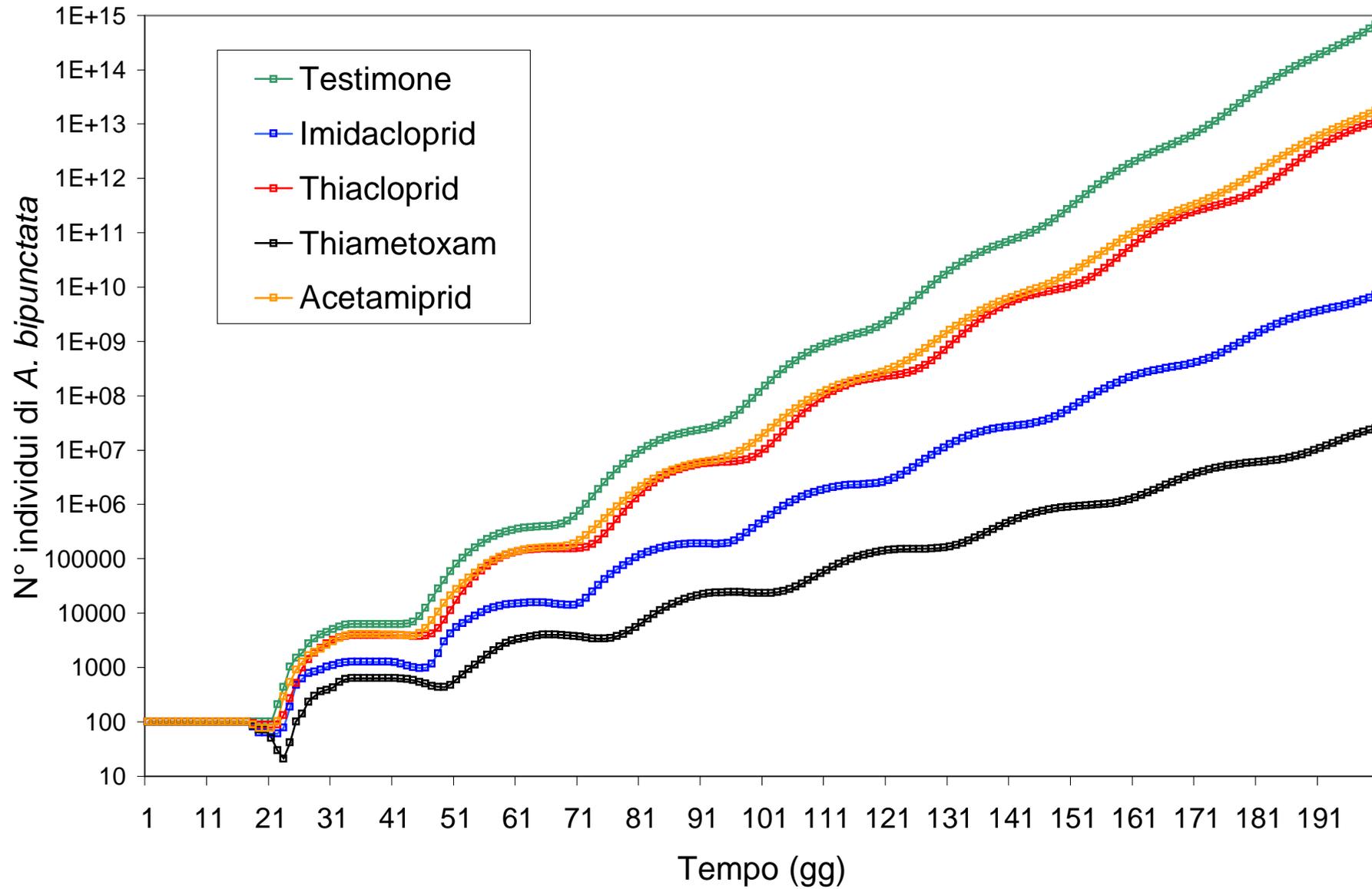
## “Adulti a contatto con l’insetticida”

Modello di proiezione di una popolazione (Matrice di Leslie)

Tesi	$R_0$	T	$r_m$	DT	$\lambda$
Testimone	62,88	26,59	0,1558	4,450	1,1685
Imidacloprid	12,65	26,25	0,0967	7,170	1,1015
Thiacloprid	39,44	27,44	0,1339	5,176	1,1433
Thiametoxam	6,36	27,97	0,0662	10,478	1,0684
Acetamiprid	40,77	27,10	0,1368	5,065	1,1466

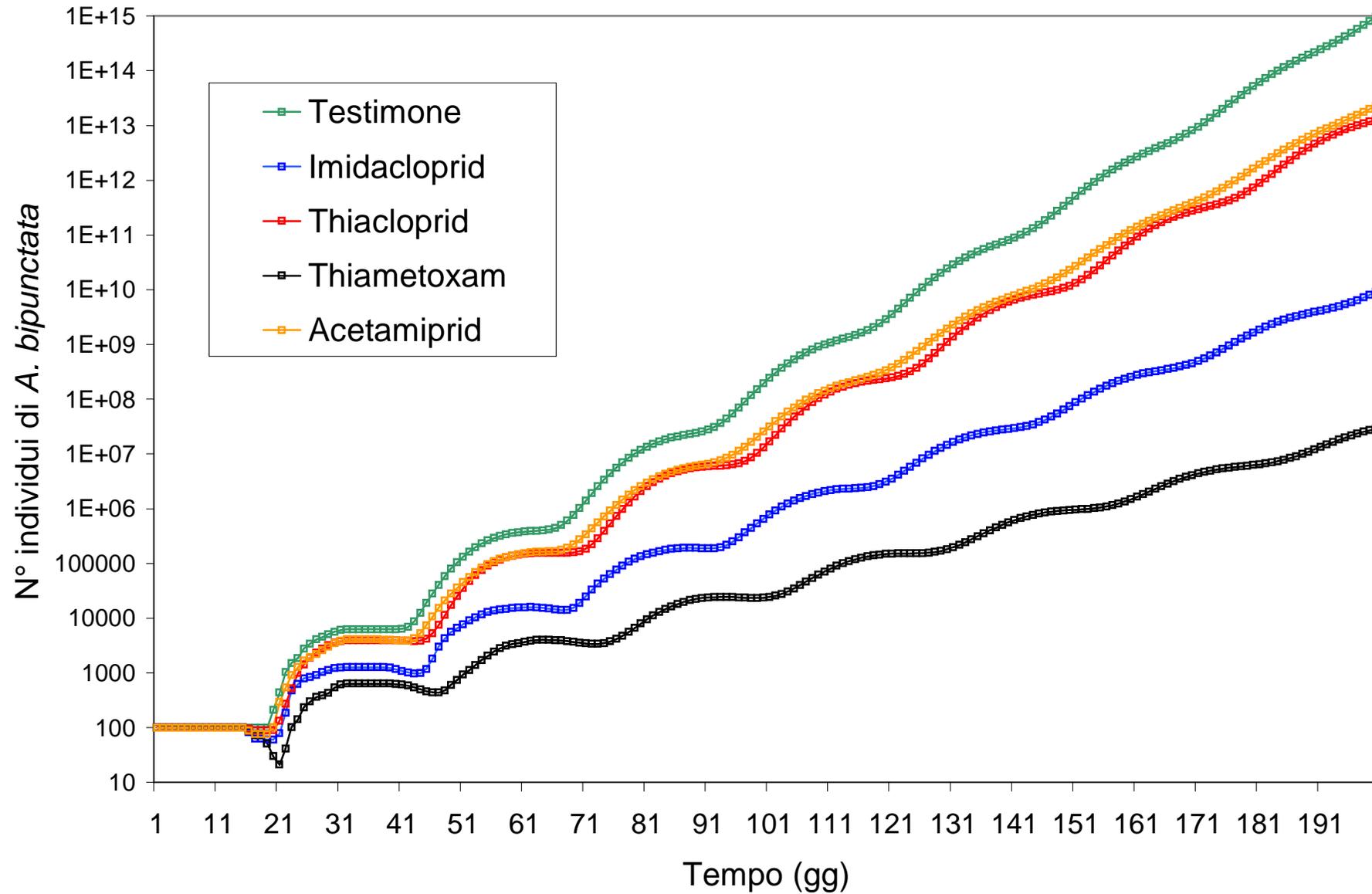
# “Adulti a contatto con l’insetticida”

Popolazione di partenza 100 uova



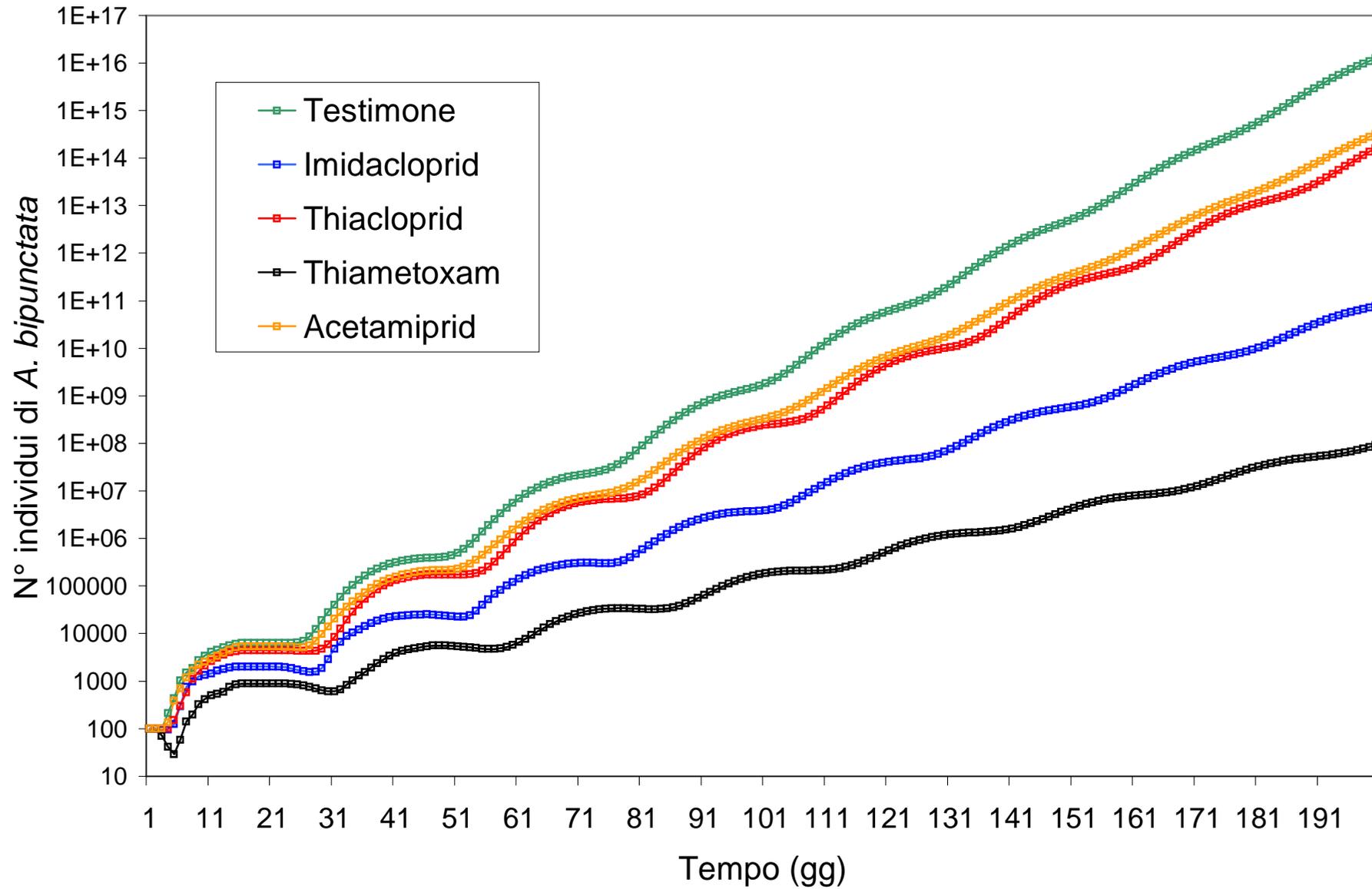
# “Adulti a contatto con l’insetticida”

Popolazione di partenza 100 larve



# “Adulti a contatto con l’insetticida”

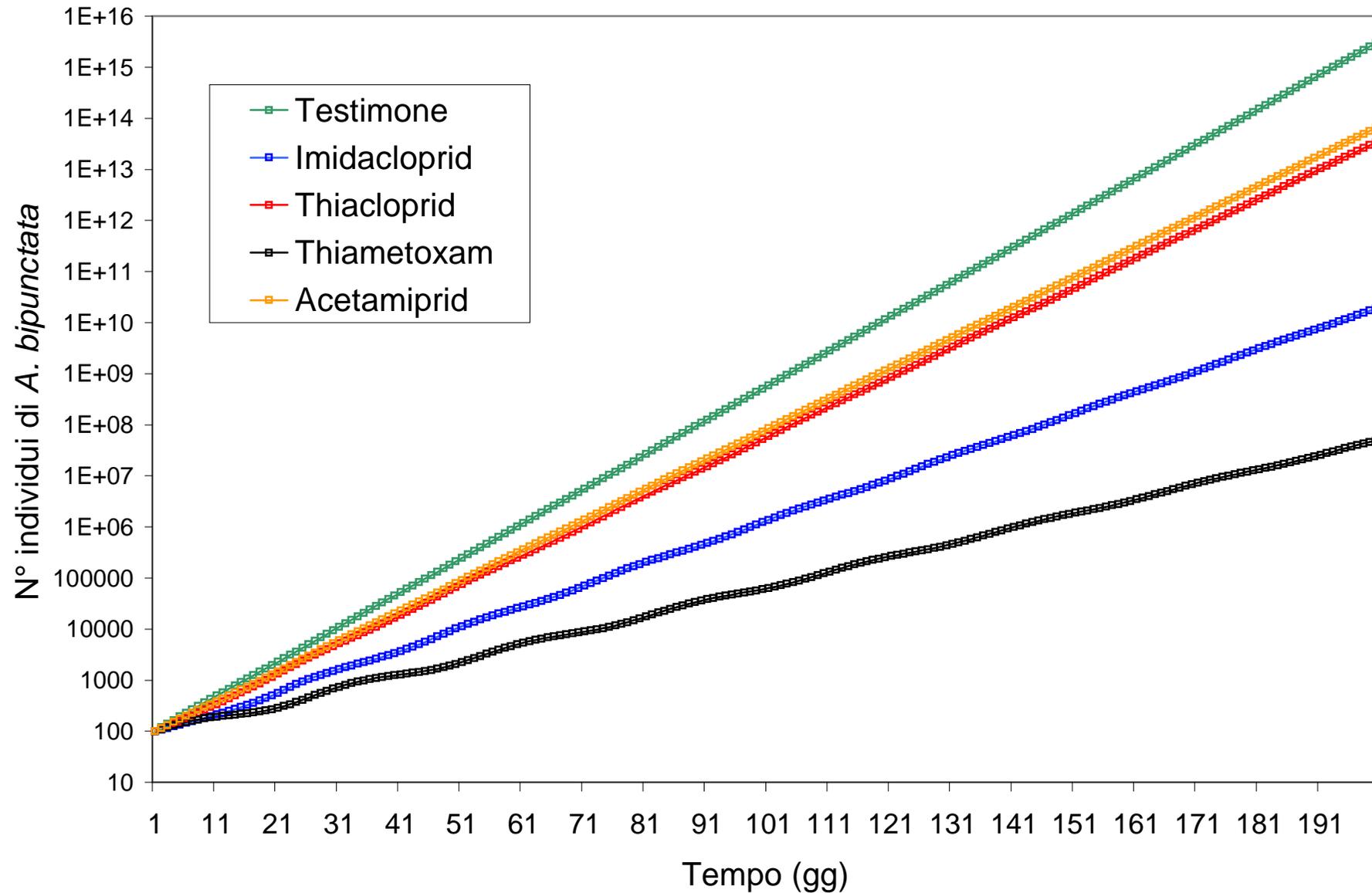
Popolazione di partenza 100 adulti



# “Adulti a contatto con l’insetticida”

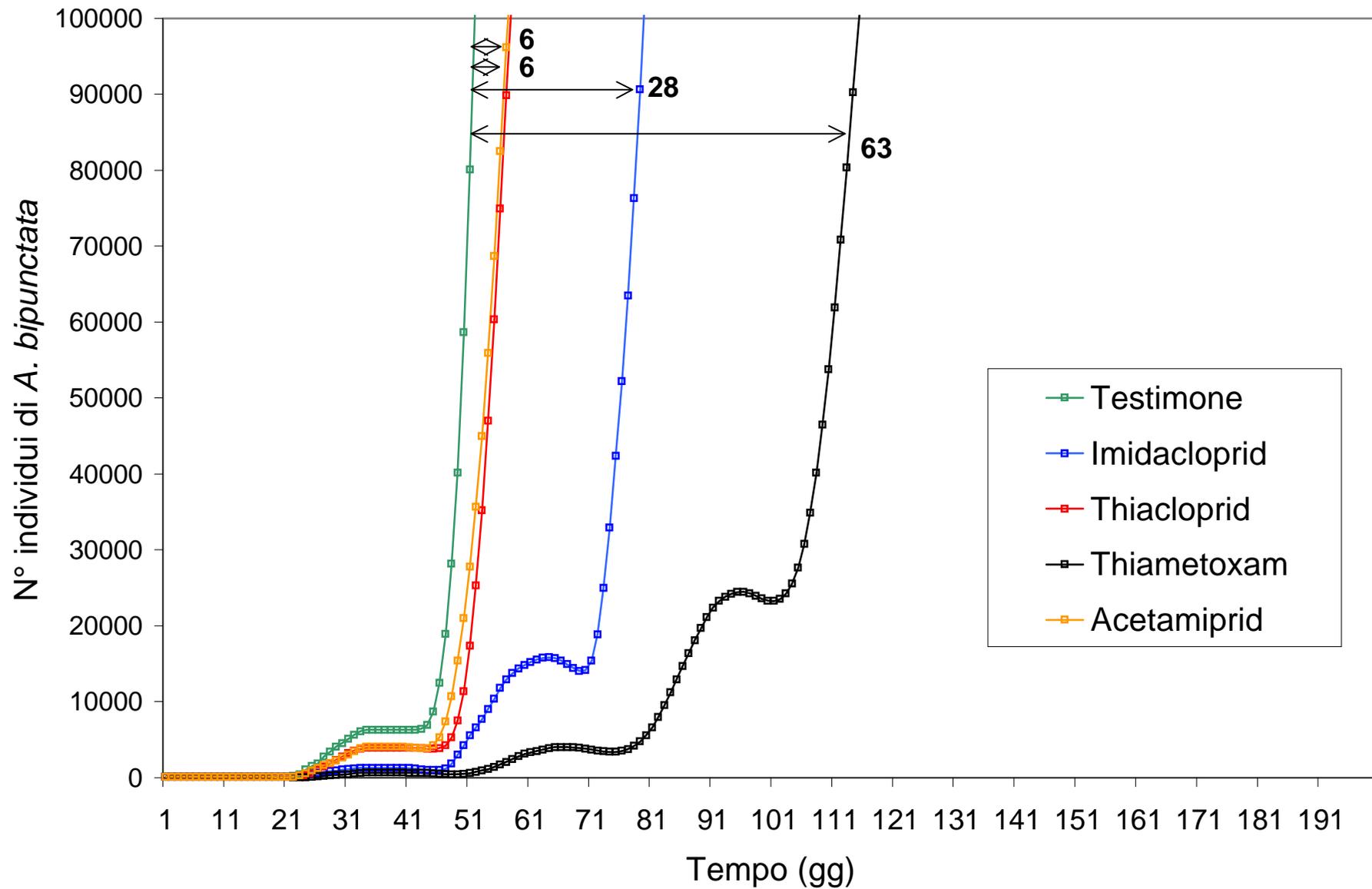
Popolazione di partenza

100 individui in una distribuzione stabile d'età



Popolazione di partenza 100 uova

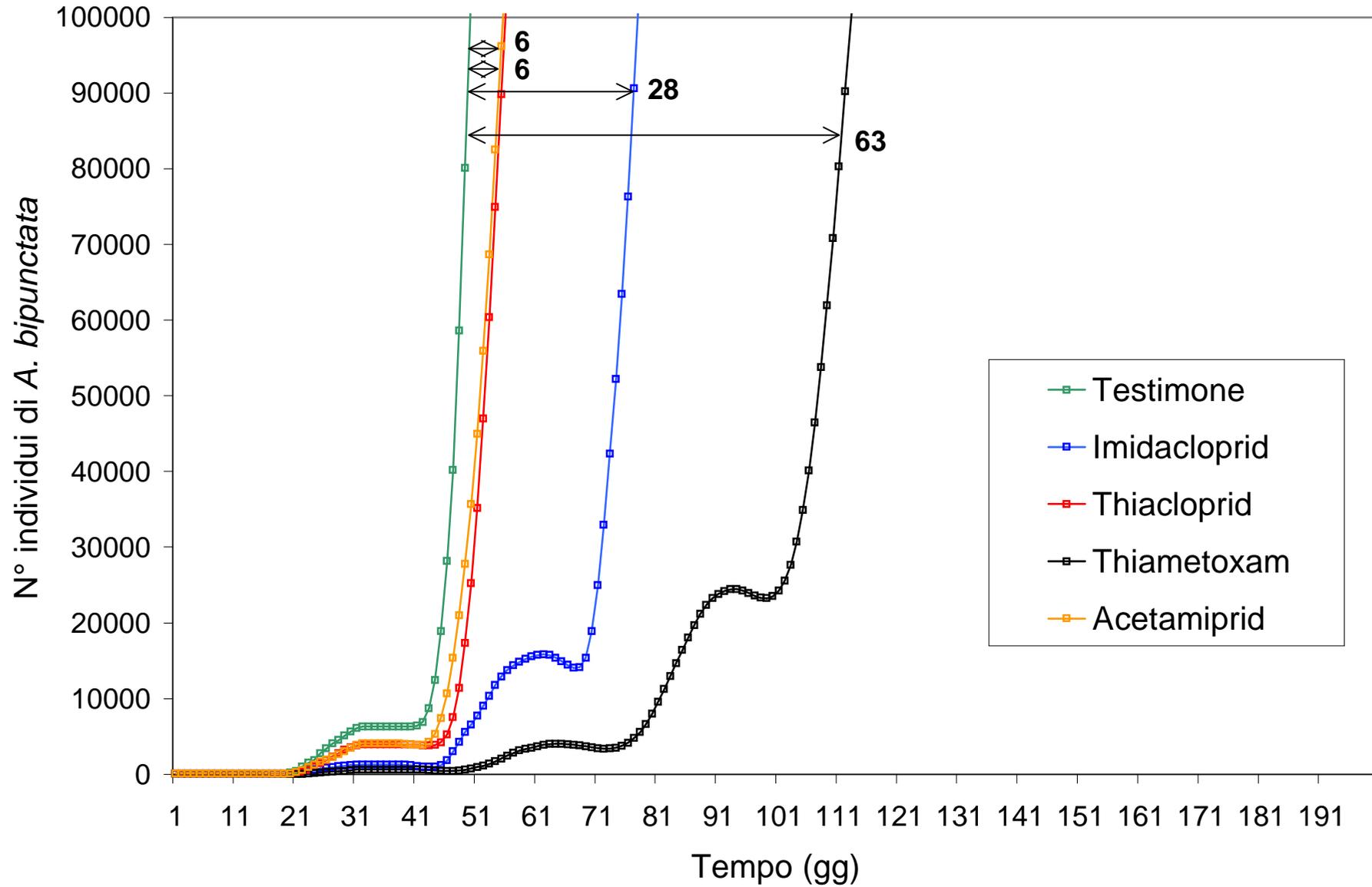
“**Adulti a contatto con l’insetticida**”



Delay in Population Growth Index

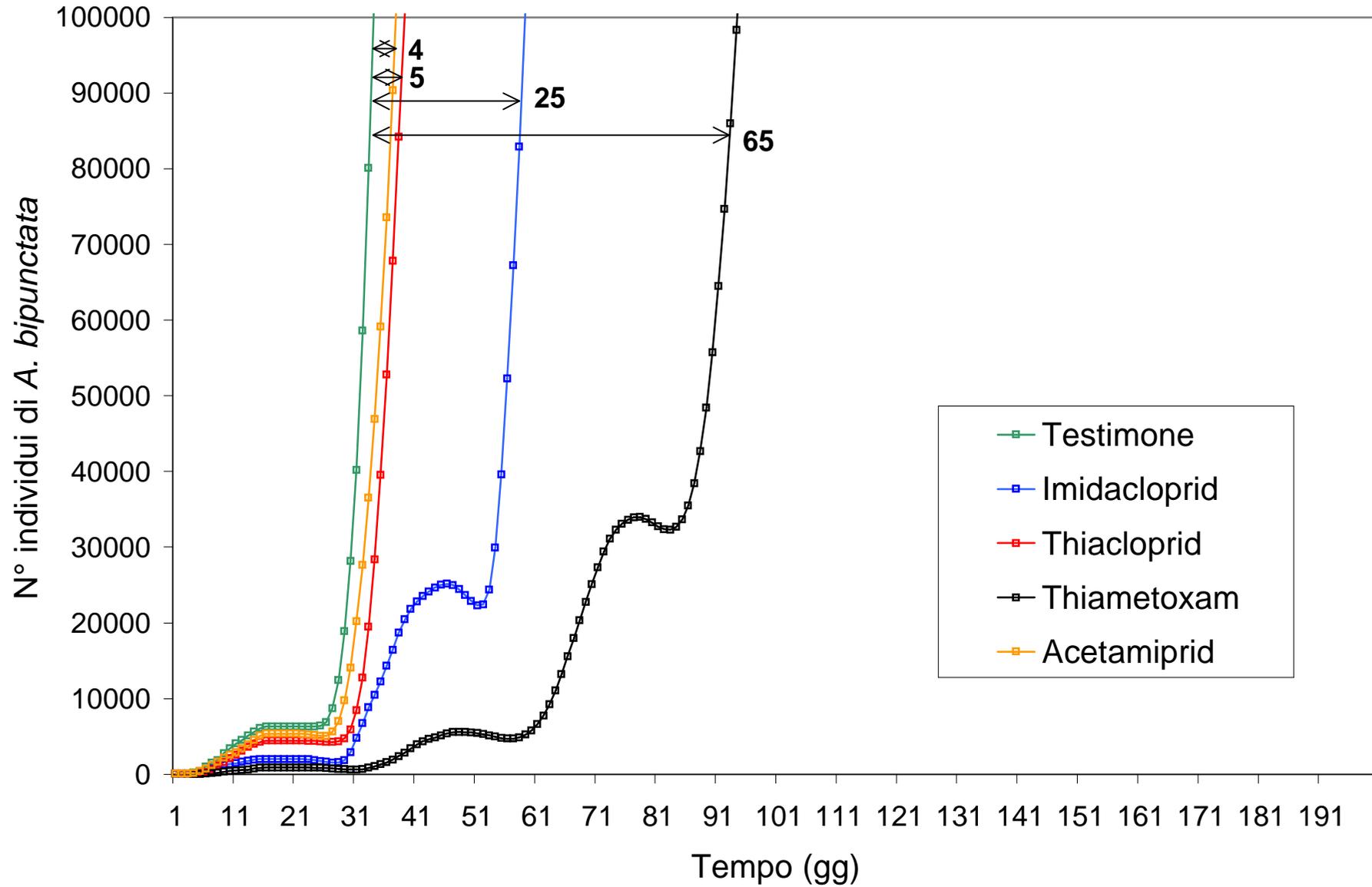
# “Adulti a contatto con l’insetticida”

Popolazione di partenza 100 larve



# “Adulti a contatto con l’insetticida”

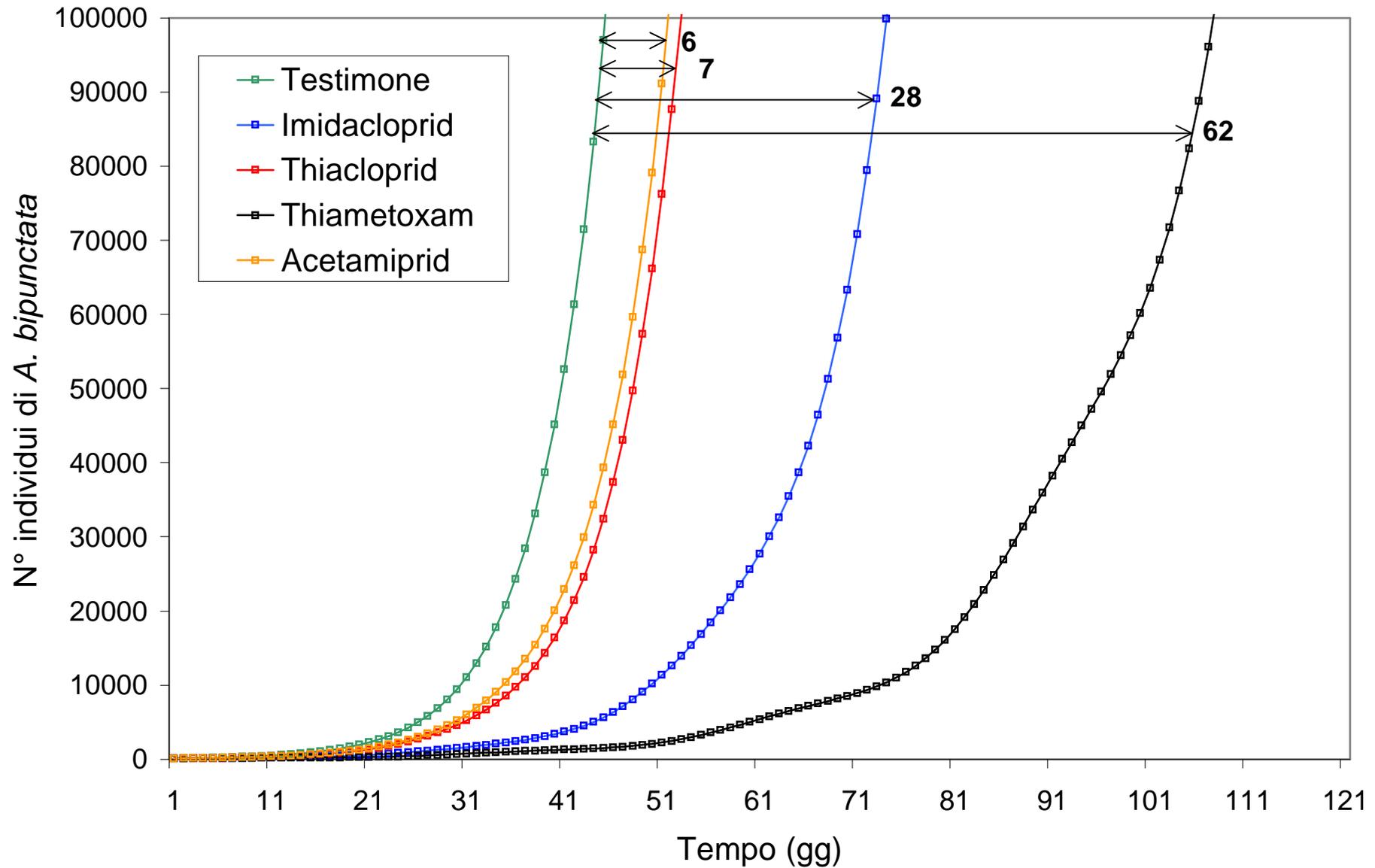
Popolazione di partenza 100 adulti



# “Adulti a contatto con l’insetticida”

Popolazione di partenza

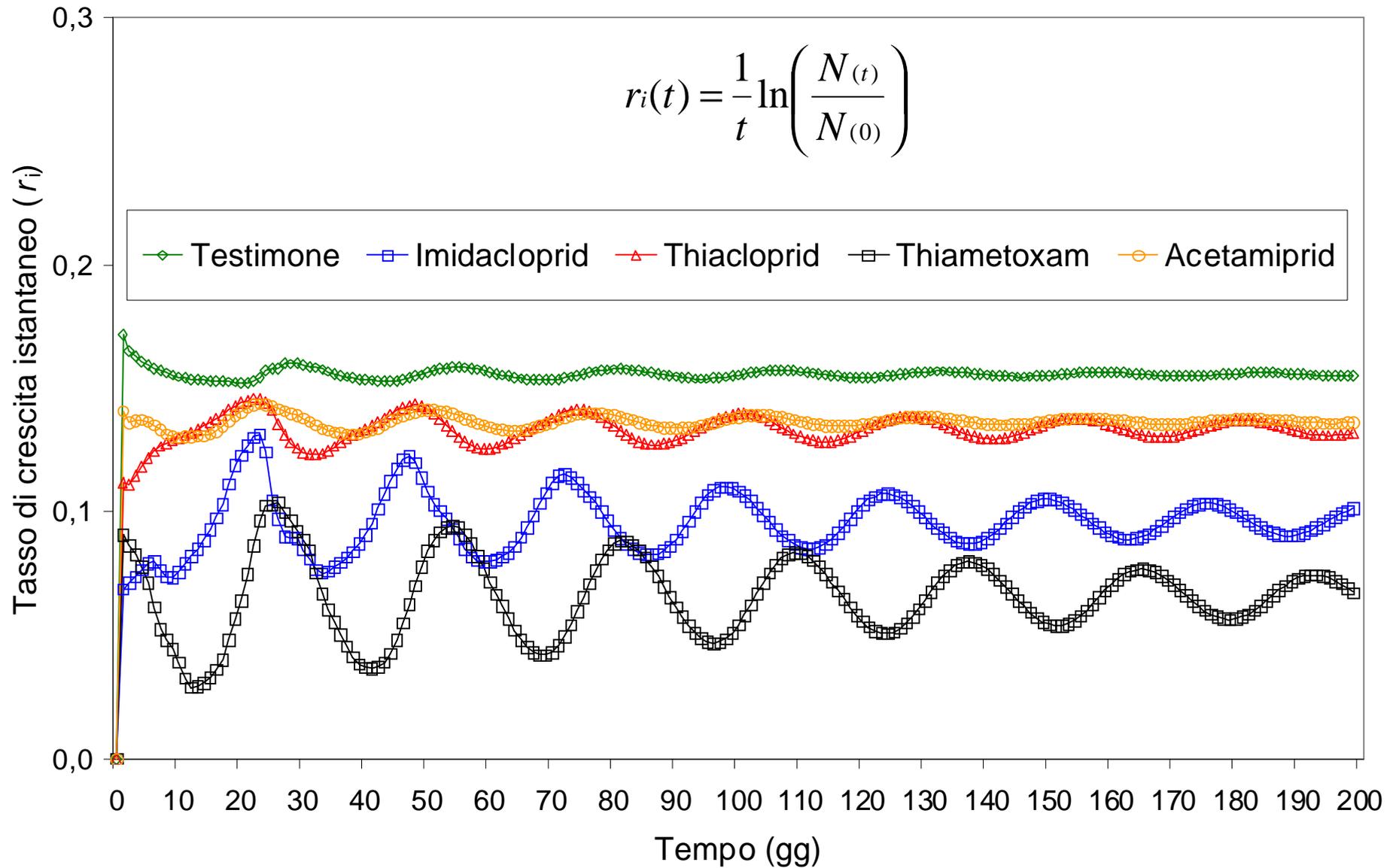
100 individui in una distribuzione stabile d'età



# “Adulti a contatto con l’insetticida”

Popolazione di partenza

100 individui in una distribuzione stabile d'età



## “Adulti a contatto con l’insetticida”

Testimone	N° individui in ogni stato	Valore riproduttivo	Elasticità di $\lambda$	
			$\Sigma e_{ij} \{P_i\}$	$\Sigma e_{ij} \{F_i\}$
Uovo	27,0	0,6	0,0387	0
Larva	58,3	7,9	0,3868	0
Pupa	9,4	15,5	0,2321	0
Adulto	5,3	76,0	0,3037	0,0387

Imidacloprid	N° individui in ogni stato	Valore riproduttivo	Elasticità di $\lambda$	
			$\Sigma e_{ij} \{P_i\}$	$\Sigma e_{ij} \{F_i\}$
Uovo	19,7	1,2	0,0386	0
Larva	57,3	10,8	0,3865	0
Pupa	15,1	14,4	0,2319	0
Adulto	7,8	73,7	0,3044	0,0386

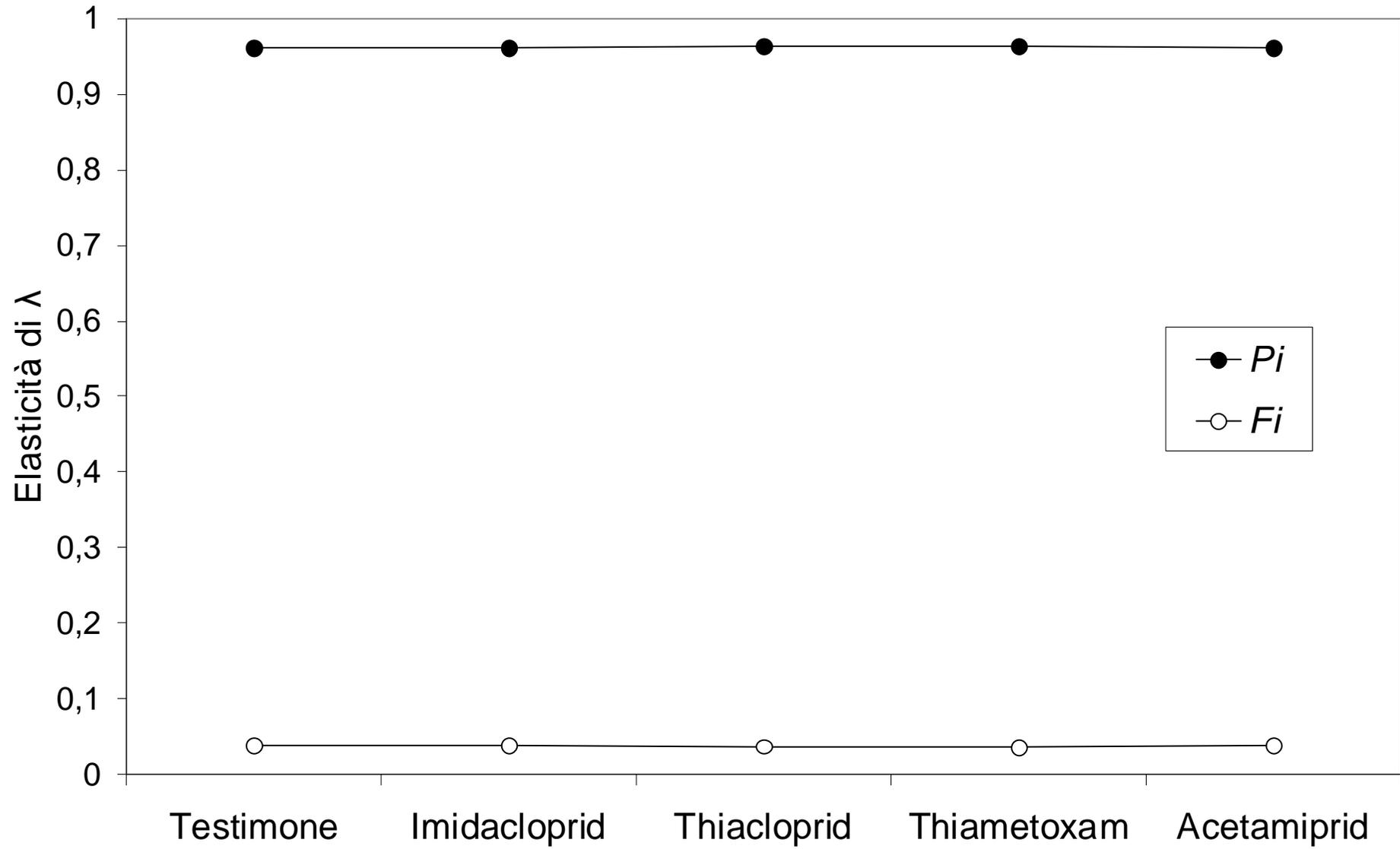
Thiacloprid	N° individui in ogni stato	Valore riproduttivo	Elasticità di $\lambda$	
			$\Sigma e_{ij} \{P_i\}$	$\Sigma e_{ij} \{F_i\}$
Uovo	24,1	0,7	0,0371	0
Larva	57,9	8,3	0,3711	0
Pupa	11,3	14,1	0,2226	0
Adulto	6,8	76,8	0,3321	0,0371

Thiametoxam	N° individui in ogni stato	Valore riproduttivo	Elasticità di $\lambda$	
			$\Sigma e_{ij} \{P_i\}$	$\Sigma e_{ij} \{F_i\}$
Uovo	16,5	0,8	0,0361	0
Larva	56,4	5,7	0,3612	0
Pupa	19,3	5,9	0,2167	0
Adulto	7,7	87,6	0,3498	0,0361

Acetamiprid	N° individui in ogni stato	Valore riproduttivo	Elasticità di $\lambda$	
			$\Sigma e_{ij} \{P_i\}$	$\Sigma e_{ij} \{F_i\}$
Uovo	24,7	0,6	0,0379	0
Larva	58,6	7,4	0,3793	0
Pupa	11,1	13,1	0,2276	0
Adulto	5,6	78,9	0,3173	0,0379

Il divario fra le tesi trattate (con Imidacloprid e Thiacloprid) e il testimone è molto elevato in quanto in questo caso a morire sono gli adulti che possiedono un elevato valore riproduttivo

# “Adulti a contatto con l’insetticida”



- L'approccio demografico misurando gli effetti a livello di popolazione risulta uno strumento più potente rispetto alle misurazioni sugli individui consentendo una migliore interpretazione dei risultati
- $r_m$  o  $\lambda$  incorporano in un unico valore adimensionale sia effetti letali che subletali sono facilmente confrontabili
- Fondamentalmente il modello di Leslie richiede la conoscenza di soli due parametri: Fecondità e Sopravvivenza
- La perturbation analysis (sensibilità, elasticità) consente di valutare correttamente quale sia il fattore che interviene in maniera decisiva nel determinare  $\lambda \rightarrow$  la crescita di popolazione
- Svantaggio: lo sviluppo di Life Table richiede raccolta dati decisamente impegnativa in termini di tempo e costi